

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Medikuntzako Gradua / Grado en Medicina

Papel de los astrocitos en el inicio y progresión de la enfermedad de Parkinson

Egilea /Autora:

Sofía González Solano

Zuzendaria / Director:

Fernando Pérez Cerdá

© 2021, Sofía González Solano

Leioa, 20 de abril de 2021

ÍNDICE

RESUMEN.....	V
PALABRAS CLAVE	VI
ABREVIATURAS.....	VI
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ENFERMEDAD DE PARKINSON (EP).....	1
1.1.1. Anatomopatología, clínica y tratamiento	2
1.1.2. Implicación de la α -sinucleína (α -syn): biología, toxicidad y transmisión prion-like	3
1.1.2.1. Mecanismos de toxicidad.....	3
1.1.2.2. Transmisión prion-like	5
1.1.3. Mutaciones relacionadas con la EP	5
1.2. ASTROGLÍA	5
1.2.1. Biología de los astrocitos en el sistema nervioso central (SNC).	5
1.2.2. Fisiología de los astrocitos	7
1.2.2.1. Homeostasis neuronal y sináptica	8
1.2.2.2. Papel energético y metabólico	9
1.2.2.3. Neuroprotección.....	9
1.3. ASTROCITOS EN LA EP.....	10
1.3.1. Interacciones de los astrocitos y las neuronas dopaminérgicas.	10
1.3.1.1. Transmisión dopaminérgica	10
1.3.1.2. Liberación de factores neurotróficos.....	11
1.3.1.3. Producción de moléculas antioxidantes	11
1.3.1.4. Rescate mitocondrial en neuronas dopaminérgicas	12
1.3.1.5. Disposición de productos de desecho neuronales	12

1.3.2.	Posible papel de la astrogli�a en la neurodegeneración.....	12
1.3.3.	Astrociitos y α -syn.....	13
2.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	14
3.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
4.	RESULTADOS.....	18
4.1.	ALTERACIÓN DEL ACLARAMIENTO DE LA α -syn POR LOS ASTROCITOS EN LA EP.....	18
4.2.	IMPACTO DE LAS MUTACIONES ASOCIADAS A LA EP EN LOS ASTROCITOS.....	21
4.3.	ASTROGLIOSIS REACTIVA, NEUROINFLAMACIÓN Y EP.....	23
4.4.	CONTRIBUCIÓN DE LOS ASTROCITOS A LA DEGENERACIÓN NEURONAL: PAPEL NEUROTÓXICO	25
4.4.1.	Alteración en la Acuaporina-4 (AQP4).....	26
4.4.2.	Disminución de la capacidad neuroprotectora astrocitaria	27
4.4.3.	Aumento de la señalizacion inflamatoria.....	27
4.4.4.	Alteración en la proliferación.....	28
4.4.5.	Reducción de la captación de glutamato	28
5.	DISCUSIÓN	29
5.1.	PAPEL DE LOS ASTROCITOS EN LA EP: �P�RDIDA DE LA FUNCIÓN NORMAL O INCREMENTO DE LA FUNCIÓN TÓXICA?	29
5.2.	GLIOSIS REACTIVA: INTERACCIÓN COMPLEJA ENTRE PROCESOS NEUROTÓXICOS Y NEUROPROTECTORES.....	31
5.3.	IMPORTANCIA DE LA LOCALIZACIÓN CEREBRAL EN LA NEURODEGENERACIÓN DE LA EP.	33
5.4.	MODELOS EXPERIMENTALES DE EP BASADOS EN LA TECNOLOGÍA IPSC PARA ESTUDIAR LA CONTRIBUCIÓN DE LOS ASTROCITOS.....	34

5.5. ESTRATEGIA TERAPÉUTICA PARA LA ENF DE PARKINSON: EFECTO NEUROPROTECTORES DE LOS ASTROCITOS	35
6. CONCLUSIONES	37
7. BIBLIOGRAFÍA	38

RESUMEN

El buen funcionamiento del sistema nervioso central (SNC) se basa en una red de conexiones interneuronales y de interacciones entre neuronas y células gliales. Alteraciones en esta compleja interrelación, aún en estudio, pueden conducir a enfermedades neurodegenerativas. Una de ellas es la enfermedad de Parkinson (EP) caracterizada por la muerte de neuronas dopaminérgicas en la *pars compacta* de la sustancia negra y en la agregación y acúmulo de α -sinucleína (α -syn) en las mismas.

El objetivo principal de este trabajo consiste en la actualización del conocimiento sobre los mecanismos involucrados en el posible papel de los astrocitos en la neurodegeneración que acontece en la EP. Con este fin, la pregunta que se pretende resolver es: ¿cómo participan los astrocitos en el inicio y la progresión de esta enfermedad?

Mediante la revisión de literatura científica reciente y relevante, se ha observado cómo, en condiciones normales, contribuyen los astrocitos a mantener la salud de las neuronas dopaminérgicas. Sin embargo, procesos ligados a la acumulación de α -syn, mutaciones genéticas y fenómenos asociados a la astrogliosis y neuroinflamación alteran la previa función neuroprotectora de los astrocitos, favoreciendo la neurodegeneración.

Estos hallazgos, y la inexistencia de tratamientos curativos de la EP, plantean la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas que lleven a potenciar las funciones beneficiosas de los astrocitos y el uso de nuevos modelos experimentales para el estudio de la enfermedad como los basados en tecnología iPSC (células madre pluripotentes inducidas).

PALABRAS CLAVE

Enfermedad de Parkinson, astrocitos, α -sinucleína, neuroinflamación, iPSC.

ABREVIATURAS

- α -syn: alfa sinucleína
- AQP4: Aquaporinas-4
- BHE: barrera hematoencefálica
- CDNF: factor neurotrófico de dopamina cerebral
- DA: dopamina
- EAAT: transportador de aminoácidos excitadores
- EP: Enfermedad de Parkinson
- GABA: ácido gamma-aminobutírico
- GDNF: factor neurotrófico derivado de la línea celular glial
- GFAP: proteína glial fibrilar ácida
- GLP-1: péptido 1 similar al glucagón
- Glu: glutamato
- GSH: glutatión
- IFN: interferón
- IL: interleucina
- iPSC: célula madre pluripotente inducida
- L-dopa: levodopa
- LB: cuerpos de lewy
- MANF: factor neurotrófico derivado de astrocitos
- ROS: especies reactivas de oxígeno
- SNC: sistema nervioso central
- TLR: receptor tipo troll
- TNF: factor de necrosis tumoral
- VTA: área tegmental ventral

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ENFERMEDAD DE PARKINSON (EP)

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa, crónica y progresiva (1). Es muy prevalente en la sociedad actual, siendo la segunda patología neurodegenerativa más común en el mundo (2). Se caracteriza fundamentalmente por el deterioro neuronal de la *pars compacta* de la sustancia negra en el sistema nervioso central (SNC) afectando, principalmente, a las neuronas dopaminérgicas. Sin embargo, a pesar de su elevada frecuencia, aún se desconocen los mecanismos por los que se produce la degeneración neuronal (3).

La EP se consideró una enfermedad esporádica durante mucho tiempo. Sin embargo, en 1997 se identificaron mutaciones responsables de la enfermedad en el gen SNCA. A partir de ese momento, se han identificado varios genes relacionados con formas heredadas de parkinsonismo y otros relacionados con formas monogénicas de la enfermedad, además de numerosos factores de susceptibilidad genética (4).

Existen varios factores involucrados en la evolución de la EP, entre los que destacan: la genética, la edad avanzada por el aumento de la esperanza de vida, factores ambientales y endógenos, entre otros (5). En las formas idiopáticas de EP la edad es uno de los factores de riesgo principales. En las formas genéticas, a pesar de que la EP pueda aparecer más precozmente, también se ha visto un aumento significativo acorde al aumento de la edad (6).

En cuanto a los factores exógenos, aunque la mayoría desconocidos, se ha observado que algunas toxinas están asociadas al aumento de riesgo de EP. Entre ellas se encuentran: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), toxina que bloquea la cadena de transporte de electrones mitocondrial, causando un parkinsonismo irreversible; también insecticidas como el paraquat y la rotenona; y otros disolventes y productos químicos (6,7).

1.1.1. Anatomopatología, clínica y tratamiento

Anatomopatológicamente, los elementos más distintivos de la EP son: en primer lugar, la muerte de neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo central en la *pars compacta* de la sustancia negra (8); y, en segundo lugar, la presencia de depósitos de proteína en las neuronas, denominados cuerpos de Lewy (LB), cuyo componente fundamental es alfa-sinucleína (α -syn). Estos dos elementos que caracterizan la EP, hacen que ésta sea una enfermedad irreversible y, en el momento presente, incurable (9,10).

Clínicamente, la EP es un trastorno degenerativo del SNC que se incluye en un grupo de trastornos conocidos como trastornos del movimiento (1). Existen síntomas motores y no motores en la EP. Los principales síntomas motores son temblor en reposo, rigidez en “forma de rueda dentada”, inestabilidad postural y bradicinesia, siendo esta última una condición necesaria para el diagnóstico de EP. La sintomatología aparece, en primer lugar, en un hemicuerpo, y conforme progresa la enfermedad, en ambos. Además de estos, existe un amplio espectro de síntomas no motores como hiposmia, estreñimiento, alteraciones en el sueño, depresión y alteraciones cognitivas que pueden preceder a los motores. La EP está asociada con un incremento de morbilidad asociada y mortalidad (11).

A pesar de que se ha avanzado mucho en la comprensión fisiopatológica de la enfermedad, no existe ningún tratamiento curativo: padecer esta enfermedad supone un aumento progresivo de la discapacidad debido a la creciente gravedad de los síntomas motores y no-motors, resistentes al tratamiento (11). Los tratamientos existentes para la EP son sustitutivos y paliativos, enfocados fundamentalmente a mejorar la calidad de vida de los pacientes y a disminuir la discapacidad (10).

La Levodopa (L-dopa) es el precursor de la dopamina (DA). La terapia dopaminérgica con L-dopa es muy eficaz en los síntomas motores como la bradicinesia y la rigidez (11). Esta terapia atenúa los síntomas, aproximadamente 5 años. Sin embargo, posteriormente, comienzan a aparecer importantes efectos adversos como la discinesia. Además de la L-dopa, también se puede emplear de manera concomitante inhibidores de la catecol-o-metiltransferasa, agonistas dopaminérgicos y fármacos anticolinérgicos, siempre en función de las necesidades del paciente, incluyendo

también medicamentos que ayuden a controlar los síntomas no motores de la enfermedad (1).

En la actualidad, existen otras alternativas tras el fallo de las terapias medicamentosas, entre las que destacan la técnica quirúrgica de estimulación cerebral profunda de los ganglios basales, el uso de “Ultrasonido focalizado de alta intensidad” para inactivar el núcleo subtalámico y controlar así el temblor, y técnicas novedosas de trasplante de células madres fetales si bien, al final, no han resultado ser tan eficaces como se esperaba (12,13).

1.1.2. Implicación de la α -sinucleína (α -syn): biología, toxicidad y transmisión prion-like

La α -syn es una proteína de 140 aminoácidos que se expresa en el cerebro y se encuentra predominantemente localizada en los terminales presinápticos de las neuronas. La α -syn se encuentra codificada por el gen SNCA, el cual fue el primer gen vinculado a la EP y es probablemente uno de los más importantes. La proteína es el principal componente de los LB (9).

Es una proteína soluble. En su estructura, existen 3 dominios y presenta un terminal -N anfipático conservado, un terminal C ácido y un dominio central hidrofóbico responsable de la oligomerización y procesos de fibrilación (9). A pesar de que desconocemos la función exacta de la α -syn, por su localización en el terminal presináptico y su co-localización con las vesículas sinápticas, se cree que pueda tener un papel fundamental en el ciclado de las vesículas sinápticas. Otras de las funciones que se le atribuyen, a pesar de ser inciertas, son; el control de procesos que se desarrollan en la membrana sináptica; control de neurotransmisores mediante interacciones con proteínas de la familia SNARE. Por otro lado, modula factores de transcripción mitocondrial en el núcleo, pudiendo así repercutir la α -syn en la homeostasis mitocondrial (10).

1.1.2.1. Mecanismos de toxicidad

En su forma nativa α -syn es una proteína monomérica sin estructurar. Sin embargo, en condiciones patológicas, es capaz de transformarse en conformaciones oligoméricas

y/o fibrilares (**Figura 1**). Su agregación asociada a un mal plegamiento de la proteína que puede dar lugar a cambios como la disminución de la tasa de aclaramiento, el desarrollo de estrés oxidativo o modificaciones postraduccionales como la fosforilación de la serina, acetilación y ubiquitinación, entre otros. Los oligómeros de α -syn pueden mediar toxicidad a través de varias vías como la disfunción mitocondrial o defectos en la degradación lisosomal. Estas alteraciones están muy relacionadas con la neurotoxicidad cerebral (10).

A pesar de que los LB son considerados como un elemento muy característico en la EP, se han encontrado LB en autopsias de individuos sin patología neurológica (en una tasa del 10%) (14,15). Incluso, en pacientes de EP, la correlación entre la presencia de estos y la sintomatología puede ser bastante pobre. Más aún, también alguna de las formas genéticas (mutación LRRK2G2019S) de EP muestran degeneración neuronal en ausencia de LB (16,17).

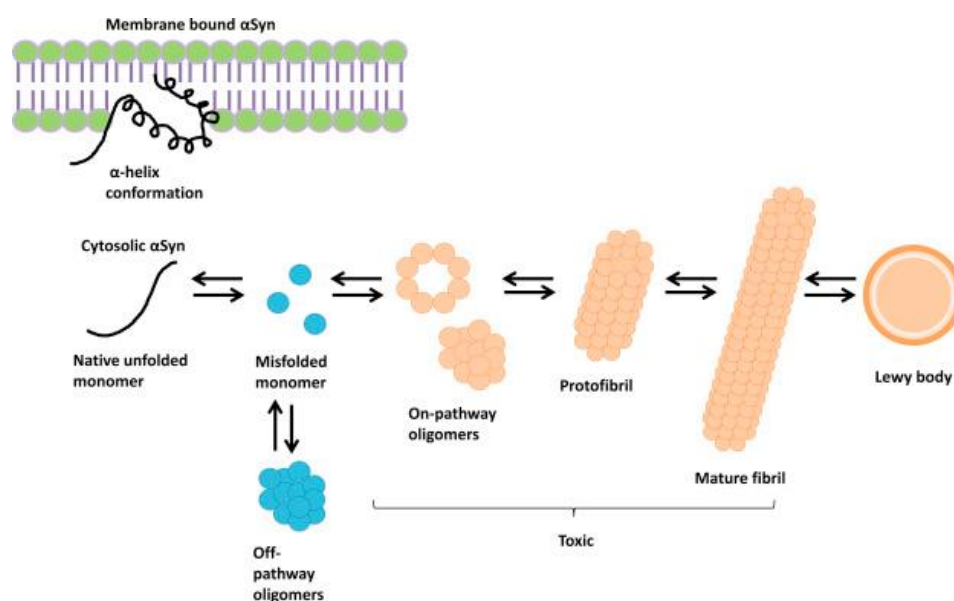


Figura 1. Etapas de agregación de la α -syn. Se representa el cambio de conformación α -syn, desde especies monoméricas, pasando por oligómeros, hasta conformaciones fibrilares, llegando finalmente a formarse LB (10).

1.1.2.2. Transmisión prion-like

Muchas enfermedades neurodegenerativas como la EP comparten mecanismos similares a las enfermedades priónicas en cuanto a la transmisión de proteínas y la propagación de la enfermedad. De hecho, algunos autores defienden que la α -syn anormal se propaga entre sistemas anatómicamente interconectados, proponiendo un modelo de progresión de 6 etapas de la EP con patrón caudo-craneal (18). Sin embargo, se observó que en la EP esporádica, la progresión no era uniforme (19–21). Existen también otras hipótesis que sugieren un transporte proteico de la α -syn de partes periféricas del organismo al cerebro: “hipótesis intestino-cerebro”, en la que diferentes conformaciones de la α -syn son transportadas a través del nervio vago al SNC (10,22).

1.1.3. Mutaciones relacionadas con la EP

Aunque la mayoría de los casos de EP son esporádicos (85%), existen mutaciones familiares responsables del 15% restante (8).

Se han descrito 8 genes que intervienen en el desarrollo de la EP, los cuales codifican para las respectivas proteínas que se especifican entre paréntesis: PARK7 (DJ-1), SNCA (α -syn), PLA2G6 (iPLA2), ATP13A2 (ATP13A2), LRRK2 (LRRK2), GBA (GCase), PINK1 (PINK1) y PARK2 (Parkin).

El papel que desempeñan estos genes es variado pero básicamente convergen en 4 vías diferentes: metabolismo lipídico, respuesta inflamatoria, función lisosomal y mitocondrial. Estos genes se expresan tanto en astrocitos como en las neuronas y la alteración de cualquiera de estos, puede desencadenar una disfunción astrocitaria, que en múltiples casos es perjudicial para las neuronas que los rodean (3).

1.2. ASTROGLÍA

1.2.1. Biología de los astrocitos en el sistema nervioso central (SNC).

El parénquima cerebral está compuesto fundamentalmente por dos grupos celulares: las neuronas y la glía. Las células de la glía son las más predominantes del SNC (23).

La glía está formada por varios subgrupos celulares, entre los que destacan los astrocitos, que son las células más abundantes y diversas (3).

Los astrocitos son morfológicamente muy heterogéneos y expresan gran variedad de receptores, canales y transportadores de membrana. Éstos, en relación con la región cerebral en la que se encuentran, expresan diferentes conjuntos proteicos que les permiten realizar funciones diferenciadas (24).

Los astrocitos se clasifican morfológicamente en dos grupos principales: astrocitos protoplásmicos (muy ramificados) y fibrosos (menos ramificados) (**Figura 2**). Los fibrosos, se localizan en la sustancia blanca, contactan con los nodos de Ranvier y vasos sanguíneos. Los protoplasmáticos, en cambio, se encuentran en la sustancia gris y contactan con vasos sanguíneos y sinapsis. Los astrocitos se superponen entre sí, formando una organización de mosaico que asegura que un determinado conjunto de sinapsis esté cubierto por una sola célula astrogial (25).

Una característica muy importante de estas células es la elevada capacidad de conectividad intercelular que presentan gracias a las conexinas 30 y 43 de su membrana, organizando hemicanales que, al acoplarse, forman uniones Gap a través de las cuales se produce el intercambio de moléculas, iones, etc. (25).

El citoesqueleto de los astrocitos está conformado por una red de filamentos intermedios cuyo componente principal es la proteína glial fibrilar ácida (GFAP), la cual se incrementa en situaciones de daño y degeneración cerebral (26).

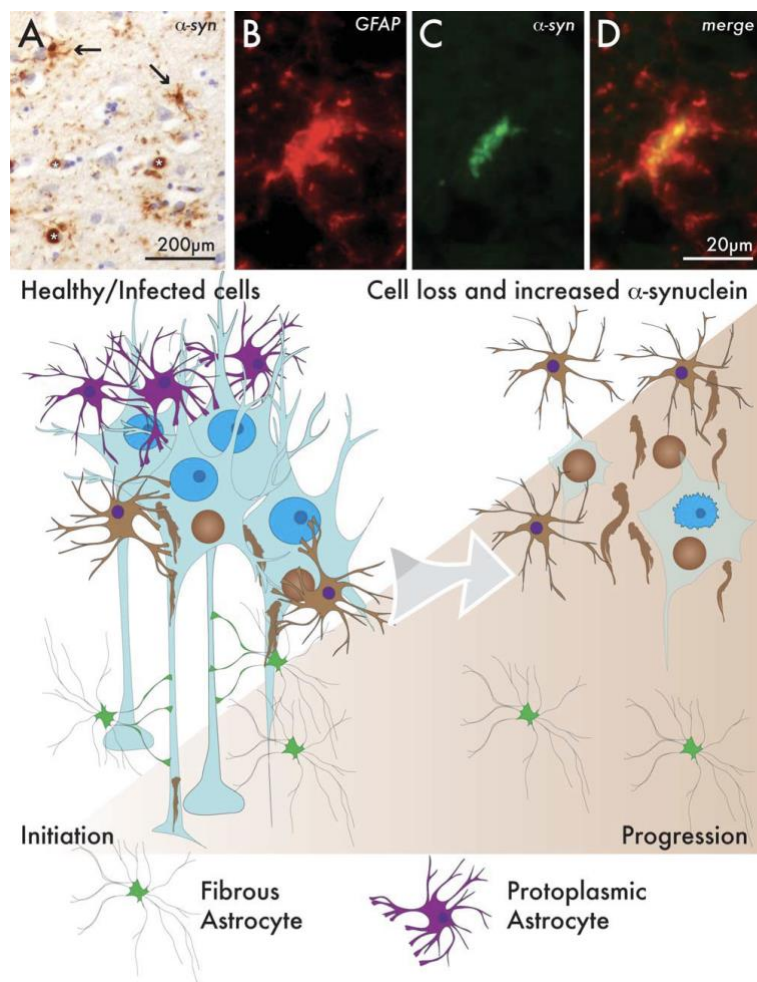


Figura 2. Representación de las conformaciones morfológicas de los astrocitos: protoplasmática y fibrosa (27).

1.2.2. Fisiología de los astrocitos

Los astrocitos participan activamente en numerosas funciones en el SNC más allá de ser el andamiaje estructural de éste. Destacan su papel en el metabolismo neuronal, en la transmisión sináptica y en la homeostasis de las especies reactivas de oxígeno (ROS), junto a otras: participación en la barrera hematoencefálica, en la formación y/o fagocitosis de sinapsis, inhibición de la activación de la microglía en el cerebro sano, liberación de factores de crecimiento neuronales, modulación del tono de los vasos sanguíneos, eliminación de desechos (3,24).

1.2.2.1. Homeostasis neuronal y sináptica

La homeostasis del microambiente cerebral se encuentra regulada por las células astrocitarias mediante la captación de moléculas como el glutamato (Glu) y el potasio (K) a través del transportador de aminoácidos excitadores (EAAT 1-2) y el canal rectificador de potasio (Kir4.1), respectivamente. Estas células también se encargan de regular el contenido de agua mediante Aquaporinas-4 (AQP4) (24).

El Glu es el neurotransmisor excitador más importante en el cerebro humano y su contenido extracelular se regula a través de EAATs. Existen 3 subtipos siendo los subtipos EAAT1y2 los que se expresan tanto en neuronas como astrocitos. Estos se encargan de mediar la eliminación de Glu de la hendidura sináptica para evitar la hiperexcitabilidad neuronal. La disfunción de estos transportadores conlleva la acumulación extracelular de Glu, estando asociado a la patogénesis de la EP (28).

La homeostasis del glutamato y el agua es imprescindible para preservar el estado de salud del SNC. Las proteínas EAAT2 y AQP4 se encuentran co-localizadas tanto en los astrocitos como en las neuronas nigroestriatales. En algunos estudios, se ha observado que la delección del gen AQP4 produce la reducción de la expresión de la proteína EAAT2 disminuyendo el transporte de Glu en la hendidura sináptica (29).

Cualquier alteración que pueda producirse en la fisiología glutamatérgica (tanto en la neurotransmisión como en la función de los EAATs en los astrocitos) puede estar involucrada en procesos neurodegenerativos y en el desarrollo de la EP (28).

Las membranas astrocíticas también presentan transportadores de ácido gamma-aminobutírico (GABA) en las sinapsis GABAérgicas, los cuales son imprescindibles para su eliminación tras la actividad neuronal.

Además, los astrocitos poseen receptores de neurotransmisores, por lo que son capaces de detectar e integrar la actividad sináptica y más aún, dependiendo de los niveles de Ca²⁺ intracelular, pueden liberar moléculas de señalización conocidas como gliotransmisores que tienen acciones de retroalimentación sobre las neuronas (25). Los más estudiados son el Glu, el GABA y el ATP (10).

La activación de los EAATs, como también de los transportadores de GABA, desencadenan diferentes mecanismos a través de los cuales aumenta la concentración

de Ca^{2+} intracelular, lo cual puede estimular la liberación de ATP/adenosina, regulando de forma negativa la estimulación neuronal y, proporcionando un mecanismo homeostático de la actividad sináptica (10).

Por último, cabe señalar que en los astrocitos existen movimientos de agua e iones (K^+ , Ca^{2+} , Na^+ , etc.) mediante distintos transportadores, canales e intercambiadores que están involucrados en el mantenimiento de un pH correcto alrededor de la sinapsis (30).

Toda esta homeostasis neuronal y sináptica regulada por los astrocitos contribuye a la correcta función cerebral y a la capacidad de plasticidad sináptica: adaptación de su actividad, mediante la variación en la intensidad de sus conexiones sinápticas preexistentes (10,31).

1.2.2.2. Papel energético y metabólico

Los astrocitos son esenciales para el sostenimiento energético de las neuronas, promoviendo el acoplamiento neurometabólico y neurovascular (25). Por un lado, los astrocitos captan la glucosa de la sangre y, a través de la glucólisis, obtienen su energía a la vez que generan lactato para las neuronas que se incorpora al ciclo de Krebs (acoplamiento neurometabólico). Por otro, la actividad sináptica condiciona la producción astrocitaria de prostaglandinas responsables de la vasodilatación asociada a la misma (acoplamiento neurovascular) (32).

Además, a través de la vía de las pentosas fosfato, los astrocitos obtienen ácidos nucleicos, aminoácidos y NADPH que ayudan en la proliferación cerebral (las dos primeras) y a regular las reacciones redox (la última) (24).

Los astrocitos también almacenan glucosa como glucógeno. En ellos, el Glu se puede metabolizar en glutamina mediante la glutamina sintetasa y posteriormente se libera para ser captado por las neuronas, las cuales luego son capaces de resintetizar el glutamato o en su caso GABA (32).

1.2.2.3. Neuroprotección

Los astrocitos desempeñan un papel fundamental en la neuroprotección y regeneración del cerebro dañado. Ante una lesión, se produce una activación astrocitaria

denominada astrogliosis, en la que los astrocitos proliferan y se tornan hipertróficos aumentando la expresión de transportadores y otras moléculas que ayudan en la eliminación de productos liberados al espacio extracelular por el daño celular. Los astrocitos, responden también a las ROS protegiendo el SNC del estrés oxidativo e inhiben la inflamación excesiva regulando la microglía (24). En diversos estudios se ha comprobado que la ablación de astrocitos, con la consecuente ausencia de los mismos, exacerba el daño neuronal y, sin embargo, el trasplante astrocitario disminuye el daño. Por lo que se puede decir que la astrogliosis en el cerebro lesionado es fundamental para la supervivencia neuronal (33,34).

1.3. ASTROCITOS EN LA EP

1.3.1. Interacciones de los astrocitos y las neuronas dopaminérgicas.

Como se ha comentado, los astrocitos se unen a otros astrocitos cercanos mediante uniones tipo Gap y la interacción entre los astrocitos y las neuronas es imprescindible para la supervivencia neuronal, puesto que éstas son dependientes de las funciones protectoras y de soporte astrocitarias. A nivel sináptico entre las neuronas y los astrocitos existe una comunicación bidireccional imprescindible para la regulación de la neurotransmisión (28).

1.3.1.1. Transmisión dopaminérgica

Los astrocitos, como se ha mencionado previamente, intervienen en la sinapsis interaccionando tanto con las neuronas presinápticas como con las postsinápticas. En el caso de las neuronas dopaminérgicas, éstas extienden sus axones al cuerpo estriado donde liberan DA. Los astrocitos estriatales poseen receptores de DA, en concreto los receptores D1a5. Se ha observado que los astrocitos estriatales podrían actuar como reservorio de L-dopa en parkinsonismo. Además, los receptores de la adenosina (A2A) y de DA (D2) se coexpresan en los astrocitos estriatales, y esta interacción receptor-receptor (A2A-D2) se ha observado que puede controlar la liberación de Glu de los astrocitos. Estos descubrimientos son fundamentales para conocer los mecanismos fisiopatológicos de la EP (35,36).

1.3.1.2. Liberación de factores neurotróficos

Los astrocitos secretan múltiples factores neurotróficos como: factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), factor de crecimiento nervioso (NGF), factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF, FGF-2), factor neurotrófico de dopamina cerebral (CDNF), factor neurotrófico derivado de astrocitos (MANF), etc., que garantizan un buen desarrollo, una correcta diferenciación y supervivencia neuronal, entre ellas de las neuronas dopaminérgicas. Por ello, se ha planteado que la administración de algunas de estas moléculas (como GDNF) en pacientes con EP, podría ser una terapia útil.

Se ha observado que factores como el GDNF son regulados positivamente en astrocitos de cerebros enfermos, con el objetivo de proteger las neuronas contra la oxidación y el estrés. Además, también se han observado ciertos efectos neuroprotectores y de mejora en la reparación y en el comportamiento locomotor neuronal en otros factores como el CDNF y MANF, puesto que se ha visto que estas proteínas antagonizan la secreción de factores proinflamatorios como la interleucina (IL) -1 y el factor de necrosis tumoral (TNF) (35).

1.3.1.3. Producción de moléculas antioxidantes

El Glutatión (GSH) es una molécula muy importante para las neuronas dopaminérgicas. Esta es liberada por los astrocitos y su principal función es la de antioxidante frente a las especies ROS.

La DA es estable en el interior de las vesículas sinápticas. Sin embargo, en el citosol, se elimina bien mediante la monoamino-oxidasa o bien mediante autooxidación, liberando ROS citosólicos, u oxidación espontánea de DA, originando DA quinonas, produciendo así un estrés oxidativo en las neuronas. Gracias a la presencia de GSH, que actúa como antioxidante frente a las ROS y las DA quinonas, se garantiza la supervivencia neuronal. Además del GSH, también es fundamental el papel de las metalotioneínas, proteínas ricas en cisteína con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiapoptóticas (35).

1.3.1.4. Rescate mitocondrial en neuronas dopaminérgicas

Diversos estudios han aportado evidencias acerca de la importancia de los astrocitos en la diferenciación y maduración dopaminérgica a través del rescate mitocondrial. De tal forma que se ha observado que las mitocondrias astrocíticas son internalizadas por las neuronas dopaminérgicas dañadas (mediante una vía dependiente de fosfo-p38). Esto es muy importante de cara al conocimiento de terapias para la EP mediante astrocitos derivados de células madres pluripotentes inducidas (iPSC), los cuales actuarían de donantes mitocondriales (35).

1.3.1.5. Disposición de productos de desecho neuronales

La α -syn en su forma agregada e insoluble (componente principal de los LB) situada en el espacio extracelular, es internalizada y degradada por los astrocitos a través del proteasoma y otras vías autofágicas. Estos procesos sugieren que los astrocitos ejercen una gran neuroprotección sobre las neuronas dopaminérgicas al eliminar dicho exceso proteico que en elevadas cantidades puede producir toxicidad.

Los astrocitos también se encargan de un proceso conocido como mitofagia, el cual consiste en la eliminación de mitocondrias dañadas con el fin preservar la calidad mitocondrial y eliminar posibles fuentes de liberación de ROS.

Por tanto la actividad fagocítica de los astrocitos puede ser importante para limpiar los restos neuronales dopaminérgicos (35).

1.3.2. Posible papel de la astrogliá en la neurodegeneración

El proceso de muerte neuronal es bastante rápido, lo cual hace más complicado observar si existen defectos o vulnerabilidad neuronal que expliquen la neurodegeneración en la EP (**Figura 3**) (24).

Los genes asociados a la EP se expresan en astrocitos y otras células gliales como la microglía. Por ello, los astrocitos que porten mutaciones de los genes para la EP puede que no sean capaces de hacer frente adecuadamente a las posibles lesiones existentes y que no ejerzan sus funciones beneficiosas de manera correcta. De este modo, se considera probable que sean disfunciones astrocíticas y de la microglía las que generen un deterioro del microambiente cerebral y que la muerte neuronal acontezca cuando el

entorno se vuelva demasiado pobre como para sobrevivir (24). De hecho, los primeros cambios que conducen a la degeneración neuronal incluyen la neuroinflamación, alteraciones mitocondriales, estrés metabólico, producción de ROS, micro y macrogliosis reactiva y alteración de la barrera hematoencefálica. Además, la heterogeneidad morfofuncional de los astrocitos en las diferentes regiones cerebrales podrían jugar un papel clave en la propia respuesta astrocítica ante el daño (37).

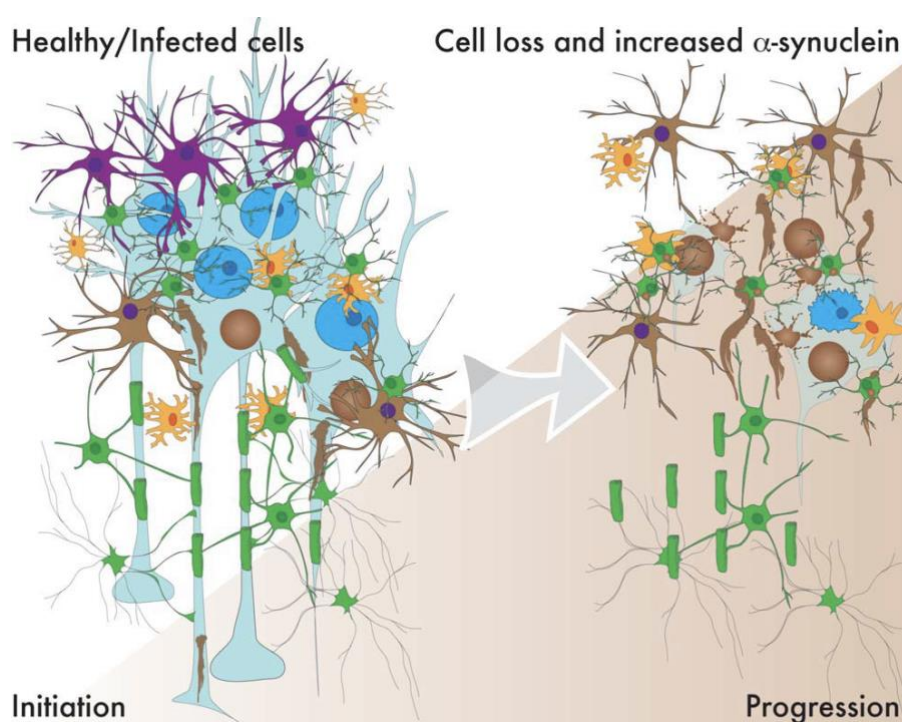


Figura 3. Representación de los cambios celulares durante el inicio y la progresión de la EP. Se observa, desde el inicio de los síntomas, una pérdida evidente de neuronas en el SNC (27).

1.3.3. Astrocitos y α -syn

Uno de los elementos más distintivos de esta enfermedad neurodegenerativa consiste en la acumulación de los BL en las neuronas, los cuales son inclusiones intracelulares de α -syn (5). Ésta, en condiciones normales es introducida (por endocitosis) y

degradada en las células gliales, sin embargo, cuando la concentración extracelular supera ciertos límites, comienza a producirse su agregación (3). La acumulación de esta proteína, ocasiona que se desencadene una cascada inflamatoria que favorece la aparición de ciertos procesos neurodegenerativos (9).

Debido a la gran relevancia de esta enfermedad, ya sea por su elevada incidencia, afectación en la calidad de vida de aquellos que la padecen y, por la ausencia de tratamiento curativo, he decidido realizar esta revisión con la literatura más reciente para poder comprenderla un poco más y mejor.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La hipótesis en base a la cual se articula esta revisión es la

“Contribución de los astrocitos en el origen y progresión de la Enfermedad de Parkinson”

Las principales características de la enfermedad de Parkinson (EP) son la pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas en la *pars compacta* de la sustancia nigra y la presencia de inclusiones citoplasmáticas con α -sinucleína (α -syn) llamadas cuerpos de Lewy (LB). Así, hasta la fecha, las neuronas dopaminérgicas y su vulnerabilidad han sido el foco de la investigación de esta enfermedad.

Por otro lado, las células gliales, y, en concreto los astrocitos poseen un papel central tanto en la regulación de la fisiología neuronal en el cerebro sano como en su fisiopatología asociada en el cerebro enfermo.

Además, algunos de los genes que participan en el desarrollo de la EP se expresan en los astrocitos, y desempeñan un importante papel en la función astrocitaria. Es plausible, por tanto, que las alteraciones funcionales de los astrocitos estén directamente relacionadas con el desarrollo de la EP, por deterioro de su función de soporte neuronal y/o extendiendo la toxicidad de la α -syn.

Por todo ello, se plantea que los astrocitos podrían estar involucrados en el inicio y progresión de la enfermedad. Con esta premisa detallo los objetivos del presente estudio.

Objetivo principal:

- La actualización del conocimiento sobre los mecanismos involucrados en la posible dualidad (detrimental y/o beneficiosa) de los astrocitos en la degeneración que acontece en la EP.

Objetivos secundarios:

- Revisión de nuevas terapias que pudieran ser beneficiosas para la EP.
- Ampliación de mi conocimiento sobre la neurofisiología astrocitaria y la neurofisiopatología asociada a la EP.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

- Diseño metodológico

Este trabajo consiste en una revisión bibliográfica en la que se pretende actualizar el conocimiento actual sobre el papel de los astrocitos en la EP. Para su realización, se ha empleado literatura científica tanto primaria como secundaria, donde se recoge información de interés para alcanzar los objetivos planteados.

- Estrategia de búsqueda y selección de los estudios

Durante la elección de tema y delimitación de los objetivos de esta revisión, se hizo uso de literatura terciaria para la adquisición de ciertas nociones básicas. Se emplearon para ello fuentes como: el diccionario de la Clínica Universidad de Navarra, la página National Institute of Health (NIH) y Medline Plus. En las cuales se buscaron: “Enfermedad de Parkinson”, “Glía”, “Astrocito” y sus correspondientes en inglés: “Parkinson’s disease”, “Glia” y “Astrocyte”.

Esta primera búsqueda fue muy útil para asentar bases de los conocimientos que se iban a desarrollar en este trabajo y para poder realizar una búsqueda de información más específica.

Posteriormente, se procedió a la realización de una nueva búsqueda bibliográfica. La estrategia de búsqueda empleada se sustentó en el empleo de bases de datos como Pub Med/Medline y Google Scholar, además de otros soportes científicos como alguna tesis doctoral y libro. Se ha realizado una búsqueda bibliográfica en la base de datos PubMed usando los términos “Parkinson disease” y “astrocyte” en combinación. La

búsqueda se limitó a artículos escritos, en su mayoría en inglés y publicados en los últimos 10 años. Se chequeó su importancia relativa al tema objeto de estudio, y mayoritariamente se ha trabajado sobre las revisiones más recientes (últimos 5 años) por dos motivos:

- El número de artículos publicados en los últimos 10 años es considerablemente alto: desde los 14 en 2011 a 60 artículos de revisión en 2020, haciendo escasamente manejable la información recogida.
- La búsqueda bibliográfica ha puesto de manifiesto que en el primer lustro la información recogida es bastante parcelada y a la vez hay escasa discusión científica respecto a la implicación de los astrocitos en la EP.

La siguiente tabla recoge los criterios seguidos a la hora de seleccionar la bibliografía **(Tabla 1)**.

Tabla 1. Listado de criterios de inclusión y exclusión para la realización de esta revisión (elaboración propia).

	Criterios de selección	Criterios de exclusión
Tipo de diseño del estudio	Todo tipo de estudios, priorizando revisiones de alto impacto y estudios experimentales	Aquellos estudios que no tengan interés en cuanto a los objetivos
Tiempo de publicación	Básicamente entre 5-10 años, priorizando menos de 5 años	
Idioma del estudio	Inglés, español	Estudios en otro idioma
Enfermedad neurodegenerativa	Enfermedad de Parkinson	Estudios que no incluyan contenido sobre esta enfermedad

	Criterios de selección	Criterios de exclusión
Tipo de célula glial	Astroцитos	Estudios que no incluyan contenido sobre astroцитos
Factor de impacto	Preferentemente estudios que presenten elevado impacto	Estudios de bajo impacto, con poca relevancia

Cabe destacar, que este trabajo se ha basado principalmente en revisiones publicadas en el lustro más reciente atendiendo a su índice de confianza. Sin embargo, a pesar de los criterios de selección establecidos, no se ha sido excesivamente estricto a la hora de eliminar artículos de más de 10 años y con bajo impacto.

Se ha tenido en cuenta el factor de impacto de la revista en la que se ha publicado la revisión. Esta información se ha consultado en la herramienta InCites-Journal Citation Reports (JCR) incluida en la plataforma Web of Science (WOS) (actualizado hasta 2019). Finalmente, los estudios sobre los que se articula fundamentalmente este trabajo sí cumplen estos criterios de impacto y tiempo. En concreto, la bibliografía sobre la que se basa la mayor parte de este trabajo comprende 12 publicaciones, siendo, algunas de ellas, citas relevantes y clarificadoras para el desarrollo del mismo:

- Booth et al. 2017. Trends in Neurosciences Q1
- Brundin et al. 2018. Nature Medicine Q1
- Cavaliere et al 2017. Neurobiology of Disease Q1
- Cragolini et al. 2019. Neural Regeneration Research Q2
- Filippini et al. 2019. Cellular and Molecular Neurobiology Q2
- Gebreyesus et al 2018. Medical sciences Q2
- Joe et al.2018. Experimental neurobiology Q3
- Kwon et al. 2020. Translational neurodegeneration Q1
- Miyazaki et al. 2020. Cells Q2
- Pons-Espinal et al. 2020. Cellular and Molecular Life Sciences Q1
- Ramos-González et al. 2020. Doctoral thesis, UPV-EHU
- Zeng et al. 2019. Neurobiology of aging Q1

4. RESULTADOS

4.1. ALTERACIÓN DEL ACLARAMIENTO DE LA α -SYN POR LOS ASTROCITOS EN LA EP

La acumulación de α -syn y subsiguiente formación de los LB es una de las características principales de la EP. Existen varios factores asociados a este proceso de agregación siendo su mal plegamiento el que altera principalmente la degradación de esta proteína (9).

Además, la α -syn extracelular liberada bien por estrés o bien por degeneración neuronal, podría contribuir a extender la toxicidad. Por ello, es de gran importancia controlar su acumulación y liberación para así evitar la progresión de la enfermedad neurodegenerativa. Es por ello que la captación y eliminación de estas proteínas mal plegadas es fundamental (9).

Esta eliminación de la α -syn se realiza fundamentalmente mediante endocitosis. Y se ha comprobado que todos los principales tipos de células cerebrales (neuronas, astrocitos y microglía) son capaces de internalizarla y degradarla (3,9). Sin embargo, también se ha visto que las células más eficaces para esta tarea son las células gliales, en las cuales existen diferentes mecanismos de endocitosis y de receptores encargados del reclutamiento de esta proteína mal plegada (9).

Múltiples estudios han revelado que los astrocitos captan la α -syn fisiológica, monomérica a través de una vía de endocitosis independiente de receptores tipo Toll (TLR4), la cual, tras ser endocitada, se localiza en el lisosoma (38). Esto sugiere que los astrocitos tienen un importante papel en su eliminación y degradación, manteniendo así un entorno saludable en el que las neuronas pueden prosperar (3,39).

Por otro lado, se ha demostrado que la existencia de altas concentraciones de α -syn extracelular induce una respuesta inflamatoria dependiente de TLR4 en cultivos de astrocitos. Es decir, parece que existe una relación entre las concentraciones de α -syn y esta respuesta inflamatoria, pudiendo ser relevante para el desarrollo de la patología en la EP (38,40). Además, se ha visto que alteraciones en la función GCasa, Atp13a2 y Lrrk2 son perjudiciales para la función lisosomal en los astrocitos (3).

Los receptores tipo Toll (TLR) se han asociado con la absorción de α -syn fibrilar. Específicamente, se requiere TLR4 para la internalización de α -syn fibrilar. Su deficiencia origina alteraciones en el aclaramiento de α -syn, provocando un aumento de la neurodegeneración. No obstante, también se ha observado que otro factor que disminuye significativamente el aclaramiento de α -syn es la neuroinflamación (9).

Cuando las neuronas secretan α -syn, los astrocitos son capaces de endocitarla y degradarla. Si la concentración de α -syn extracelular es demasiado elevada puede que, o bien se induzca una respuesta inflamatoria y comience a desarrollarse patología, o bien los astrocitos sigan endocitando niveles crecientes de esta proteína, dando lugar a acumulación y formación de inclusiones de α -syn en los astrocitos pudiendo ocasionar disregulaciones en la función de otros astrocitos (3). En este contexto, en las primeras fases de la enfermedad, las células gliales podrían jugar un papel beneficioso con la endocitosis y el aclaramiento de α -syn. Sin embargo, durante la patología, la persistente generación de agregados de α -syn podría comprometer el sistema endolisosomal ocasionando su acumulación y no digestión que, con el tiempo, podrían conducir al desarrollo de disfunciones glial y promover la propagación y progresión de la enfermedad (9).

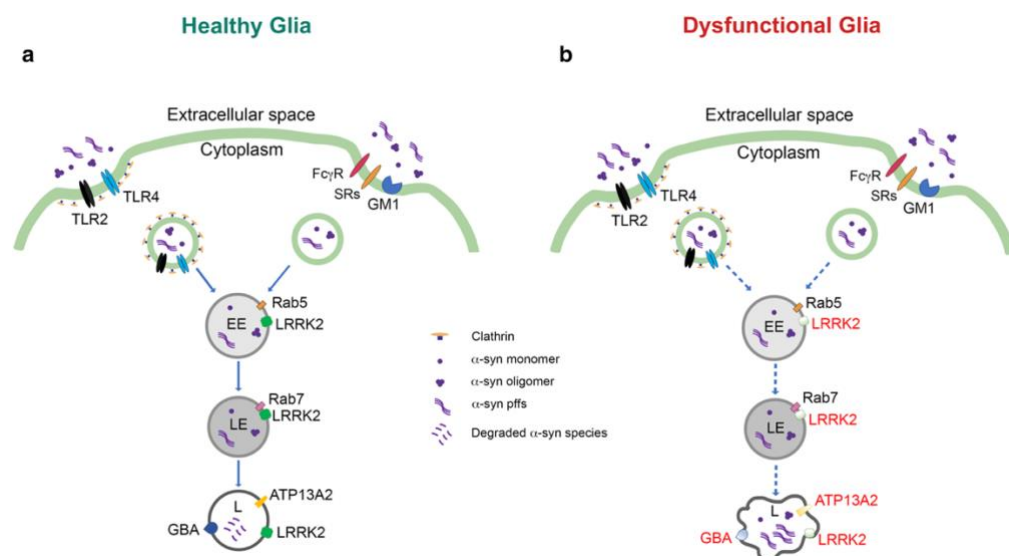


Figura 4. Representación esquemática de los receptores que intervienen en la internalización de α -syn por células gliales tanto sanas como alteradas (9)

En la **Figura 4**, se puede observar que existen dos vías de internalización; la primera, mediante endocitosis a través de receptores TLR2 y TLR4, por medio de una vía dependiente de clatrina; y la segunda, también mediante endocitosis, a través de gangliósido GM1, Fcγ y los receptores captadores (SR), pero de manera independiente de la clatrina. Tras la internalización de la proteína, en glía normofuncionante, se forma un endosoma temprano que madura a endosoma tardío y se fusiona con el lisosoma, para posteriormente sufrir una acidificación que contribuirá en la degradación de las especies α -syn. Sin embargo, se ha visto que, en condiciones patológicas relacionadas con la EP, la alteración genética puede conducir al deterioro de la degradación de α -syn. En concreto, mutaciones de LRRK2, podrían enlentecer la fusión endosomal y mutaciones en ATP13A2 y GBA podrían comprometer la estructura y funcionalidad lisosomal, originando la acumulación de especies de α -syn (9).

Se ve, así, que, tanto las alteraciones genéticas como la acumulación de la α -syn por sí misma, pueden alterar la vía endolisosómica provocando un deterioro del aclaramiento, que, a su vez, conducen a la acumulación de especies tóxicas, disfunciones de la fisiología de la glía y progresión de la enfermedad (41).

Se sabe que una de las características principales de las proteinopatías, en particular de las sinucleopatías, es la transmisión proteica célula-célula. Mediante una cámara de microfluidos se investigó si una vez absorbida la α -syn, ésta puede ser transportada. Tras finalizar el experimento se confirmó que existe un transporte astrocito-neurona, astrocito-astrocito y neurona-neurona (41). Tras la demostración de que los astrocitos eran capaces de internalizar α -syn exógena y transportarlo a las neuronas, se ha estudiado el efecto de este transporte. Los resultados obtenidos fueron similares y se observó que los astrocitos "donantes" de α -syn sufrieron poco efecto apoptótico a diferencia de las neuronas "receptoras", donde la apoptosis aumentó significativamente (40% aproximadamente). Además se estudió más concretamente la diferencia entre la aplicación de α -syn directamente de los LB a las neuronas con respecto a la α -syn aplicada, suministrada en el medio de cultivo y transportada desde los astrocitos a las neuronas. Se observó que, a pesar de que la incorporación de α -syn podría ser suficiente para matar neuronas, la mortalidad neuronal era mayor cuando existía transporte astrocito-neurona que tras la aplicación directa. Es por esto, por lo

que se plantea la hipótesis de que los LB originan en los astrocitos la liberación de sustancias (micro-ARN tóxico, por ejemplo) que pudieran aumentar más la neurotoxicidad (10,41).

4.2. IMPACTO DE LAS MUTACIONES ASOCIADAS A LA EP EN LOS ASTROCITOS

Múltiples genes implicados en la EP participan en la regulación de la activación de los astrocitos en respuesta a la inflamación.

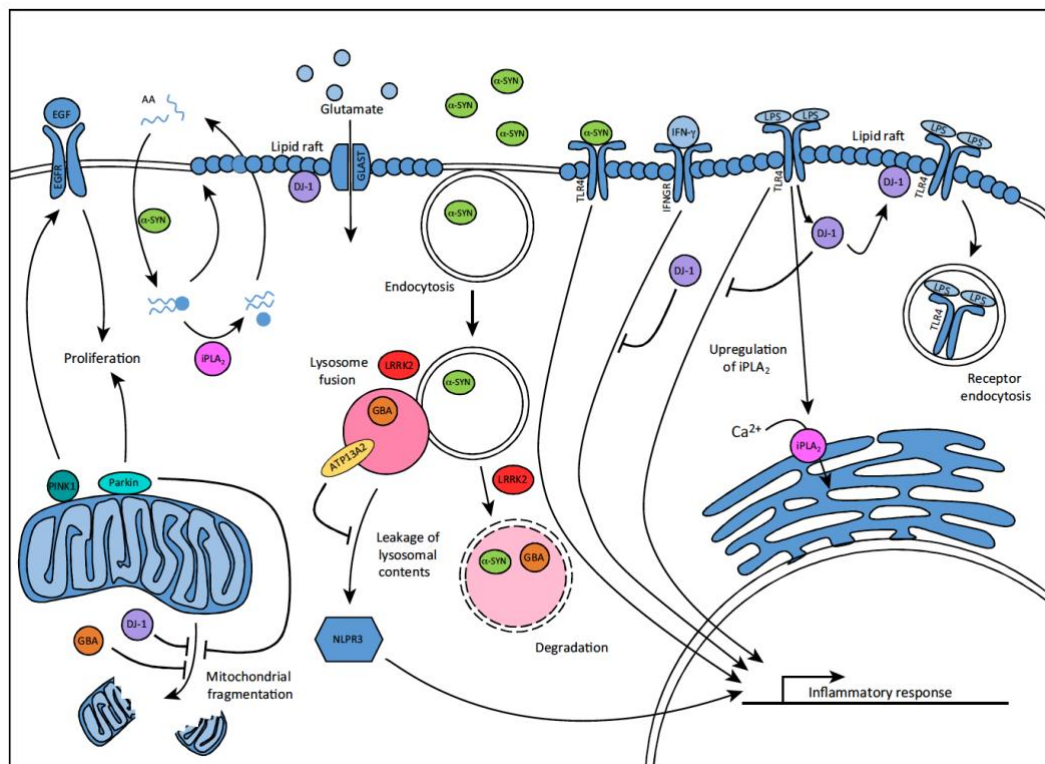


Figura 5. Representación de las mutaciones genéticas asociadas a la EP. Representados de izquierda a derecha: funciones proliferativas y mitocondriales; regulación del ácido araquidónico; balsas lipídicas; endocitosis alfa-sin; intervención TLR4 y respuesta inflamatoria (3).

En la **Figura 5** se pueden observar el conjunto de procesos implicados en la EP y los genes participantes. Entre ellos destacamos los que se comentan a continuación.

Tras la detección astrocitaria del factor de crecimiento epidérmico (EGF), se origina una respuesta proliferativa en la cual participan genes como PINK1 o Parkin, (3). Se ha visto que la deficiencia de PINK1, disminuye la respuesta proliferativa de los astrocitos, ocasionando retraso en la cicatrización y que la de DJ-1 provoca defectos en la astrogliosis y retrasos en la reparación del cerebro lesionado. De esta forma, ambas mutaciones pueden contribuir a la patogenia de la EP (24).

Se sabe que los genes PINK1, DJ-1, GBA y LRRK2 poseen un importante papel en las funciones mitocondriales. Son los encargados de regular su función y el metabolismo de la glucosa en las células gliales (fundamental para la supervivencia y el comportamiento locomotor normal). La disfunción mitocondrial es un factor de riesgo conocido para la EP y la mutación de los genes implicados, tiene como consecuencia el aumento de la producción de ROS y la alteración del metabolismo de la glucosa disminuyendo su captación, alterando la glucólisis, etc. (3,24).

Además de lo ya comentado, se sabe que los astrocitos tienen un papel en el metabolismo de lípidos y liberación de ácidos grasos. Se ha demostrado que DJ-1 colabora en la estabilización de las membranas, participando también en los procesos de endocitosis, exocitosis y en la modulación de las oscilaciones de calcio en los astrocitos, además de en la respuesta inflamatoria mediada por TLR-4. También se ha observado que la deficiencia de DJ-1 afecta la captación de Glu en astrocitos alterando la expresión de sus transportadores (3,24).

La α -syn de los astrocitos regula la captación y distribución del ácido araquidónico (AA), que es liberado de los fosfolípidos gracias a la lipoproteína asociada a la fosfolipasa A2 (iPLA2). Además, esta lipoproteína es regulada por señalización a través de TLR4 y aumenta la carga de calcio en el retículo endoplásmico (3).

En la **Figura 5**, también se puede observar que tras la detección de moléculas como α -syn, Interferon-g (IFN-g) y lipopolisacárido (LPS) por parte de los receptores TLR4 se desencadena una respuesta en la que participa DJ-1 y sumado a otras vías como la de las moléculas proinflamatorias que salen inflammasoma NLRP3, contribuyen al desarrollo de la respuesta inflamatoria (3,35).

Se ha demostrado que niveles elevados de α -syn exógena inician una cascada de señalización vía TLR4 que está regulada por DJ-1 y LRRK2. Esta señalización se ha observado en células microgliales, aunque aún no se ha visto si tiene un papel similar en los astrocitos (3). Asimismo se ha visto que los genes DJ-1 y PINK-1 se encargan de regular la inflamación: DJ-1 regula las ROS mediante el aumento de la expresión de enzimas antioxidantes y controlando la liberación de citoquinas; PINK contribuye a la disminución de la respuesta inflamatoria mediante la activación de STAT3 y AKT. En cuanto a LRRK2 se ha demostrado que su deficiencia inhibe la inflamación (24).

Por tanto, se ha visto que la mutación de estos genes ocasiona una disminución de los mecanismos reguladores de la inflamación, ocasionando así que ésta se vea aumentada: bien por mutaciones de pérdida de función de DJ-1 y PINK1, bien por mutaciones de ganancia de función de LRRK2 (24,42).

Los astrocitos, gracias a la producción de GSH, protegen a las neuronas eliminando ROS. Genes implicados en esta función neuroprotectora son: el gen Parkin, que regula los niveles de GSH y previene la degeneración de neuronas dopaminérgicas en cooperación con GDNF; y los genes PINK1 y DJ-1 encargados de regular el factor Nrf2 (crítico para la expresión de enzimas antioxidantes tales como NAD (P), entre otras) (24).

Todas estas funciones son importantes para la salud neuronal. Estos cambios en las funciones esenciales de las células pueden conducir a una capacidad reducida de los astrocitos para mantener un ambiente saludable para sus neuronas vecinas para prosperar y hay evidencias de que estas alteraciones en los astrocitos dan como resultado la degeneración neuronal (3).

4.3. ASTROGLIOSIS REACTIVA, NEUROINFLAMACIÓN Y EP

Ante un estímulo lesivo, se ha visto que existen dos respuestas en el SNC que son claves para minimizar los daños. Estas dos respuestas son conocidas como neuroinflamación y astrogliosis reactiva.

La neuroinflamación consiste en un mecanismo de defensa que, inicialmente, ofrece protección al cerebro mediante la eliminación o la inhibición de ciertos patógenos y también es capaz de promover efectos beneficiosos como la reparación tisular o la

eliminación de restos celulares. No obstante, la persistencia de esta respuesta inflamatoria puede llegar a ocasionar daños, pudiendo conducir incluso al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas (5).

La neuroinflamación se ha considerado siempre como una consecuencia de las enfermedades neurodegenerativas. No obstante, actualmente se plantea que existan vínculos causales entre ambas (43). Investigaciones recientes han convergido en la idea de que la neuroinflamación no es solo una respuesta a la neurodegeneración en la EP, sino que en realidad juega un papel clave en desencadenar y mantener el proceso de la enfermedad (44).

Varios estudios sugieren la importancia de los astrocitos en la neuroinflamación de la EP. La interacción entre astrocitos, neuronas y microglía es fundamental para una adecuada regulación de la respuesta inflamatoria y una alteración en esta interacción, implicaría a los astrocitos, en mayor medida, en la patogenia de la EP (45,46). Además también se ha revelado que la inflamación promueve la neurodegeneración dopaminérgica y que las neuronas dopaminérgicas son más susceptibles a estímulos inflamatorios (35).

La astrogliosis o astrocitosis reactiva consiste en una activación astrocitaria en respuesta a una lesión (incluidas infección, trauma, isquemia y neurodegeneración), en la que los astrocitos proliferan y además cambian su morfología y función. Por un lado hay una hipertrofia astrocitaria; y por otro, un cambio bioquímico, con un aumento en la expresión de filamentos intermedios como GFAP y alteraciones en su capacidad inmunocompetente. Además de esto, también aumentan la expresión de transportadores Kir 4.1 y EAAT1 que ayudan en la eliminación de K^+ y Glu, respectivamente (24,46,47). Los estudios sugieren que la astrogliosis tiene tanto efectos beneficiosos como perjudiciales para las neuronas (46).

A pesar de que no se conozcan las vías concretas de señalización, se cree posible que los astrocitos tengan una reacción exclusiva para la EP. La astrogliosis no sigue un curso lineal en la EP; ésta comienza en la etapa más temprana de la EP, donde juega un papel importante en la progresión de la enfermedad; y se suprime en las etapas más avanzadas (46).

Se ha observado que las características de la astrogliosis son únicas en la EP en comparación con otras formas de parkinsonismo. Además, se han encontrado hallazgos en cerebros post-mortem que plantean que el grado de astrogliosis se correlaciona con el grado de acumulación de α -syn. Esta hipótesis se apoya en algunos estudios in vivo en los que se visualiza la astrogliosis mediante PET gracias a biomarcadores, concluyéndose que la extensión de la astrogliosis se relaciona con la estadificación de la EP (46).

4.4. CONTRIBUCIÓN DE LOS ASTROCITOS A LA DEGENERACIÓN NEURONAL: PAPEL NEUROTÓXICO

Los astrocitos desempeñan numerosas funciones en el SNC y son esenciales para mantener la salud de las neuronas, entre ellas las dopaminérgicas por lo que la pérdida de su función puede contribuir al comienzo de procesos neurodegenerativos (48).

La glía es capaz de controlar el microambiente del SNC, regulando la concentración de moléculas (Glu, K) y el contenido de agua. Los astrocitos son responsables de la captación de Glu para evitar la sobreactivación neuronal y la excitotoxicidad (procesos presentes en enfermedades como la EP) Además, participan junto con la microglía en la neuroinflamación mediante la liberación de mediadores proinflamatorios (9).

Como se ha mencionado con anterioridad, los astrocitos presentan múltiples funciones beneficiosas en condiciones normales. Sin embargo, en condiciones patológicas, pocos estudios han investigado sus funciones.

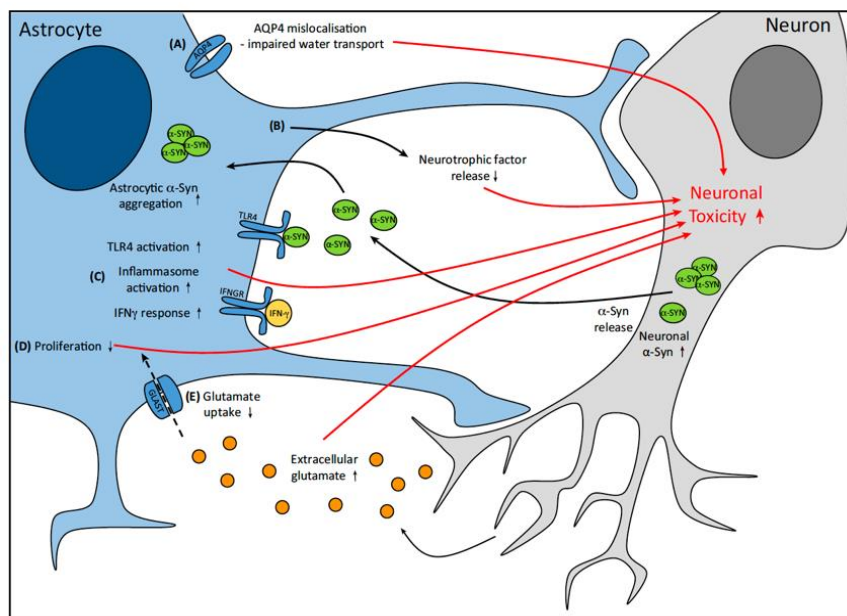


Figura 6. Representación de la contribución astrocitaria a la toxicidad neuronal (3).

La disfunción astrocitaria contribuye a la toxicidad neuronal mediante cinco mecanismos principales, según se aprecia en el esquema de la **(Figura 6)**.

4.4.1. Alteración en la Acuaporina-4 (AQP4)

En la actualidad, sabemos lo importante que es la permeabilidad al agua (a través de la AQP4) para preservar, entre otras, la función de la barrera hematoencefálica (BHE). Se ha demostrado que en ratones con deficiencia en AQP4 tienen lugar respuestas inflamatorias microgliales significativamente más fuertes y una pérdida notablemente mayor de neuronas dopaminérgicas. La AQP4 se ha estudiado en situaciones patológicas y los resultados sugieren que AQP4 participa en la aparición y progresión de la EP (35).

En otras revisiones, se observa que la acumulación de α -syn podría ocasionar una localización anormal de AQP4. Estos canales de agua mal ubicados, se sitúan lejos de los extremos de los astrocitos, lo que da como resultado un transporte de agua deficiente y una afectación en la integridad de la BHE, en la cual participan (3).

Además, también se ha demostrado que AQP4 modula la comunicación de astrocitos a microglía en neuroinflamación (35).

4.4.2. Disminución de la capacidad neuroprotectora astrocitaria

Sabemos que las propiedades antioxidantes de los astrocitos son muy importantes para supervivencia neuronal, especialmente para las neuronas dopaminérgicas.

En concreto, la vía de señalización del factor neurotrófico Nrf2 es esencial en la defensa antioxidante gracias a la inducción de moléculas antioxidantes como, por ejemplo, el GSH (35). En contraposición al buen funcionamiento del Nrf2, se ha advertido de que, en condiciones en las que la liberación de factor neurotrófico ha disminuido, la capacidad neuroprotectora de los astrocitos se ha modificado negativamente (3).

Se ha observado que la interrupción de la señalización de Nrf2 en los astrocitos conduce a una reducción en la síntesis de GSH. Ésta podría resultar en la inhibición selectiva del complejo mitocondrial I, reduciendo su actividad, y daño neuronal dopaminérgico (35).

También se comprobó que en ratones con deficiencia de Nrf2 se produjo una exacerbación de la gliosis, liberación de citocinas inflamatorias y la degeneración de las neuronas dopaminérgicas nigrales, así como una agudización de la agregación de α -syn (35).

Con estos hallazgos, podemos comprobar que la disfunción del sistema Nrf2 en los astrocitos conduce fácilmente a la disminución de la función neuroprotectora de los astrocitos y a la neurodegeneración dopaminérgica (3,35).

4.4.3. Aumento de la señalización inflamatoria

Se ha observado que los astrocitos expuestos a agregados de α -syn procedentes de neuronas sufrieron cambios en el perfil de expresión génica, los cuales provocan una respuesta inflamatoria con la inducción de diferentes elementos proinflamatorios como citocinas y quimiocinas (9,39).

Como he mencionado previamente, la acumulación de α -syn extracelular induce una respuesta inflamatoria dependiente de TLR4 en cultivos de astrocitos. A lo cual, parece

que existe una relación entre las concentraciones de α -syn y esta respuesta inflamatoria. Por otro lado, se ha demostrado también que la vía de señalización TLR4 en astrocitos está regulada por DJ-1, el cual también regula la activación de astrocitos por IFN-g. Asimismo, se ha demostrado que la expresión deficiente del gen ATP13A2 origina una cascada de eventos que da como resultado la activación del inflamasoma NLRP3. La activación de estas vías de señalización inflamatoria da lugar a cambios en las funciones esenciales de los astrocitos, incluyendo transporte de Glu, transporte de agua y capacidad neurotrófica, que podrían conducir a la degeneración neuronal. La activación del inflamasoma NLRP3 en microglía y astrocitos conduce a la producción de IL-1 y citocinas proinflamatorias de IL-18, desempeñando un papel clave en la neuroinflamación (35). Es por esto que se cree que el inflamasoma es crucial en la patogenia de la EP (3).

4.4.4. Alteración en la proliferación

Teniendo en cuenta que el gen PINK1 contribuye al desarrollo y proliferación de astrocitos y facilita la degradación de mitocondrias dañadas, se ha podido observar en ratones con ausencia de este gen que existía una reducción en el número de astrocitos en comparación con ratones que sí lo presentan. La mayoría de las mutaciones en PINK1 relacionadas con la EP, son mutaciones de pérdida de función por lo que es de esperar que puedan darse resultados similares que los observados en los ratones que no expresaban el gen. Es decir, una reducción de la capacidad de proliferación de astrocitos y del número total, además de reducción de la capacidad de las células para responder a una agresión. Por ello, esto, podría tener graves implicaciones para la neuroprotección y la salud del SNC (3). Además también se ha visto que PINK regula la respuesta inflamatoria astrocítica y que su pérdida podría dar lugar al desarrollo de defectos mitocondriales, aumento de los niveles de ROS intracelulares, disminución de la capacidad de absorción de glucosa y disminución de la producción de ATP (35).

4.4.5. Reducción de la captación de glutamato

Se ha advertido que la acumulación de α -syn la puede condicionar la disfunción y disminución del transportador EAAT2 originando una reducción de captación de Glu y una acumulación extracelular subsiguiente de Glu e inicio de excitotoxicidad

neuronal. Esta última se debe a la estimulación excesiva de los receptores neuronales por aminoácidos excitadores. También se observó que este déficit de captación indujo la activación de los astrocitos y microglía de la *pars compacta* de la sustancia negra (3,35).

También se comenta que las células gliales activadas liberan factores proinflamatorios y neurotóxicos que inducen daño neuronal y neurodegeneración. Estos hallazgos sugieren que la disfunción de EAAT2 contribuye a la patogénesis de la EP (35).

5. DISCUSIÓN

5.1. PAPEL DE LOS ASTROCITOS EN LA EP: ¿PÉRDIDA DE LA FUNCIÓN NORMAL O INCREMENTO DE LA FUNCIÓN TÓXICA?

A lo largo de esta revisión he podido observar que los astrocitos están directamente relacionados con la salud neuronal y que, cualquier alteración astrocitaria puede repercutir negativamente en esta relación. Sabemos que en la EP, los astrocitos se encuentran alterados y se ha demostrado que éstos presentan un papel activo en la patogenia de la EP (24). Así que podemos plantearnos de qué manera intervienen los astrocitos en dicha patogenia ¿mediante la pérdida de sus funciones normales? o, ¿mediante el incremento de la función tóxica de estos?

En este trabajo se ha mencionado la capacidad neuroprotectora astrocitaria debida a la existencia una señalización neuroprotectora dependiente de factores neurotróficos y moléculas antioxidantes como el GSH, modulada por alguno de estos factores como el Nrf2, entre otras. Junto a estas acciones, los astrocitos también ofrecen protección mediante sistemas de eliminación de ROS, regulación del tono de los vasos, y aclaramiento de proteínas como la α -syn y otras que podrían resultar neurotóxicos (24,35). Sabemos que estas funciones son importantes para la salud neuronal y que cualquier cambio puede perturbar la capacidad protectora astrocitaria. Así, ante la alteración de la función glial, las neuronas estarían más expuestas a la neurodegeneración (3).

Entre los elementos contribuyentes a la degeneración neuronal, hemos de tener en cuenta, además, otros factores que pudieran conducir a estados que alteren la salud del microambiente cerebral. En concreto, los astrocitos pueden contribuir a la

neurotoxicidad mediante 5 vías diferentes, las cuales han sido expuestas a lo largo de este trabajo y resumidas en la **Figura 7**, (3). Se ha visto que los genes expresados en la EP se encuentran presentes también en los astrocitos y que las mutaciones de dichos genes originan cambios en el funcionamiento astrocitario (24). Además, estas mutaciones son responsables de la reducción de capacidad de los astrocitos para mantener un ambiente saludable para sus neuronas vecinas (3).

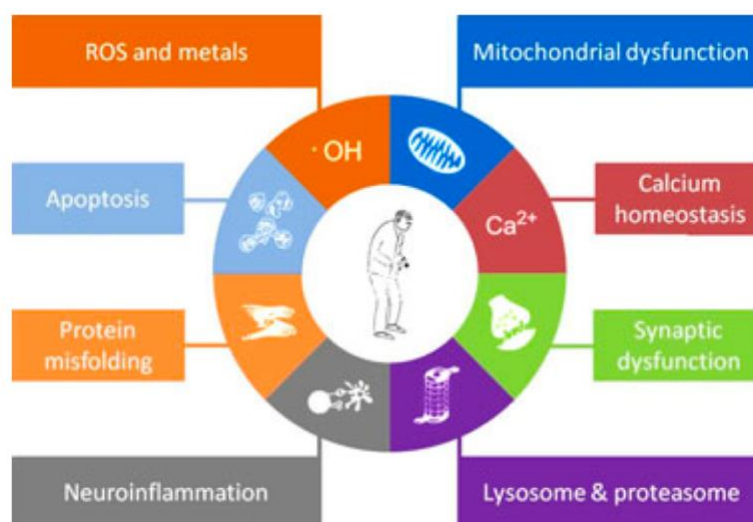


Figura 7. Representación de los elementos más característicos de la EP (6).

En la **Figura 7** se esquematizan las principales vías que se ven alteradas en la EP, entre las que se encuentran la respuesta inflamatoria, la función mitocondrial y lisosomal y el transporte lipídico. Asimismo también pueden presentarse disfunciones sinápticas, apoptosis, liberación de factores ROS, etc. (6).

Se puede concluir, así, que la participación de los astrocitos en enfermedades neurodegenerativas como la EP, es consecuencia de la pérdida de las funciones protectoras y la ganancia de las funciones tóxicas (48).

Respecto a la genética y las mutaciones asociadas a la EP, hemos de considerar su gran heterogeneidad. Existen diversos fenotipos genéticos en esta enfermedad que hacen que cada paciente presente unos factores clave diferentes en la patogenia. Estas diferencias dan lugar a que cada paciente progrese de una manera u otra. Por ello, sería interesante plantear un enfoque de la enfermedad más allá de la visión clásica reduccionista, en la que todos los pacientes sean tratados por igual. Un enfoque personalizado de los enfermos de Parkinson, en función de su etiopatogenia, puede permitir discriminar nuevas dianas terapéuticas de la EP mejorando la evolución de la enfermedad (6).

5.2. GLIOSIS REACTIVA: INTERACCIÓN COMPLEJA ENTRE PROCESOS NEUROTÓXICOS Y NEUROPROTECTORES

Se ha comentado anteriormente la contribución astrocitaria en las funciones neuroprotectoras y neurotóxicas. Sin embargo, podemos plantearnos ¿cuál es el papel predominante que ejercen los astrocitos en la EP?

Los astrocitos tienen múltiples fenotipos reactivos según el tipo y estadio de las enfermedades neurodegenerativas y la ubicación regional. Sin embargo, se tiende a realizar una clasificación dicotomizada en fenotipo “neuroprotector” y fenotipo “neurotóxico”, aunque no sea del todo precisa. Así se habla de astrocitos con fenotipo A1 (proinflamatorios) o A2 (mediadores inmunorreguladores) (5). Se ha visto que los astrocitos A1 regulan positivamente muchos genes tóxicos, lo que sugiere que los astrocitos A1 pueden ser dañinos, mientras que los astrocitos A2 son considerados protectores ya que regulan positivamente factores beneficiosos.

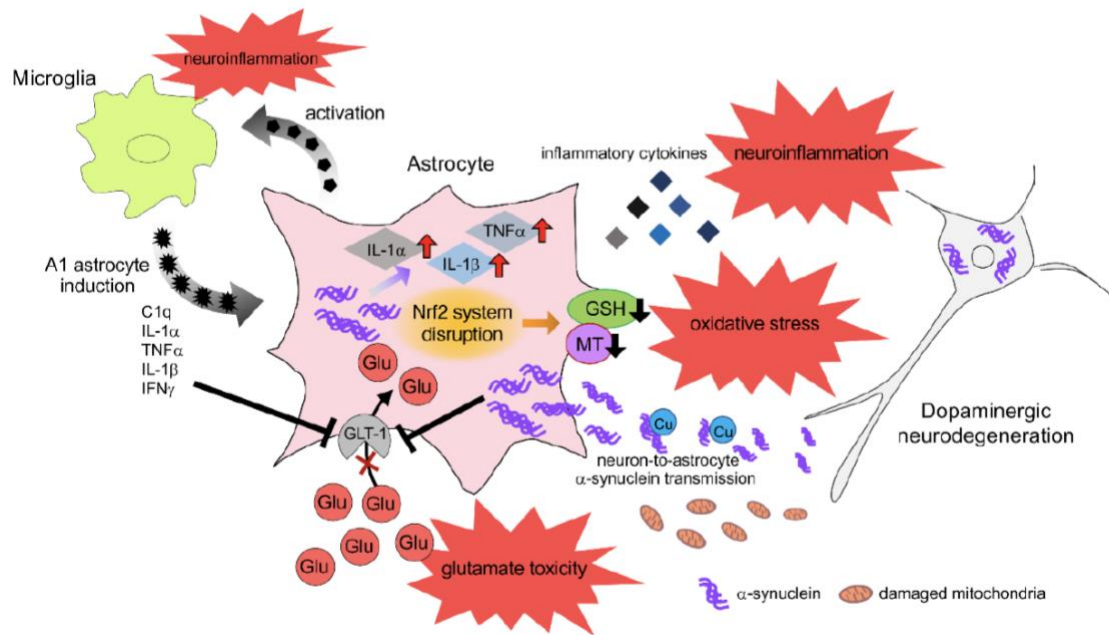


Figura 8, Interacción neurona-astrocito-microglía en condiciones neuropatológicas. Los astrocitos A1 (activados por microglía) liberan IL-1 α , IL-1 β y TNF α inhiben la captación de glutamato en los astrocitos, interrumpen Nrf2 originando toxicidad y estrés oxidativo, respectivamente (35)

Los astrocitos A1, activados por microglía, inician y propagan una respuesta inflamatoria al producir factores proinflamatorios (IL-1 α , IL-1 β y TNF α), e inhibir la fagocitosis y el aclaramiento de productos, pudiendo condicionar la muerte de neuronas y oligodendrocitos (**Figura 8**). También se ha descubierto que los astrocitos controlan la activación microglial y la neuroinflamación inducida por microglía (35).

A día de hoy, en respuesta a la pregunta antes realizada, la proporción de cada fenotipo puede diferir en función de la etapa en la que se encuentre la enfermedad neurodegenerativa y de los diferentes estímulos del microambiente y de la microglía. Por tanto, en función de estos factores, el efecto de la astrogliosis será beneficioso o perjudicial (5).

5.3. IMPORTANCIA DE LA LOCALIZACIÓN CEREBRAL EN LA NEURODEGENERACIÓN DE LA EP.

Una de las características más remarcables de la EP es la pérdida de un nicho celular específico: las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra. Tanto es así, que la disfunción y degeneración de las neuronas nigroestriatales se correlaciona con la evolución del cuadro clínico de los pacientes afectados de EP (8,37).

Como se ha visto en este trabajo, los astrocitos participan activamente en la evolución de la EP. Ante esto, ¿es posible que exista algún tipo de relación entre el área anatómica dañada en esta enfermedad y los astrocitos de dicha región?

Para responder a esta cuestión, es importante observar la ratio glía/neurona existente en las diferentes localizaciones cerebrales. Se ha visto que en el sistema dopaminérgico nigroestriatal esta ratio es el más bajo de todo el cerebro y es quizás este hecho una de las posibles causas de que la disfunción neuronal sea más crítica ahí que en otras partes del cerebro (48).

Profundizando aún más, se ha podido observar que no todas las neuronas dopaminérgicas se ven igualmente afectadas en la EP. Las neuronas de la sustancia negra, son mucho más susceptibles que las neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral, o en el hipotálamo. En un ensayo experimental en el que se administró toxinas a todas las neuronas dopaminérgicas se observó que la degeneración tenía preferencia por las neuronas nigroestriatales (49). Este hecho sugiere que, además de la preferencia de las neuronas dopaminérgicas, la selección se reduce aún más en función de la región anatómica específica en la que se encuentre este sistema dopaminérgico (37).

Si nos preguntamos acerca de cuál podría ser la causa de esta preferencia anatómica, se ha observado que los astrocitos de ambas zonas presentan diferencias en la transcripción genética. Una de estas diferencias es que los astrocitos situados en el área tegmental ventral, a diferencia de los de la sustancia negra, liberan factores con funciones neuroprotectoras sobre las neuronas dopaminérgicas y las células madre pluripotentes (37). Otro factor que podría explicar la vulnerabilidad selectiva se trata del gen parkin puesto que su mutación afecta en mayor medida a la disfunción glial de

la sustancia negra (48). No obstante, no están esclarecidos aún los mecanismos involucrados en estos acontecimientos (37).

5.4. MODELOS EXPERIMENTALES DE EP BASADOS EN LA TECNOLOGÍA iPSC PARA ESTUDIAR LA CONTRIBUCIÓN DE LOS ASTROCITOS

Este trabajo se ha propuesto actualizar el conocimiento actual del papel de los astrocitos en la EP. La inexistencia de terapias curativas para esta enfermedad hace crucial la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas, como los astrocitos, que puedan ralentizar o revertir el proceso neurodegenerativo (47).

En la actualidad, con la llegada de tecnología de células madre pluripotentes inducidas (iPSC), existe la posibilidad de reprogramar células somáticas humanas haciendo que se tornen pluripotenciales y posteriormente derivarlas hacia tipos celulares específicos. De hecho, hay estudios en que se ha utilizado esta tecnología para obtener los diferentes tipos celulares que existen en el SNC, sobre todo neuronas. Son menos los que, en relación con la EP, se focalizan en astrocitos humanos derivados de iPSC (47).

Con estas técnicas, se ha visto que los astrocitos humanos presentan grandes diferencias en comparación con astrocitos de roedores, siendo los humanos mucho más grandes y complejos. Además, su diferenciación al fenotipo gliogénico a partir de iPSC requiere mucho más tiempo. Sin embargo, se han optimizado los tiempos *in vitro* para, en 3 meses, conseguir astrocitos humanos maduros a partir de iPSC.

Mediante esta técnica se ha estudiado la contribución de los astrocitos en la patogenia de la EP. A modo de ejemplo, se ha observado que los astrocitos generados a partir de pacientes portadores de la mutación LRRK2-G2019S, exhibían vías disfuncionales de degradación proteica, las cuales conducían a una acumulación progresiva de α -syn en los astrocitos con mutaciones. Además, activando la vía autofágica mediada por chaperonas, se restauró la actividad normal de α -syn, aunque de manera incompleta, dando a entender que los astrocitos no son los únicos responsables de la neurodegeneración (47,50).

Lo más relevante de los estudios con iPSC, a pesar de la elevada complejidad del cerebro y del estudio del mismo, es que en la actualidad es posible recrear unas

condiciones similares a las existentes en la EP, y así poder estudiar y comprender mejor el conjunto de genes que otorgan funciones neuroprotectoras a los astrocitos y cómo se ven afectados durante la enfermedad; estudiar portadores de mutaciones sintomáticos y asintomáticos; y posibles biomarcadores presentes en pacientes presintomáticos. De esta manera, podremos ser capaces de desarrollar nuevas terapias curativas para los pacientes con EP y abrir nuevos horizontes diagnósticos abordando tratamientos individualizados en pacientes presintomáticos (47).

5.5. ESTRATEGIA TERAPÉUTICA PARA LA ENF DE PARKINSON: EFECTO NEUROPROTECTORES DE LOS ASTROCITOS

Habiendo analizado en el presente trabajo las acciones de los astrocitos en el inicio y la progresión de la EP, una alternativa terapéutica que podría emplearse sería la administración a los pacientes de factores neurotróficos como GDNF (35). Puesto que en condiciones no patológicas, los astrocitos son los encargados de secretarlos, su potenciación sería deseable. Estos factores neurotróficos presentan efectos neuroprotectores y se unen a receptores situados en neuronas dopaminérgicas con la finalidad de garantizar un buen desarrollo, una correcta diferenciación y la supervivencia neuronal. Se ha observado que los agonistas dopaminérgicos pramipexol y ropinirol regulan positivamente la secreción de factores neurotróficos, como el GDNF y BDNF, y atenúan la neurodegeneración dopaminérgica. Además, se ha visto también que la sobreexpresión de CDNF en astrocitos disminuye el daño celular y la secreción de citocinas inflamatorias inducidas por el estrés de retículo endoplásmico. Otros factores, como el CDNF y MANF, también están implicados en la mejora del comportamiento locomotor neuronal. Se ha observado que estas proteínas antagonizan la secreción de factores proinflamatorios como la IL -1 y el factor de necrosis tumoral (TNF). Por todo ello, podemos pensar que estos abordajes terapéuticos podrían ser muy prometedores (35).

Se han observado efectos preventivos sobre la muerte de neuronas dopaminérgicas en animales con tratamientos como dexametasona, ibuprofeno, amantadina, minociclina, pituitaria péptido activador de adenilato ciclasa, péptido vasoactivo intestinal, IL-10 y factor de crecimiento tumoral β (TGF- β) (5). Sin embargo, los efectos de estos fármacos en pacientes con EP son contradictorios. Por un lado, se ha visto en un

metanálisis que solo el ibuprofeno parece tener un modesto efecto protector (51). Y, por otro lado, a su favor, otro metanálisis concluyó que los AINE, excepto la aspirina, pueden tener un efecto protector sobre el riesgo de EP (52). En otro estudio randomizado, se vio que la Minociclina, con un efecto neuroprotector, no tuvo éxito en alterar el curso de la EP (5,53,54).

Como bien sabemos, las terapias de reemplazo dopaminérgico mediante L-Dopa son útiles para mejorar la disfunción dopaminérgica. Sin embargo, a largo plazo originan importantes efectos secundarios, los síntomas no motores no responden y no ralentizan la progresión de la enfermedad. El hecho de que los síntomas no motores no respondan indica que estos no se deben simplemente a la pérdida de neuronas dopaminérgicas y se ha sugerido que quizá los daños estén mediados por cambios inflamatorios (44).

En relación al péptido 1 similar al glucagón (GLP-1), se sabe que es una hormona incretina que modula la homeostasis de la glucosa y facilita la señalización de la insulina. Se ha observado que la diabetes tipo 2 es un factor de riesgo asociado a la aparición de EP y se sugiere que existe una superposición entre los cambios metabólicos e inflamatorios en ambas patologías.

En varios estudios se ha analizado el efecto de los agonistas del receptor para GLP-1, observándose que podrían retardar la progresión de la EP, mejorar la función motora y reducir los síntomas depresivos en pacientes con EP. En un estudio realizado con otro agonista, NLY01, se ha observado su función protectora contra la pérdida de neuronas dopaminérgicas gracias a la inhibición de la conversión astrocitaria, mediada por microglía, al fenotipo neurotóxico A1 (55).

Tras estos estudios se puede concluir que los resultados de reducción de activación microglial y astrocitaria tras el empleo de agonistas del receptor de GLP-1, pueden explicar las mejoras sintomáticas en pacientes tratados.

El conjunto de estos estudios va arrojando luz acerca de los mecanismos subyacentes a esta patología y su tratamiento. En resumidas cuentas, todo este trabajo es muy esperanzador de cara al desarrollo de futuras terapias para la EP (44).

6. CONCLUSIONES

1. Los astrocitos a diferencia de lo que se pensaba hace unos años, presentan un papel activo en la patogenia de la EP.
2. La participación de los astrocitos en enfermedades neurodegenerativas como la EP, es consecuencia de la pérdida de las funciones protectoras y la ganancia de las funciones tóxicas.
3. Los modelos experimentales de la EP basados en la tecnología iPSC, permiten recrear unas condiciones similares a las existentes en esta enfermedad, lo cual contribuye a un mejor estudio y comprensión de la influencia, tanto beneficiosa, como detrimental, que tienen los astrocitos en la EP. Además de abrir la puerta al desarrollo de nuevos recursos diagnósticos y terapias individualizadas.
4. El empleo de los factores neuroprotectores liberados por los astrocitos y la potenciación de los mismos, podría suponer un cambio terapéutico para enfermedades neurodegenerativas como la EP muy prometedor.
5. Reflexión-comentario personal: Respecto a mi aprendizaje personal, me parece relevante comentar que el tema de este trabajo me ha resultado más complejo de lo que imaginé a la hora de elegirlo. Considero que el papel de la glía y, en concreto, el de los astrocitos en la EP es muy amplio y aún queda mucho camino por recorrer para poder alcanzar una completa comprensión de los mecanismos que abarcan estas células.

Para mí, el proceso de realización de este trabajo ha sido intrincado por varios motivos. Al ser un tema denso, ha sido complicada la selección y estructuración de la información. Partía de un conocimiento neurofisiológico básico, por lo que he necesitado realizar muchas lecturas para comprender la materia, llegando incluso a terminar de entender algunos conceptos durante la misma redacción del texto. Por último, el hecho de que muchos mecanismos de acción sean inciertos y de la ausencia de una relación causa-efecto monofactorial entre los astrocitos y el desarrollo de EP, han sumado un extra de complejidad a los motivos previamente expuestos. En suma, el análisis de cada uno de los procesos e interacciones aquí plasmadas ha supuesto un reto para mí. La realización de este trabajo ha supuesto la ampliación de mis conocimientos sobre neurofisiología y neurofisiopatología. Asimismo, el hecho de haber realizado un trabajo bibliográfico me ha permitido

adentrarme un poco más en el mundo de la investigación y me ha ayudado, de cara al futuro, a saber buscar y seleccionar, la mejor y más actualizada, evidencia científica.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS) [Internet]: Bethesda, MD [consulta marzo 2021]. Parkinson's Disease Information Page. What research is being done? Disponible en: <https://www.ninds.nih.gov/disorders/all-disorders/parkinsons-disease-information-page>
2. Sveinbjornsdottir S. The clinical symptoms of Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2016;139:318-24.
3. Booth HDE, Hirst WD, Wade-Martins R. The role of astrocyte dysfunction in Parkinson's disease pathogenesis. *Trends Neurosci.* 2017;40(6):358-70.
4. Hernandez DG, Reed X, Singleton AB. Genetics in Parkinson disease: Mendelian versus non-Mendelian inheritance. *J Neurochem.* 2016;139:59-74.
5. Kwon HS, Koh SH. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes. *Transl Neurodegener.* 2020;9(1):42.
6. Antony PMA, Diederich NJ, Krüger R, Balling R. The hallmarks of Parkinson's disease. *FEBS J.* 2013;280(23):5981-93.
7. Langston JW, Ballard PA. Parkinson's disease in a chemist working with 1-methyl-4-phenyl-L,2,5,6-tetrahydropyridine. *N Engl J Med.* 1983;309(5):310.
8. Di Domenico A, Carola G, Calatayud C, Pons-Espinal M, Muñoz JP, Richaud-Patin Y, et al. Patient-specific iPSC-derived astrocytes contribute to non-cell-autonomous neurodegeneration in Parkinson's disease. *Stem Cell Rep.* 2019;12(2):213-29.
9. Filippini A, Gennarelli M, Russo I. α -synuclein and glia in Parkinson's disease: a beneficial or a detrimental duet for the endo-lysosomal system? *Cell Mol Neurobiol.* 2019;39(2):161-8.

10. Ramos-González, P. Unraveling the role of astrocytes in the onset and spread of Parkinson's disease: important contributors to neurodegeneration [tesis]. Universidad del País Vasco (UPV-EHU); 2020.
11. Radhakrishnan D, Goyal V. Parkinson's disease: a review. *Neurol India*. 2018;66(7):26.
12. Bauer R, Martin E, Haegele-Link S, Kaegi G, von Specht M, Werner B. Noninvasive functional neurosurgery using transcranial MR imaging-guided focused ultrasound. *Parkinsonism Relat D*. 2014;20:S197-9.
13. Smith GA, Jansson J, Rocha EM, Osborn T, Hallett PJ, Isacson O. Fibroblast biomarkers of sporadic Parkinson's disease and LRRK2 kinase inhibition. *Mol Neurobiol*. 2016;53(8):5161-77.
14. Frigerio R, Fujishiro H, Ahn TB, Josephs KA, Maraganore DM, DelleDonne A, et al. Incidental Lewy body disease: Do some cases represent a preclinical stage of dementia with Lewy bodies? *Neurobiol Aging*. 2011;32(5):857-63.
15. Parkkinen L, Kauppinen T, Pirttilä T, Autere JM, Alafuzoff I. α -Synuclein pathology does not predict extrapyramidal symptoms or dementia. *Ann Neurol*. 2005;57(1):82-91.
16. Colosimo C. Lewy body cortical involvement may not always predict dementia in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Ps*. 2003;74(7):852-6.
17. Parkkinen L, Pirttilä T, Alafuzoff I. Applicability of current staging/categorization of α -synuclein pathology and their clinical relevance. *Acta Neuropathol*. 2008;115(4):399-407.
18. Braak H, Rüb, U, Gai, WP, Del Tredici, K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm*. 2003;110(5):517-36.
19. Bloch A, Probst A, Bissig H, Adams H, Tolnay M. alpha-Synuclein pathology of the spinal and peripheral autonomic nervous system in neurologically unimpaired elderly subjects. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2006;32(3):284-95.

20. Dickson DW, Ahmed Z, Algom AA, Tsuboi Y, Josephs KA. Neuropathology of variants of progressive supranuclear palsy. *Curr Opin Neurol*. 2010;23(4):394-400.
21. Halliday G, McCann H, Shepherd C. Evaluation of the Braak hypothesis: how far can it explain the pathogenesis of Parkinson's disease? *Expert Rev Neurother*. 2012;12(6):673-86.
22. Holmqvist S, Chutna O, Bousset L, Aldrin-Kirk P, Li W, Björklund T, et al. Direct evidence of Parkinson pathology spread from the gastrointestinal tract to the brain in rats. *Acta Neuropathol*. 2014;128(6):805-20.
23. Verkhratsky A, Butt A. *Glial Neurobiology. A text book*. Chichester, England: John Wiley & Sons, 2007.
24. Joe EH, Choi DJ, An J, Eun JH, Jou I, Park S. Astrocytes, microglia, and Parkinson's disease. *Exp Neurobiol*. 2018;27(2):77-87.
25. Charron G, Doudnikoff E, Canron MH, Li Q, Vega C, Marais S, et al. Astrocytosis in parkinsonism: considering tripartite striatal synapses in physiopathology? *Front Aging Neurosci*. 2014;24(6):258.
26. Vainchtein ID, Molofsky AV. Astrocytes and microglia: in sickness and in health. *Trends Neurosci*. 2020;43(3):144-54.
27. Halliday GM, Stevens CH. Glia: initiators and progressors of pathology in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2011;26(1):6-17.
28. Gebreyesus H, Gebrehiwot TG. The potential role of astrocytes in Parkinson's disease (PD). *Med Sci (Basel)*. 2020;8(1):7.
29. Hinson SR, Roemer SF, Lucchinetti CF, Fryer JP, Kryzer TJ, Chamberlain JL, et al. Aquaporin-4-binding autoantibodies in patients with neuromyelitis optica impair glutamate transport by down-regulating EAAT2. *J Exp Med*. 2008;205(11):2473-81.
30. Obara M, Szeliga M, Albrecht J. Regulation of pH in the mammalian central nervous system under normal and pathological conditions: Facts and hypotheses. *Neurochem Int*. 2008;52(6):905-19.
31. De Pittà M, Brunel N, Volterra A. Astrocytes: orchestrating synaptic plasticity? *Neuroscience*. 2016;323:43-61.

32. Bonvento G, Sibson N, Pellerin L. Does glutamate image your thoughts? *Trends Neurosci.* 2002;25(7):359-64.
33. Ermakova IV, Loseva EV, Hodges H, Sinden J. Transplantation of cultured astrocytes attenuates degenerative changes in rats with kainic acid-induced brain damage. *Bull Exp Biol Med.* 2005;140(6):677-81.
34. Myer DJ. Essential protective roles of reactive astrocytes in traumatic brain injury. *Brain.* 2006;129(10):2761-72.
35. Miyazaki I, Asanuma M. Neuron-astrocyte interactions in Parkinson's disease. *Cells.* 2020;9(12):2623.
36. Pelassa S, Guidolin D, Venturini A, Averna M, Frumento G, Campanini L, et al. A2A-D2 heteromers on striatal astrocytes: biochemical and biophysical evidence. *Int J Mol Sci.* 2019;20(10):2457.
37. Cragolini A, Lampitella G, Virtuoso A, Viscovo I, Panetsos F, Papa M, et al. Regional brain susceptibility to neurodegeneration: what is the role of glial cells? *Neural Regen Res.* 2020;15(5):838.
38. Rannikko EH, Weber SS, Kahle PJ. Exogenous α -synuclein induces toll-like receptor 4 dependent inflammatory responses in astrocytes. *BMC Neurosci.* 2015;16(1):57.
39. Lee H-J, Suk JE, Patrick C, Bae E-J, Cho JH, Rho S, et al. Direct Transfer of α -synuclein from neuron to astroglia causes inflammatory responses in synucleinopathies*. *J Biol Chem.* 2010;285(12):9262-72.
40. Fellner L, Irschick R, Schanda K, Reindl M, Klimaschewski L, Poewe W, et al. Toll-like receptor 4 is required for α -synuclein dependent activation of microglia and astroglia. *Glia.* 2013;61(3):349-60.
41. Cavaliere F, Cerf L, Dehay B, Ramos-Gonzalez P, De Giorgi F, Bourdenx M, et al. In vitro α -synuclein neurotoxicity and spreading among neurons and astrocytes using Lewy body extracts from Parkinson disease brains. *Neurobiol Dis.* 2017;103:101-12.

42. Klegeris A, Giasson BI, Zhang H, Maguire J, Pelech S, McGeer PL. Alpha-synuclein and its disease-causing mutants induce ICAM-1 and IL-6 in human astrocytes and astrocytoma cells. *FASEB J.* 2006;20(12):2000-8.
43. Kam TI, Hinkle JT, Dawson TM, Dawson VL. Microglia and astrocyte dysfunction in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2020;144:105028.
44. Brundin L, Bergkvist L, Brundin P. Fire prevention in the Parkinson's disease brain. *Nat Med.* 2018;24(7):900-2.
45. Niranjan R. The role of inflammatory and oxidative stress mechanisms in the pathogenesis of Parkinson's disease: focus on astrocytes. *Mol Neurobiol.* 2014;49(1):28-38.
46. Zeng Z, Roussakis AA, Lao-Kaim NP, Piccini P. Astrocytes in Parkinson's disease: from preclinical assays to in vivo imaging and therapeutic probes. *Neurobiol Aging.* 2020;95:264-70.
47. Pons-Espinal M, Blasco-Agell L, Consiglio A. Dissecting the non-neuronal cell contribution to Parkinson's disease pathogenesis using induced pluripotent stem cells. *Cell Mol Life Sci.* 2021;78(5):2081-94.
48. Phatnani H, Maniatis T. Astrocytes in neurodegenerative disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015;7(6):a020628.
49. Dawson TM, Mandir AS, Lee MK. Animal Models of PD. *Neuron.* 2002;35(2):219-22.
50. Du F, Yu Q, Chen A, Chen D, Yan SS. Astrocytes attenuate mitochondrial dysfunctions in human dopaminergic neurons derived from iPSC. *Stem Cell Rep.* 2018;10(2):366-74.
51. Samii A, Etminan M, Wiens MO, Jafari S. NSAID use and the risk of Parkinson's disease: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Drugs Aging.* 2009;26(9):769-79.
52. Gagne JJ, Power MC. Anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson disease: A meta-analysis. *Neurology.* 2010;74(12):995-1002.

53. NINDS NET-PD Investigators. A randomized, double-blind, futility clinical trial of creatine and minocycline in early Parkinson disease. *Neurology*. 2006;66:664-71.
54. NINDS NET-PD Investigators. A pilot clinical trial of creatine and minocycline in early Parkinson disease: 18-month results. *Clin Neuropharmacol*. 2008;31:141–50.
55. Yun SP, Kam TI, Panicker N, Kim S, Oh Y, Park J-S, et al. Block of A1 astrocyte conversion by microglia is neuroprotective in models of Parkinson's disease. *Nat Med*. 2018;24(7):931-8.