

Enfermedad de Parkinson.

*M^a Trinidad Herrero Ezquerro**

Académica de Número de la R. Acad. Med. y Círg. de Murcia

Catedrática de Anatomía Humana

Neurociencia Clínica y Experimental (NiCE-CIBERNED)

Facultad de Medicina. Universidad de Murcia

RESUMEN

La enfermedad de Parkinson es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta, entre otros sistemas de neurotransmisores, a la proyección nigroestriatal dopaminérgica. El tratamiento paliativo con levodopa y/o agonistas dopaminérgicos mejora la sintomatología motora pero los pacientes continúan empeorando clínicamente tanto por el proceso neurodegenerativo que continúa actuando como el factor añadido del envejecimiento fisiológico. Estudios (*in vitro* e *in vivo*) en modelos experimentales han demostrado que los agonistas dopaminérgicos tienen efectos neuroprotectores mediados directa o indirectamente por su capacidad de estabilización mitocondrial, sus efectos antioxidantes, la síntesis de factores de crecimiento, la estabilización del sistema ubiquitin-proteasoma, la activación de la autofagia, la inducción antiapoptótica de la familia Bcl2 o la potenciación de neurogénesis (proliferación y migración) en la Zona Sub-Ventricular (SVZ). Los estudios clínicos no han confirmado completamente estos efectos y son necesarios análisis en grupos de pacientes mejor clasificados con similar sintomatología clínica, idénticos tratamientos y mismo tiempo de evolución. Los avances tecnológicos que permitan conocer la etiología y la patogénesis de la enfermedad (genética y ambiental) junto a métodos de evaluación clínica más fidedignos abren puertas de esperanza para desarrollar nuevas moléculas en el tratamiento sintomático de la enfermedad de Parkinson. Estas moléculas deberán exhibir potencial neuroprotector (profiláctico y/o terapéutico) capaz de mantener la función fisiológica cerebral, y de modificar/ ralentizar el curso natural de la enfermedad.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva incurable que afecta al 1% de la población mayor de 60 años y en la que la edad es un factor de riesgo (Hindle, 2010). En la última década se ha abandonado el carácter reduccionista de las causas de la EP con afectación específica del sistema dopaminérgico y se ha establecido un nuevo concepto de la progresión de la enfermedad (estereotipada y temporoespacial en sentido ascendente) por el que: i) la disfunción clínica es paralela a los depósitos intracelulares de α -sinucleína en el sistema nervioso, y ii) las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas de la Sustancia Negra *pars compacta* (SNpc) no serían las primeras afectadas, si no que previamente se afectarían otros sistemas de neurotransmisores (Braak y cols, 2003). Aunque su(s) causa(s) última(s) permanece(n) desconocida(s), en los últimos cuarenta años merced a estudios en modelos experimentales, centrados esencialmente en el sistema dopaminérgico, y a análisis moleculares y genéticos se ha recabado abundante conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad y de algunos aspectos de su etiopatogenia. Los mecanismos de la muerte neuronal en la EP incluyen necrosis, apoptosis (Graeber y Moran, 2002) y el efecto reverberante de procesos inflamatorios (Hirsch y Hunot, 2009; Tansey y Goldberg, 2010). Respecto a las causas de la muerte neuronal dopaminérgica, existen diversas teorías desde la alteración de la función mitocondrial, el aumento del estrés oxidativo (y falta de enzimas detoxificantes), la excitotoxicidad descontrolada, la agregación anormal de proteínas, o la incapacidad de mecanismos de autofagia (Bandopadhyay y de Bellerocche, 2009). Todo este conocimiento ha permitido diseñar potenciales estrategias de intervención (celulares, moleculares, inmunológicas o genéticas) para combatir la EP con efectos no solo paliativos sino también neuroprotectores que intervengan sobre los procesos deletéreos dirigidos a modificar el curso de la progresión de la enfermedad y evitando efectos secundarios indeseables. No obstante, la naturaleza multifactorial de la EP, con gran variedad de causas y de mecanismos de muerte neuronal, explican la dificultad de establecer estrategias terapéuticas que tengan efectos clínicos significativos. En la actualidad se están desarrollando nuevas moléculas pluripotenciales cuyo diseño se dirija simultáneamente a diferentes dianas candidatas en la EP para que su efecto en diferentes vías biológicas pueda evidenciarse clínicamente. En este capítulo vamos a señalar aquellos resultados que se refieren al efecto neuroprotector de los agonistas dopaminérgicos. Sin embargo, hay que adelantar que para poder aplicar los hallazgos experimentales en la clínica en humanos son precisos: i) mejores modelos de la enfermedad; y ii) biomarcadores (de la enfermedad y de su progresión) más eficaces que los que disponemos en el momento actual (Postuma et al, 2010).

Aunque Santiago Ramón y Cajal definió la posibilidad neurotrófica a fines del siglo XIX, el concepto de neuroprotección comenzó su explosión en los años 50 con el descubrimiento de una neurotrofina, el factor de crecimiento neuronal (NGF), por Rita Levi-Montalcini y Stanley Cohen (en el laboratorio de Viktor Hamburger) sobre las raíces ganglionares dorsales del pollo, y por el que obtuvieron el premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1986 (ver revisión Levi-Montalcini, 1987). Existen múltiples definiciones de neuroprotección dependiendo del concepto básico que se utilice. En sentido amplio, entendemos por neuroprotección, la estrategia terapéutica que intenta detener la progresión de la muerte neuronal manteniendo/restaurando la función fisiológica, y por tanto, la progresión clínica de una enfermedad neurodegenerativa. Sin embargo, en sentido estricto el objetivo de cualquier estrategia neuroprotectora sería actuar previamente a la muerte neuronal, actuar en los mecanismos etiopatogénicos responsables de la aparición de síntomas clínicos, y a ser posible antes de que se manifieste la enfermedad, es decir, en etapas prodrómicas (Hawkes, 2008), y

para ello, deberíamos disponer de métodos diagnósticos precoces. Así, distinguimos: i) neuroprotección profiláctica-preventiva o primaria, que previene la pérdida de función neuronal antes de que ocurra: para ello es esencial identificar los factores de riesgo como causas genéticas y/o ambientales; y ii) neuroprotección terapéutica o secundaria, que pretende mantener o mejorar la función de las neuronas remanentes una vez han comenzado los cambios compensadores. Como el inicio de los signos clínicos en la EP se manifiesta tiempo después del inicio de la enfermedad (cuando han desaparecido el 70% neuronas dopaminérgicas de la SNpc), las terapias neuroprotectoras deben dirigirse bien a proteger y/o preservar a las neuronas remanentes bien a compensar los mecanismos fisiopatológicos secundarios al proceso de muerte neuronal en orden a detener o ralentizar la progresión de la enfermedad (Schapira y Olanow, 2004). Las estrategias neuroprotectoras en la EP son de gran relevancia ya que se trata de una enfermedad neurodegenerativa progresiva con un ritmo evolutivo relativamente lento y para la que se disponen terapias sintomáticas aceptables en los primeros estadios. Así, delimitar fármacos con potencial protector que ralenticen el ritmo de degeneración neuronal se vislumbra como uno de los objetivos más deseados con el fin de mejorar la calidad de vida de los pacientes durante más años. En la actualidad, como desconocemos las causas últimas de la EP, las posibles estrategias neuroprotectoras no son completas y a nivel experimental solo se ha conseguido enlentecer y retrasar “parcialmente” el curso de la enfermedad. Además, como cuando se realiza el diagnóstico clínico, las neuronas remanentes están afectadas y su función comprometida (aunque algunas lo estén de forma no irreversible), una de las estrategias actuales radica en “rescatar” a dichas células y conseguir restaurar su función. Este es el concepto de neurorescate. De igual modo, la neurorestauración, en la línea del neurorescate, pretende tanto aumentar el número de neuronas como permitir una excelente mejora de las remanentes. Entre las terapias neurorestauradoras en la EP se desarrollaron ensayos de terapia celular con células madres o trasplantes que están siendo criticados (Olanow y cols, 2010) por sus resultados insatisfactorios ya que provocan discinesias en ausencia de medicación (Olanow y cols, 2003), y existen depósitos de α -sinucleína y cuerpos de Lewy en las células implantadas en estudios *postmortem* (Chu y Kordower, 2010). Asimismo, la aplicación intracerebral de factores de crecimiento con infusiones intracerebrales (Rasmawamy y cols, 2009) o con aplicación de terapia génica (Bjorklund y Kordower, 2010) son terapias neurorestauradoras. Aunque el horizonte de estas terapias parece esperanzador, están siendo abandonadas por falta de resultados y por su morbilidad en humanos. Indudablemente, antes de trasladar a la clínica humana cualquier iniciativa debe ser comprobada en estudios experimentales.

Sin embargo, y aunque algunos agentes ensayados condujeron a un entusiasmo inicial por su potencial terapéutico neuroprotector en modelos experimentales de EP que detenían o enlentecían la secuencia de acontecimientos moleculares y/o bioquímicos que conducían a la muerte neuronal, muchos de ellos fracasaron en ensayos clínicos (Löhle y Reichmann, 2010). Como las causas y factores de riesgo de la EP son diversos, coinciden en mismo individuo y actúan de forma sinérgica potenciándose a modo de fichas de dominó, se entiende que para conseguir un efecto clínico positivo valorable con los métodos que disponemos en la actualidad, una estrategia neuroprotectora debe actuar, de forma multifactorial, sobre varias de dichas causas ya que si solo actúa sobre una de las causas se corre el riesgo de no poder conseguir el efecto deseado, o que si se consigue este sea de un calibre muy débil que no alcance el umbral detectable de mejoría clínica. Desde el punto de vista de la investigación clínica, para evaluar la eficacia de una molécula o un fármaco (que agrupe dos o más moléculas) es esencial disponer de sistemas de medida fidedignos de la evolución clínica de la EP con el fin de analizar si existe modificación del curso de la enfermedad. En este sentido, las

nuevas estrategias con el método de inicio retardado del tratamiento están brindando resultados esperanzadores con algunas moléculas en la clínica humana (Olanow y cols, 2009). Además, hay que ser conscientes de que se pueden emplear estrategias neuroprotectoras inespecíficas que actúen sobre otros mecanismos secundarios que se han visto afectados en el proceso patológico pero que son independientes de la causa última de la EP. Así, en los últimos años se han propuesto nuevos paradigmas de análisis preclínicos en modelos animales (en primates no humanos) y en clínica humana con el fin de evaluar la acción de nuevas moléculas que actúan sobre vías no específicas de la muerte neuronal dopaminérgica que están alteradas en la EP. Entre estas moléculas son de especial relevancia aquellas que se utilizan como tratamiento sintomático de la EP, los agonistas dopaminérgicos. Sin embargo, se ha de tener en cuenta que en la historia del paciente el empeoramiento clínico puede no corresponderse solo con los cambios observados a nivel neuroquímico, molecular o celular relacionados con el sistema dopaminérgico, si no, además, con la edad al comienzo de los síntomas, la evolución de la EP, y el grado y tipo de patología cerebral tipo Alzheimer (en el análisis *postmortem*) (Halliday y McCann, 2010). Por ello, la esperanza en el papel neuroprotector de los agonistas dopaminérgicos radica en su efecto en otras células y en otros sistemas diferentes de los receptores dopaminérgicos.

Aunque algunos mecanismos de neuroprotección son comunes a otras enfermedades neurodegenerativas, existen mecanismos específicos de neuroprotección y/o neurorescate en la EP, como las vías de muerte neuronal dopaminérgica que han sido ensayadas como diana terapéutica (Sulzer, 2007). Además, en los últimos doce años merced al descubrimiento de 500 variantes de DNA en solo 5 de los genes más frecuentes asociados con la EP familiar (y que incluyen un 82% de mutaciones y un 18% de variaciones) (Nuytemans y cols, 2010) ha aumentado el interés genético de la EP. Aunque la incidencia familiar es mínima respecto a la EP idiopática o esporádica (90/10), el descubrimientos de 16 loci ha permitido desarrollar modelos genéticos de la EP en roedores y moscas (Dawson y cols, 2010) y estudiar en el laboratorio la acción de los genes mutados contribuyendo a conocer los mecanismos moleculares y la patogénesis de la enfermedad (Westerlund y cols, 2010). Las funciones en las que están implicadas son variadas (Tabla 1): en la transmisión sináptica y en el depósito de proteínas mal conformadas (Park1/4- α -sinucleína), en el proteasoma (Park2-Parkina y Park5-UCHL1) alteración de la función mitocondrial (Park6-Pink1), en vías de detoxificación o en protección contra el estrés oxidativo (Park7-DJ1) o en o en las funciones de los lisosomas o en las bombas iónicas (ATP13A2 - Park9). Sin embargo, llama la atención que ninguna de las proteínas implicadas son específicas del sistema dopaminérgico sino que tienen una distribución ubicua. Quizá, el hecho que las neuronas dopaminérgicas tengan otras características añadidas y soporten mas difícilmente el estrés unidas a esta alteraciones contribuye a que alcancen el umbral de la vulnerabilidad. En las neuronas dopaminérgicas entre otros diferentes procesos hay que destacar: i) la alteración de la cadena respiratoria mitocondrial, ii) el aumento del estrés oxidativo; iii) la actividad MAO-B; iv) la hiperactivación glutamatérgica y de los canales dependientes de calcio; v); la conformación y plegamiento anormal de proteínas; vi) la disfunción del sistema de autofagia; vii) la alteración funcional del proteasoma; viii) la agregación excesiva de proteínas y los efectos tóxicos del desequilibrio de kinasas; ix) la activación de la cascada de caspasas en la apoptosis; x) los procesos inflamatorios con activación perpetua y deletérea de microglía, la producción de citocinas y la activación neuroinmunológica; y xi) la deficiente acción neurotrófica (Figura 1A). Ante todas estas posibles dianas, el desarrollo de nuevas moléculas que puedan actuar en varias de ellas simultáneamente sigue siendo el objetivo más buscado (Cavalli y cols, 2008) (Figura 1B).

i) La alteración de la cadena respiratoria mitocondrial y el aumento de energía. En pacientes con EP se descubrió alteración del Complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial donde además actúan distintas neurotoxinas (MPTP y rotenona) que provocan parkinsonismo. También una mutación asociada con parkinsonismo juvenil está asociada a disfunción mitocondrial (PINK1) (Vives-Bauza y cols, 2009). El Coenzima Q10 (o ubiquinona) es un cofactor esencial como aceptor de electrones en la cadena respiratoria además de un potente antioxidante que disminuye la peroxidación lipídica y el daño oxidativo al DNA en el parkinsonismo experimental (Yang y cols, 2009). Asimismo, la creatina, un precursor que transfiere grupos fosforil para producir energía en forma de TAP (a través del intermediario fosfocreatina) y la creatina quinasa que inhibe la apertura del poro de transición mitocondrial están siendo ensayados como neuroprotectores (Beal, 2009). En relación a la activación de la apoptosis, la minociclina (que inhibe también la activación de microglia) actúa sobre la caspasa I (Kim y Shu, 2009).

ii) En la enfermedad de Parkinson el estrés oxidativo y la producción de especies reactivas de oxígeno son de las vías patogénicas mejor estudiadas. Estas vías patogénicas interfieren con la función mitocondrial (Bisaglia y cols, 2010). El efecto de antioxidantes como quelantes de metales pesados (hierro o manganeso) secuestran o disminuyen las concentraciones de radicales libres e incluso protege contra la inhibición del proteasoma (Zhu y cols, 2010). Recientemente, se ha diseñado un agonista dopaminérgico D2/D3 con capacidad quelante de hierro y actividad antioxidante (Gosh y cols, 2010).

iii) Los inhibidores de la Monoamino Oxidasa B (MAO-B) son una de las líneas de estudio más exitosas en la EP. Primero se ensayó con selegilina y más recientemente con rasagilina (Weinreb y cols, 2010). Además, de resultados positivos en estudios experimentales, se han definido resultados esperanzadores en humanos, y en la actualidad se están desarrollando nuevas moléculas con una actuación más ubicua actuando en varios aspectos de la neurodegeneración dopaminérgica (promoviendo la viabilidad mitocondrial, regulando la familia Bcl-2 y estabilizando el poro de transición mitocondrial).

iv) Diversos estudios experimentales han sugerido que la hiperactivación glutamatérgica confiere excitotoxicidad vía receptores NMDA y los canales de calcio, y las neuronas dopaminérgicas más vulnerables de la SNpc actúan como marcapasos con una actividad sostenida dependiente de voltaje de canales de calcio (Surmeier y cols, 2010; Pfeiffer, 2010). De hecho, la dependencia del este canal es mayor con el envejecimiento. Por ello, el tratamiento con isradipina que bloquea el canal de calcio mejora la supervivencia neuronal en modelos experimentales de EP. Estudios experimentales con riluzole (que bloquea la liberación presináptica de glutamato) han demostrado beneficios sin efectos secundarios pero no ha podido ser reproducido en humanos (Jankovic y Hunter, 2002).

v) El descubrimiento de que la agregación de α -sinucleína podía ser un mediador de toxicidad condujo a desarrollar posibles nuevas estrategias terapéuticas para reducir la producción de α -sinucleína incrementando los niveles de Hsp90 (Putchá y cols, 2010), para aumentar su aclaramiento a nivel de lisosomas (Quiao y cols, 2008), para prevenir las modificaciones químicas que conducen a interferir su agregación anormal (Amer y cols, 2006), o para conseguir la inmunización (Masliah y cols, 2005).

vi) La degradación de proteínas en las células eucariotas se realiza por dos sistemas: el proteasoma y por autofagia de los agregados por lisosomas. La autofagia es un proceso de auto-canibalismo en el que proteínas citoplasmáticas son secuestradas y degradadas en los lisosomas. Las chaperonas que median la autofagia (CMA) son responsables del aclaramiento de estas proteínas (Koga y Cuervo, 2010). La autofagia como la apoptosis están reguladas genéticamente y sus mecanismos y reguladores están interconectados porque las caspasas se relacionan con Beclina-1, inhibiendo su acción (Wong y Cuervo, 2010). El sistema de autofagia disminuye su eficacia con la edad, que unido a cambios en el contenido de lípidos intracelulares (en enfermedades metabólicas) e incluso la dopamina y las formas mutadas de α -sinucleína que inhiben el proceso proteolítico autofágico de los lisosomas, conducirían a la acumulación de intracelular de agregados proteicos y a vacuolas autofágicas que contienen material que no pueden digerir con la consiguiente disfunción y muerte celular, e inicio de síntomas (Cuervo y cols, 2010).

vi) La homeostasis neuronal precisa el equilibrio entre la síntesis y la degradación de proteínas. El sistema ubiquitin-proteasoma es el medio de aclarar y degradar proteínas siendo un sistema de protección celular contra las proteínas mal conformadas (Betarbet y cols, 2005). Ha cobrado importancia en la última década por la implicación de Park3 (ligasa E3) y Park 5 (ubiquitina carboxy hidrolase L1) como factores claves de presentación de las proteínas por poli-ubiquitinación en la función del proteasoma y sus consecuencias en la EP (Matsuda y Tanaka, 2010). Se ha llegado a definir “*molecular misreading*” por el que la disfunción del sistema ubiquitin proteasoma conduce a la acumulación/agregación de proteínas aberrantes y a la muerte neuronal por apoptosis (Snyder y Wolozin, 2004).

viii) La alteración de LRRK2 (dardarina) provoca la disfunción endocítica de autofagia celular (Alegre-Abarrategui y Wade-Martins, 2009) tanto por vías de protein kinasas, en el control de la traslación proteica como en la actividad de las dinámicas del citoesqueleto (Yue, 2009); por tanto los tratamientos de inhibidores de kinasas podrían evitar los efectos tóxicos de su disfunción.

ix) La muerte celular programada o apoptosis es esencial para mantener la homeostasis de los tejidos. Las primeras evidencias de apoptosis como mecanismo de muerte celular se enunciaron en la patogénesis del cáncer (Kerr y cols, 1972). Las características morfológicas y bioquímicas han sido atribuidas a la familia de proteínas cisteín-proteasas, las caspasas. En el proceso de apoptosis la mitocondria es esencial ya que la permeabilización de su membrana externa permite la liberación de proteínas pro-apoptóticas al citosol desde su espacio intermembrana (mediada por diferentes mecanismos dependientes o no dependientes de Ca^{2+}) (Orrenius y cols, 2007). La liberación de citocromo C (que previamente se desprende de su unión a la cardiolipina en la membrana interna) desencadenara la activación de la cadena de caspasas en un proceso irreversible (caspasa 9 y caspasa 3). La caspasa 2 ha sido implicada en el mecanismo desencadenado por alteración del DNA implicando al p53. El proceso es controlado por la familia Bcl-2 (anti apoptótica) y una vez iniciado puede ser revertido por factores de crecimiento (hasta la activación de caspasa 3: punto de no retorno) (Zhivotovsky y Orrenius, 2010). Las mutaciones del DNA mitocondrial pueden predisponer a la muerte neuronal por alterar la cadena respiratoria que comprometen la producción de energía celular, aumentan el estrés oxidativo y activan de forma irreversible la cadena de caspasas hacia la muerte neuronal en varias enfermedades neurodegenerativas (De Castro y cols, 2010).

x) Los procesos neuroinflamatorios han sido implicados en el proceso de neurodegeneración crónica y en concreto en la EP (Glass y cols, 2010) dónde se ha demostrado activación microglial en el estriado y en la SNpc de pacientes y en modelos animales experimentales (Tansey y Goldberg, 2010; Barcia y cols, 2004). Asimismo, los niveles de citocinas proinflamatorias están elevadas en el suero y en el líquido cefalorraquídeo de pacientes y animales parkinsonizados con aumento significativo de células que expresan las citocinas Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) e Interferon- γ (IFN- γ) (Hirsch y Hunot, 2009). Se ensayaron diferentes agentes antiinflamatorios (esteroideos y no esteroideos) que resultaron exitosos en modelos animales (Asanuma y Miyazaki, 2008), pero en la clínica el más prometedor en la actualidad es ibuprofeno con el que se están realizando estudios multicéntricos a largo plazo (Gagne y Power, 2010), pero que quizá sus efectos positivos no sean a través de la actividad ciclooxigenasa (Weggen y cols, 2001) sino como ligando del receptor gamma del activador del proliferador del peroxisoma nuclear [*nuclear peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR gamma)] (Tsuji y cols, 2009). El PPAR es un factor de transcripción inhibidor que antagoniza la actividad NF κ B y que inhibe la expresión de citocinas pro-inflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF-) (Jiang y cols, 1998).

xi) Los factores neurotróficos no solo protegen a las células del proceso de muerte neuronal si no que puede rescatarlas de la degeneración y ayudarlas a regenerar. Por el carácter progresivo de la EP, el papel de los factores neurotróficos sería importante y experimentalmente se han demostrado efectos positivos con el Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), el Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF), el Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), y la neurturina. El BDNF se expresa en la SNpc, y su receptor el TRkB tanto en la SNpc como en el estriado. El tratamiento con BDNF disminuye la muerte neuronal en monos parkinsonizados (Frim y cols, 1994) y otros tratamientos neuroprotectores, como con IMAOs o con ácidos grasos, aumentan la expresión de su RNAm (Bousquet y cols, 2009). BDNF y neurturina son de los factores neurotróficos más prometedores ya que están implicados en desarrollo y supervivencia de neuronas catecolaminérgicas, y su administración protege las neuronas dopaminérgicas (Choi-Lundberg y cols, 1997; Rosenbald y cols, 1999). Ha habido experiencias en humanos con terapia génica o con inyecciones intraventriculares pero se han de mejorar tanto las técnicas de administración como conocer los posibles efectos secundarios indeseables (Ramaswamy y Kordower, 2009).

BIBLIOGRAFIA

1. Alegre-Abarrategui J, Wade-Martins R. Parkinson disease, LRRK2 and the endocytic-autophagic pathway. *Autophagy*. 2009 ;5(8):1208-10.
2. Amer DA, Irvine GB, El-Agnaf OM. Inhibitors of alpha-synuclein oligomerization and toxicity: a future therapeutic strategy for Parkinson's disease and related disorders. *Exp Brain Res*. 2006;173(2):223-33.
3. Asanuma M, Miyazaki I. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental parkinsonian models and Parkinson's disease. *Curr Pharm Des*. 2008;14(14):1428-34.
4. Bandopadhyay R, De Bellerocche J. Pathogenesis of Parkinson's disease: emerging role of molecular chaperones. *Trends Mol Med*. 2009;16:27-36.
5. Barcia C, Fernández Villalba E, Sánchez-Bahillo A, Bautista V, Fernández Barreiro A, Hirsch EC, Herrero MT. Evidence of active microglia in Substantia Nigra pars compacta of parkinsonian monkeys exposure. *Glia*, 46: 402-409. 2004.
6. Beal MF. Therapeutic approaches to mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2009; 15 (Suppl 3): S189-94.
7. Betarbet R, Sherer TB, Greenamyre JT. Ubiquitin-proteasome system and Parkinson's diseases. *Exp Neurol*. 2005; 191 Suppl 1:S17-27.
8. Bisaglia M, Soriano ME, Arduini I, Mammi S, Bubacco L. Molecular characterization of dopamine-derived quinones reactivity toward NADH and glutathione: Implications for mitochondrial dysfunction in Parkinson disease. *Biochem Biophys Acta* 2010;1802(9):699-706.
9. Bjorklund T, Kordower JH. Gene therapy for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2010;25 (Suppl 1):S161-73.
10. Bousquet M, Gibrat C, Saint-Pierre M, Julien C, Calon F, Cicchetti F. Modulation of brain-derived neurotrophic factor as potential neuroprotective mechanism of action of omega-3 fatty acids in a parkinsonian animal model. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2009;33(8):1401-8.
11. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197-211.
12. Cavalli A, Bolognesi ML, Minarini A, Rosini M, Tumiatti V, Recanatini M, Melchiorre C. Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases. *J Med Chem*. 2008;51(22):7308-12.
13. Choi-Lundberg DL, Lin Q, Chang YN, Chiang YL, Hay CM, Mohajeri H, Davidson BL, Bohn MC. Dopaminergic neurons protected from degeneration by GDNF gene therapy. *Science*. 1997;275(5301):838-41.
14. Chu Y, Kordower JH, Lewy body pathology in fetal grafts. *Ann NY Acad Sci*. 2010;1184:55-67.
15. Cuervo AM, Wong ES, Martinez-Vicente M. Protein degradation, aggregation, and misfolding. *Mov Disord*. 2010;25 Suppl 1:S49-54.
16. Dawson TM, Ko HS, Dawson VL. Genetic animal models of Parkinson's disease. *Neuron*. 2010;66(5):646-61.
17. De Castro IP, Martins LM, Tufi R. Mitochondrial quality control and neurological disease: an emerging connection. *Exprt Rev Mol Med*. 2010; 19;12:e12.
18. Frim DM, Uhler TA, Galpern WR, Beal MF, Breakfield XO, Isacson O. Implanted fibroblast genetically engineered to produce brain-derived neurotrophic factor prevents degeneration of dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci*. 1995;15(12):7810-20.

19. Gagne JJ, Power MC. Anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson disease: a meta-analysis. *Neurology*. 2010;74(12):995-1002.
20. George JL, Mok S, Moses D, Wilkins S, Bush AI, Cherny RA, Kinkelstein DI. Targeting the progression of Parkinson's disease. *Current Neuropharmacol*. 2009;7:9-36.
21. Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell*. 2010;140(6):918-34.
22. Ghosh B, Antonio T, Reith ME, Dutta AK. Discovery of 4-(4-(2-((5-Hydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-yl)(propyl)amino)ethyl)piperazin-1-yl)quinolin-8-ol and its analogues as highly potent dopamine D2/D3 agonists and as iron chelator: in vivo activity indicates potential application in symptomatic and neuroprotective therapy for Parkinson's disease. *J Med Chem*. 2010 ;53(5):2114-25.
23. Graeber MB, Moran LB. Mechanisms of cell death in neurodegenerative diseases: fashion, fiction, and facts. *Brain Pathol*. 2002;12(3):385-90.
24. Halliday GM, McCann Heather. The progression of pathology in Parkinson's disease. *Ann NY Acad Sci* 2009;1184:188-195.
25. Hawkes CH. The prodromal phase of sporadic Parkinson's disease: does it exist and if so how long is it?. *Mov Disord*. 2008;23:101-106.
26. Hindle JV. Ageing, neurodegeneration and Parkinson's Disease Ageing, neurodegeneration and Parkinson's disease. *Age and Ageing* 2010; 39: 156–161.
27. Hirsch EC, Hunot S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection?. *Lancet Neurol*. 2009;8(4):382-97.
28. Jankovic J, Hunter C. A double-blind, placebo-controlled and longitudinal study of riluzole in early Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2002;8:271-276.
29. Jankovic J, Watts RL, Martin W, Boroojerdi B. Transdermal rotigotine: double-blind, placebo-controlled trial in Parkinson disease. *Arch Neurol*. 2007; 64(5):676-82.
30. Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR-c agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*. 1998;391:82–86.
31. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics, *Br. J. Cancer*. 1972; 26:239–257.
32. Kim HS, Suh YH. Minocycline and neurodegenerative diseases. *Behav Brain Res*. 2009;196(2):168-79 Koga H, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy dysfunction in the pathogenesis of neurodegeneration. *Neurobiol Dis*. 2010. [Epub ahead of print]
33. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 five years later. *Science*. 1987;237(4819):1154-62.
34. Löhle M, Reichmann H. Clinical neuroprotection in Parkinson's disease - still waiting for the breakthrough. *J Neurol Sci*. 2010 Feb 15;289(1-2):104-14.
35. Masliah E, Rockenstein E, Adame A, Alford M, Crews L, Hashimoto M, Seubert P, Lee M, Goldstein J, Chilcote T, Games D, Schenk D. Effects of alpha-synuclein immunization in a mouse model of Parkinson's disease. *Neuron*. 2005;46(6):857-68.
36. Matsuda N, Tanaka K. Does impairment of the ubiquitin-proteasome system or the autophagy-lysosome pathway predispose individuals to neurodegenerative disorders such as Parkinson's disease?. *J Alzheimer Dis*. 2010; 19(1):1-9.
37. Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, Van Broeckhoven C. Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update. *Hum Mutat*. 2010;31(7):763-80.

38. Olanow CW, Goetz CG, Kordower JH, Stoessl AJ, Sossi V, Brin MF, Shannon KM, Nauert GM, Perl DP, Godbold J, Freeman TB. A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2003;54(3):403-14.
39. Olanow CW, Kordower JH, Lang AE, Obeso JA. Dopaminergic transplantation for Parkinson's disease: current status and future prospects. 2009;66(5):591-6.
40. Olanow CW, Rascol O, Hauser R, Feigin PD, Jankovic J, Lang A, Langston W, Melamed E, Poewe W, Stocchi F, Tolosa E; ADAGIO Study Investigators. A double-blind, delayed-start trial of rasagiline in Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2009;361(13):1268-78.
41. Orrenius S, Gogvadze V, Zhivotovsky B. Mitochondrial oxidative stress: implications for cell death, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*. 2007;47:143–183.
42. Pfeiffer RF. Parkinson disease: calcium channel blockers and Parkinson disease. *Nat Rev Neurol* 2010;6(4):188-9.
43. Postuma RB, Gagnon JF, Montplaisir J. Clinical prediction of Parkinson's disease: planning for the age of neuroprotection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010 Jun 20. [Epub ahead of print].
44. Putcha P, Danzer KM, Kranich LR, Scott A, Silinski M, Mabbett S, Hicks CD, Veal JM, Steed PM, Hyman BT, McLean PJ. Brain-permeable small-molecule inhibitors of Hsp90 prevent alpha-synuclein oligomer formation and rescue alpha-synuclein-induced toxicity. *Pharmacol Exp Ther*. 2010;332(3):849-57.
45. Qiao L, Hamamichi S, Caldwell KA, Caldwell GA, Yacoubian TA, Wilson S, Xie ZL, Speake LD, Parks R, Crabtree D, Liang Q, Crimmins S, Schneider L, Uchiyama Y, Iwatsubo T, Zhou Y, Peng L, Lu Y, Standaert DG, Walls KC, Shacka JJ, Roth KA, Zhang J. Lysosomal enzyme cathepsin D protects against alpha-synuclein aggregation and toxicity. *Mol Brain*. 2008;1(1):17.
46. Ramaswamy S, Kordower JH. Are growth factors the answer?. *Parkinsonism & Rel Disord*. 2009;15S3:S176–S180.
47. Ramaswamy S, Soderstrom KE, Kordower JH. Trophic factors therapy in Parkinson's disease. *Prog Brain Res*. 2009;175:201-16.
48. Rosenblad C, Kirik D, Devaux B, Moffat B, Phillips HS, Björklund A. Protection and regeneration of nigral dopaminergic neurons by neurturin or GDNF in a partial lesion model of Parkinson's disease after administration into the striatum or the lateral ventricle. *Eur J Neurosci*. 1999;11(5):1554-66.
49. Schapira AHV, Olanow CW. Rationale for the use of dopamine agonists as neuroprotective agents in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2003;53 Suppl 3:S149-57.
50. Snyder H, Wolozin B. Pathological proteins in Parkinson's disease: focus on the proteasome. *J Mol Neurosci*. 2004;24(3):425-42.
51. Strange PG. Mechanisms underlying agonist efficacy. *Biochem Soc Trans*. 2007;35(Pt4):733-6.
52. Sulzer D. Multiple hit hypothesis for dopamine neuron loss in Parkinson's disease. *Trends Neurosci*. 2007;30:244-250.
53. Surmeier DJ, Guzman JN, Sanchez-Padilla J. Calcium, cellular aging, and selective neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *Cell Calcium*. 2010;47(2):175-82.
54. Tansey MG, Goldberg MS. Neuroinflammation in Parkinson's disease: its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention. *Neurobiology Dis*. 2010;37(3):510-8.
55. Tsuji T, Asanuma M, Miyazaki I, Miyoshi K, Ogawa N. Reduction of nuclear peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression in methamphetamine-induced neurotoxicity and neuroprotective effects of ibuprofen. *Neurochem Res*. 2009;34(4):764-74.
56. Vives-Bauza C, de Vries RL, Tocilescu MA, Predborski S. Is there a pathogenic role for mitochondria in Parkinson's disease?. *Parkinsonism Relat Disord*. 2009;15 (Suppl3):S241-4.

57. Weggen S, Eriksen JL, Das P, Sagi SA, Wang R, Pietrzik CU, Findlay KA, Smith TE, Murphy MP, Bulter T, Kang DE, Marquez-Sterling N, Golde TE, Koo EH. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Ab42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature*. 2001;414:212–216.
58. Weinreb O, Amit T, Bar-Am O, Youdim MB. Rasagiline: a novel anti-parkinsonian monoamine oxidase-b inhibitor with neuroprotective activity. *Prog Neurobiol*. 2010 jun 19. [epub ahead of print].
59. Westerlund M, Hoffer B, Olson L. Parkinson's disease: Exit toxins, enter genetics. *Progress in Neurobiology* 90 (2010) 146–156.
60. Wong E, Cuervo AM. Autophagy gone awry in neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci*. 2010;13(7):805-11.
61. Yang L, Calingasan NY, Wille EJ, Cormier K, Smith K, Ferrante RJ, Beal MF. Combination therapy with coenzyme Q10 and creatine produces additive neuroprotective effects in models of Parkinson's and Huntington's diseases. *J Neurochem*. 2009;109(5):1427-39.
62. Yue Z. LRRK2 in Parkinson's disease: in vivo models and approaches for understanding pathogenic roles. *FEBS J*. 2009;276(22):6445-54.
63. Zhivotovsky B, Orrenius S. Cell death mechanisms: Cross-talk and role in disease. *Exp Cell Res*. 2010;316(8):1374-83.
64. Zhu W, Li X, Xie W, Luo F, Kaur D, Andersen JK, Jankovic J, Le W. Genetic iron chelation protects against proteasome inhibition-induced dopamine neuron degeneration. *Neurobiol Dis*. 2010;37(2):307-13.