
Extrés oxidativo y enfermedad de Parkinson *Oxidative stress and Parkinson's disease*

R. Larumbe

RESUMEN

La etiología de la enfermedad de Parkinson (EP) es desconocida. Se han postulado factores ambientales y genéticos en el origen de la misma, pero sigue sin conocerse la causa de la muerte neuronal dopaminérgica que tiene lugar en la enfermedad. En la última década los estudios sobre la patogenia de la enfermedad se centran en los mecanismos de estrés oxidativo en la *pars compacta* de la sustancia negra. Se ha descrito un aumento en la formación de radicales libres y una alteración en los mecanismos de defensa antioxidante, que podrían contribuir a la biopatología de la EP. Los niveles de GSH están muy deprimidos, a la vez que se ha descrito un aumento del hierro en la sustancia negra. Asimismo se ha constatado un aumento de la SOD, probablemente como mecanismo compensatorio. La posible implicación del estrés oxidativo en la muerte neuronal ha impulsado la investigación del papel de ciertos antioxidantes como agentes protectores frente a la EP.

Palabras clave: Enfermedad de Parkinson. Estrés oxidativo. Radicales libres. Antioxidantes.

ABSTRACT

The etiology of Parkinson's disease (PD) is still unknown. Genetic factors and environmental exposure have been suggested in the etiopathogenesis of the disease. But the cause of dopaminergic cell loss in patients with PD remains unknown. During the last decade studies of the pathogenesis of PD have centred on the oxidative damage to the substantia nigra pars compacta. An increased free radical production and an inadequate antioxidant defence system have been reported, which could contribute to the biopathology of PD. The GSH levels in the brain are decreased, and iron levels in the substantia nigra are elevated. Moreover there are changes in SOD with an increased activity in the substantia nigra. The possible implication of oxidative stress in cell loss has encouraged research into the role of certain antioxidant agents, such as dietary compounds and drugs, as protective agents against PD.

Key words: Parkinson's disease. Oxidative stress. Free radicals. Antioxidant agents.

ANALES Sis San Navarra 1998; 21 (2): 187-196.

Centro de Investigación Biomédica. Servicio Navarro de Salud.

Aceptado para su publicación el 11 de junio de 1998.

Correspondencia

Rosa Larumbe
Centro de Investigación Biomédica
Recinto Hospital de Navarra
31008 Pamplona
Tfno. 948 422186

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es una entidad degenerativa de etiología desconocida, que afecta a los núcleos pigmentados del tronco del encéfalo. La enfermedad se caracteriza por la degeneración de las neuronas dopaminérgicas nigroestriadas que, con origen en la zona compacta de la sustancia negra (SNc), proyectan a los núcleos caudado y putamen¹ (Figs. 1a, 1b). La pérdida de esta población neuronal induce, consecuentemente, una notable disminución de dopamina a nivel del estriado (caudado y putamen).

La causa de la muerte neuronal dopaminérgica es desconocida. Los estudios epidemiológicos han encontrado un mayor riesgo de padecer EP con la exposición ambiental a factores tales como sustancias derivadas de los procesos industriales, utilización de productos agroquímicos, o vivir en un medio rural². La hipótesis de que un tóxico ambiental pudiera ser el origen de la EP vino apoyada por el descubri-

miento de que la sustancia química 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) es selectivamente tóxica frente a las neuronas dopaminérgicas nigroestriadas, y se pueden reproducir en animales los hallazgos neuroquímicos, histopatológicos y clínicos propios de la EP³.

Por otro lado, y aunque no se ha identificado ningún defecto genético específico, debe considerarse un papel genético en la etiopatogenia de la EP. Por una parte, existen casos en los que se ha comprobado una transmisión autosómica dominante entre un 5 % y un 10 % de casos⁴. Por otro lado, se han descrito anomalías en la cadena transportadora de electrones⁵, lo que parece indicar que existirían alteraciones del genoma mitocondrial. En este sentido se han encontrado alteraciones en las monoxigenasas P₄₅₀. El citocromo P₄₅₀, responsable de la oxidación de la debrisoquina (CYP 2D6), muestra polimorfismo, con mutación heredada autosómica recesi-

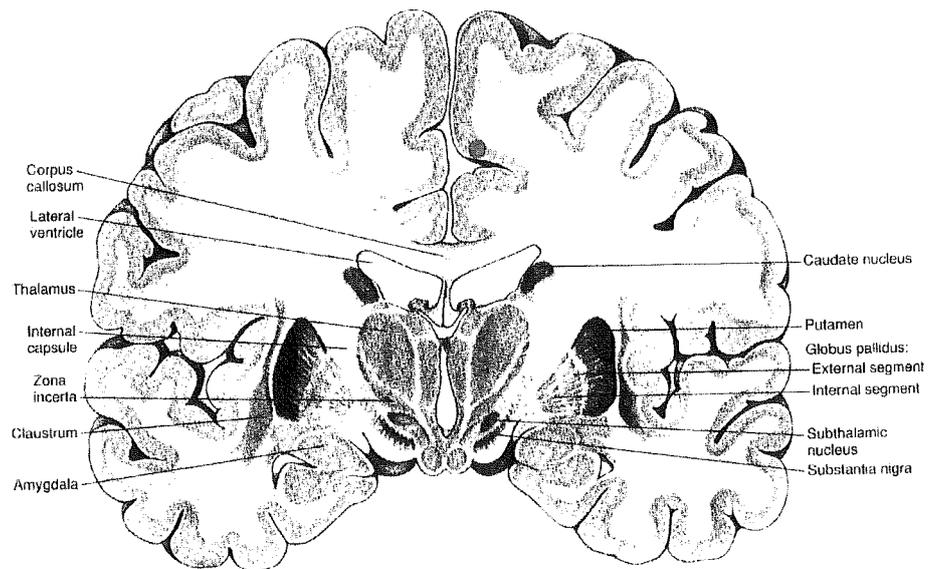


Figura 1a. Corte coronal del cerebro que muestra los ganglios basales en relación con las estructuras adyacentes (Adaptado de Nieuwenhuys, Voogd y van Huijzen, 1981).

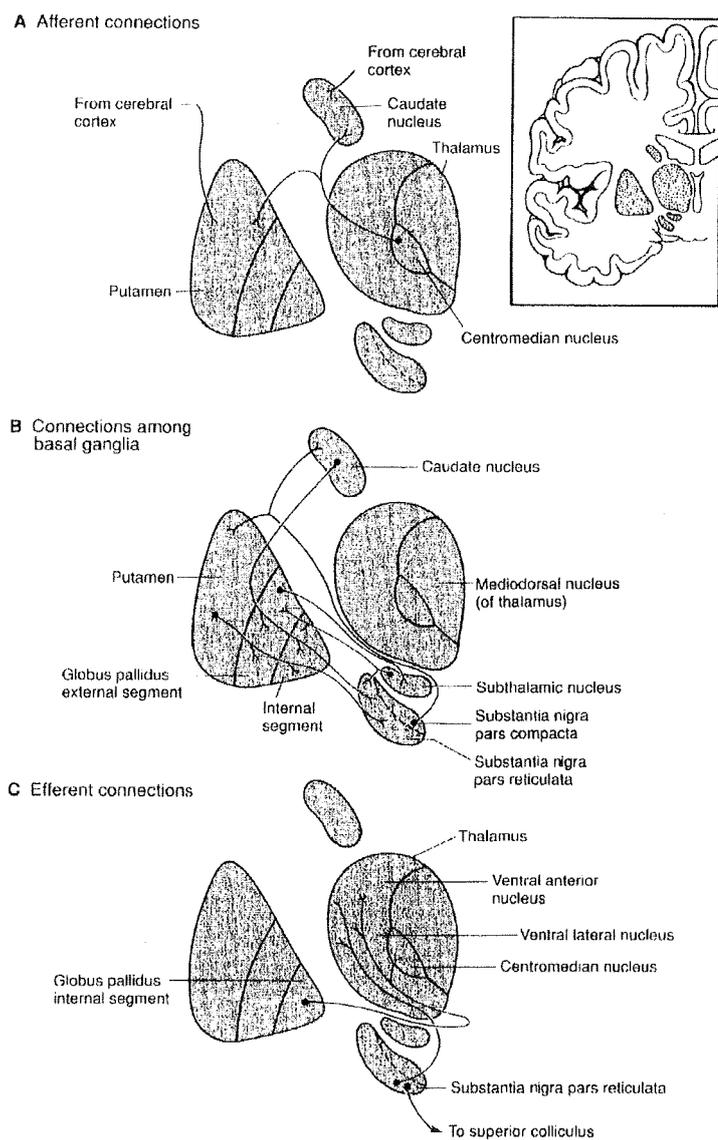


Figura 1b. Principales conexiones anatómicas de los ganglios basales. A. Los núcleos caudado y putamen reciben casi todas sus aferencias de los ganglios basales. B. Las conexiones internucleares entre todos los núcleos de los ganglios basales están topográficamente organizadas. C. El tálamo es el principal receptor de las proyecciones eferentes de los ganglios basales.

va, lo que condiciona una alteración en el metabolismo de la debrisoquina⁶.

En los últimos años se está haciendo hincapié en el papel etiopatogénico, tanto

de tóxicos endógenos como de toxinas ambientales, y de forma repetida se propaga el concepto de que la excesiva formación de radicales libres, y el estrés oxidativo que esto conlleva, conducen al daño

celular y a la muerte neuronal dopaminérgica que tiene lugar en la EP⁷.

ESTRÉS OXIDATIVO

Las reacciones de oxidación-reducción son procesos biológicos esenciales que conducen a la formación de diferentes compuestos en los procesos metabólicos celulares. Estas reacciones conllevan la transferencia de electrones y pueden generar productos conocidos como radicales libres (RL) o especies reactivas de oxígeno (ERO)⁸.

La mayor fuente intracelular de radicales libres es la mitocondria, a través del sistema de la citocromo-oxidasa que interviene en la respiración mitocondrial; por otro lado, los radicales libres pueden también generarse a través de procesos del propio metabolismo celular, como a partir de la vía sintética del ácido úrico.

Los RL actúan sobre el DNA mitocondrial, que es muy susceptible al estrés oxidativo, y existe evidencia de que este mecanismo está implicado en procesos carcinogénicos. También los RL producen oxidación de las proteínas, con la consiguiente desconfiguración estructural de las mismas. A nivel de los lípidos, inducen peroxidación lipídica que conlleva la alteración de la permeabilidad de la membrana celular y el correspondiente daño y muerte celular⁹. Los peróxidos lipídicos generados en estas reacciones en cadena representan un índice del daño celular por RL, y pueden medirse, por ejemplo el malonildialdehído (MDA).

En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre los factores que promueven la oxidación y los factores protectores que regulan la formación de RL.

La hipótesis del estrés oxidativo en la patogenia de distintas enfermedades se refiere a un desbalance entre la formación de radicales libres, como el radical superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^-), y los procesos de defensa antioxidante. El daño oxidativo está involucrado directamente en diversas afecciones del sistema nervioso central tales como la isquemia cerebral, el traumatismo craneoencefálico y enfermedades neurodegenerativas, entre ellas

la EP, la enfermedad de Alzheimer o la Esclerosis Lateral Amiotrófica.

La hipótesis de que los RL y el estrés oxidativo contribuyen de manera sustancial en la patogénesis de la EP deriva fundamentalmente de los datos bioquímicos e histopatológicos puestos en evidencia en tejido de pacientes parkinsonianos y se apoya en hallazgos de estudios *in vitro* y de la experimentación animal, como el modelo de parkinsonismo inducido por el 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) o el potencial efecto neurotóxico de la L-Dopa.

Efecto tóxico del MPTP

Es conocido que el MPTP, a través de su metabolito, el 1-metil-4-fenilpiridina (MPP^+), produce una disfunción mitocondrial por inhibición directa del Complejo I mitocondrial¹⁰. Esta disfunción mitocondrial puede por sí misma dar lugar a una formación excesiva de RL. Pero también se ha descrito que la interacción de MPP^+ con ciertas moléculas como el NADH dehidrogenasa mitocondrial, provoca un aumento de peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo¹¹. Chiueh y col.¹² han demostrado además que el efecto tóxico inducido por el MPTP está relacionado con un exceso de producción de radicales libres, secundario a la liberación de dopamina inducida por la administración del tóxico. Sin embargo, Luquin y col.¹³ tras un estudio en ratas pretratadas con desferoxamina a las que se inyectó intraestriatalmente MPP^+ , concluyen que la producción de radicales libres no es el principal mecanismo de toxicidad neuronal ligado al MPTP.

Metabolismo de la dopamina y estrés oxidativo

La dopamina, y las aminas en general, son la fuente más importante de radicales libres del organismo¹⁴. Por cada mol de amina oxidado, se forma un mol de peróxido de hidrógeno. En la EP, en que existe un aumento del turnover de dopamina, a lo que se suma el tratamiento adicional con L-Dopa, la producción de radicales libres tóxicos estaría muy aumentada.

La autooxidación de la dopamina conduce a la producción de semiquinonas que son por sí mismas tóxicas y pueden además generar RL¹⁵. Pero es aún más decisivo el metabolismo enzimático de la dopamina, que conduce no sólo a la producción de metabolitos deaminados como el ácido homovanílico o el 3,4-dihidroxi-fenilacético (DOPAC), sino también a la formación de potentes oxidantes celulares como el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y el OH⁻. En los estadios iniciales de la EP, debido al aumento del turnover de dopamina y con el efecto añadido del tratamiento con L-Dopa, podría producirse un exceso de H₂O₂. En condiciones normales, el H₂O₂ es inactivado por el glutatión (GSH) en una reacción catalizada por el enzima glutatión peroxidasa. Pero si este sistema del GSH no funciona bien, el H₂O₂ puede transformarse en el radical OH⁻, desencadenando

se así la peroxidación lipídica de la membrana y la muerte celular.

Aunque los resultados sobre la acción neurotóxica de la L-Dopa *in vivo* son contradictorios^{16,17}, se ha demostrado su acción neurotóxica en cultivos de células dopaminérgicas¹⁸. En cualquier caso, el efecto tóxico de la dopamina no sería el origen de la neurodegeneración en la EP.

EVIDENCIA DE ESTRÉS OXIDATIVO EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

Aunque no existen pruebas directas de que el estrés oxidativo sea el responsable de la muerte de células dopaminérgicas en la EP, distintos hallazgos en humanos y animales de experimentación apoyan esta hipótesis (Tabla 1).

Tabla 1. Hallazgos indicativos de estrés oxidativo en la enfermedad de Parkinson.

- | | |
|---|---|
| • | ↓ Glutatión reducido en la SN |
| • | ↑ Hierro en la sustancia negra |
| • | ↓ glutatión peroxidasa |
| • | ↑ actividad de la superóxido dismutasa (SOD) |
| • | ↑ productos derivados de la peroxidación lipídica (p. ej., malonildialdehído) |
| • | ↓ ácidos grasos polinsaturados en la sustancia negra |
| • | Alteración del complejo I mitocondrial |
| • | Alteración de la α-cetoglutarato dehidrogenasa mitocondrial |

1. En la EP se ha constatado que los niveles de hierro en la sustancia negra (SN) están elevados con una proporción Fe²⁺ / Fe³⁺ de 2:1, frente a un cociente 1:2 en cerebros de sujetos normales de edad similar^{19,20}. En otros núcleos de los ganglios basales como el caudado y el putamen, en cambio, los valores son normales. El hierro reacciona con el peróxido de hidrógeno y acelera la peroxidación lipídica, ya que produce radicales libres cuando se encuentra en la forma reactiva²¹. Existe controversia, sin embargo, sobre si el hierro que se acumula en la SN es o no hierro reactivo. El hierro más reactivo es aquel

que no se encuentra unido a la ferritina. Un estudio ha demostrado que los niveles de ferritina neuronal no están disminuidos en la EP, sino que existe más bien un fallo de los mecanismos de autorregulación que deberían ponerse en marcha ante el aumento de hierro²². No se sabe con certeza si el aumento de hierro en la SNc excede la capacidad de unión a la transferrina, o si existe hierro libre en la SN. El aumento de hierro podría interpretarse como un incremento en su transporte al interior de las células dopaminérgicas en forma de complejos Fe-ferritina a través de receptores de superficie específicos²³, aunque tam-

bién cabe la posibilidad de que su acúmulo intracelular represente un producto inespecífico de la degradación celular²⁴.

2. Existe un acuerdo unánime de que los niveles de glutatión reducido (GSH) están disminuidos en el cerebro de pacientes con EP^{25,26}. Este déficit es específico de la SNc y no se encuentra en otras regiones cerebrales ni en otras enfermedades neurodegenerativas que afectan a los ganglios basales. El déficit de GSH puede reducir el aclaramiento de H₂O₂ y promover la formación de radicales OH⁻, en una reacción catalizada por el hierro. No se conoce la causa por la que los niveles de GSH están disminuidos en la EP. El estrés oxidativo o las anomalías mitocondriales pueden producir una depleción irreversible del glutatión, pero este hecho no ha sido establecido en la EP. No se han encontrado tampoco modificaciones en la actividad de la glutatión transferasa ni de la glutatión reductasa²⁷. Los datos en cambio son contradictorios respecto a la glutatión peroxidasa. Aunque la mayoría de estudios sugieren una disminución en la actividad de la glutatión peroxidasa²⁸, otros sin embargo encuentran una actividad normal²⁹. La glutatión peroxidasa es una enzima encargada de eliminar el peróxido de hidrógeno del organismo, y se encuentra localizada exclusivamente en astrocitos³⁰. Por tanto, las neuronas dopaminérgicas rodeadas de una baja densidad de células gliales estarán menos protegidas frente a la producción de peróxido de hidrógeno, mientras que aquellas localizadas en áreas con gran componente glial, estarán más protegidas.

3. En los homogeneizados de SN de pacientes parkinsonianos se ha encontrado además un aumento en la actividad superóxido dismutasa (SOD) en la *pars compacta*³¹. La SOD, junto con la catalasa y la glutatión peroxidasa, son las enzimas responsables de la degradación del O₂⁻ y el H₂O₂. Existen tres formas distintas de SOD, codificadas por tres genes diferentes: La SOD-CuZn, que se encuentra en el citoplasma de las células; otra forma de SOD-CuZn extracelular, que se encuentra en concentraciones muy bajas en los fluidos extracelulares y plasma y la SOD-Mn. Los niveles de RNAm para SOD-CuZn son muy elevados en la SN, y se expresan funda-

mentalmente en las neuronas que contienen neuromelanina. Podría pensarse que las neuronas que contienen neuromelanina precisan mayor cantidad de SOD CuZn para eliminar los radicales superóxido. Por otro lado, una actividad elevada de SOD en estas células podría contribuir a una mayor vulnerabilidad de las mismas al daño oxidativo, dado el aumento en la producción de peróxido de hidrógeno³².

4. En diversos trabajos se han descrito alteraciones del Complejo I mitocondrial en la SN y en plaquetas de pacientes con EP³³. Este déficit es exactamente el mismo que ocurre en la toxicidad por MPP⁺, en la que existe una inhibición de la NADH-ubiquinona reductasa de la cadena transportadora de electrones mitocondrial³⁴. No se conocen los motivos por los que existe este trastorno del Complejo I mitocondrial. No se han encontrado anomalías estructurales en las proteínas, ni mutaciones del DNA mitocondrial³⁵. El déficit del complejo I mitocondrial compromete la síntesis de ATP, con lo que disminuye la fuente de energía celular para diversos procesos metabólicos. Podría ser éste el mecanismo final causante de la muerte neuronal en la EP³⁶.

5. En fechas recientes ha cobrado interés el papel del óxido nítrico (NO) en la producción de daño oxidativo en la EP³⁷. El NO se produce a través de la oxidación de L-arginina por la NADH. Esta reacción está catalizada por la monooxigenasa denominada óxido nítrico sintasa (NOS)³⁸. La NOS está localizada en una gran variedad de células: macrófagos, células de microglía y neuronas. En la SN, existen pocas neuronas que contengan NOS³⁹. La acción tóxica del NO puede estar mediada por la formación de peroxinitrito (ONOO⁻) que deriva de la interacción del NO con radicales superóxido⁴⁰. El anión peroxinitrito, además de una potente molécula oxidante, puede descomponerse en radical hidroxilo y dióxido de hidrógeno, que a su vez son potentes activadores de la peroxidación lipídica⁴¹. El NO puede también inhibir la cadena respiratoria mitocondrial, fundamentalmente el complejo IV⁴². Hunot y col.⁴³ han descrito recientemente un aumento en la expresión de NOS inducible

en las células gliales de la SN de pacientes parkinsonianos.

ANTIOXIDANTES Y ENFERMEDAD DE PARKINSON

La posible implicación de los mecanismos de estrés oxidativo en la patogénesis de la EP, ha llevado a investigar el papel de los compuestos antioxidantes en la defensa frente a la enfermedad. Son diversos los agentes antioxidantes relacionados con la EP (Tabla 2).

Tabla 2. Antioxidantes investigados en la enfermedad de Parkinson.

Antioxidantes específicos

- GSH
- Superóxido dismutasa (SOD)
- Catalasa

Antioxidantes inespecíficos

- Vitamina E (α -tocoferol)
- Vitamina C
- Carotenos
- Retinol

Antioxidantes de síntesis

- Selegilina
- N-acetil-cisteína
- Desferoxamina

La mayor parte de mecanismos antioxidantes de defensa estudiados en el cerebro de pacientes parkinsonianos parecen encontrarse intactos, aunque se ha constatado, como ya se mencionó anteriormente, un aumento en la actividad de la SOD (superóxido dismutasa) y una marcada reducción de los niveles de glutatión reducido. La catalasa no sufre modificaciones.

Por otro lado se han llevado a cabo diversos estudios que han examinado el papel de los antioxidantes de la dieta en la protección frente a la EP. Se ha postulado que la ingesta de antioxidantes en altas cantidades podría reducir el riesgo de padecer EP o enlentecer el curso de la enfermedad⁴⁴⁻⁴⁷. Sin embargo los datos de los distintos trabajos son inconsistentes. Se ha apuntado que el consumo de alimentos ricos en vitamina E (α -tocoferol) en épocas tempranas de la vida, podría disminuir el riesgo de EP⁴⁶⁻⁵⁰. En otros estudios

sin embargo no se ha encontrado tal asociación^{45,51-52}. También se ha investigado la implicación de la vitamina C (ácido ascórbico) y los carotenos en la EP. Pero los trabajos publicados no señalan ninguna relación consistente^{45, 51,53,54}.

Otro cuerpo de información procede de los datos obtenidos del uso de agentes terapéuticos de acción antioxidante en pacientes con EP y en modelos de experimentación animal.

El agente más estudiado es la selegilina⁵⁵, un inhibidor de la enzima monoamino-oxidasa B (MAO-B) que interviene en el metabolismo oxidativo de la dopamina. La selegilina ha demostrado tener un efecto protector del daño celular inducido por MPTP⁵⁶. Y se ha extendido su uso como agente terapéutico en el tratamiento de la EP, tanto por el efecto sintomático que ejerce, como por su potencial acción neuroprotectora. En este sentido Olanow y col.⁵⁷ han demostrado que la selegilina retrasa la progresión de los signos y síntomas de la EP, gracias a este efecto neuroprotector, aunque no frena la progresión de la enfermedad.

En modelos animales de EP también se ha comprobado que el quelante del hierro desferoxamina protege a las neuronas dopaminérgicas de la neurodegeneración inducida por 6-hidroxidopamina (6-OHDA)⁵⁸.

En un modelo similar al anterior, Luquin y col.⁵⁹ han demostrado que la N-acetil-cisteína (NAC), precursora del glutatión, bloquea la neurotoxicidad dopaminérgica inducida por 6-OHDA.

BIBLIOGRAFÍA

1. AGID Y, JAVOY-AGID F, RUBERG M. Biochemistry of neurotransmitters in Parkinson's disease. En: Marsden CE, Fahn S, eds. *Movements Disorders*. Londres: Butterworth & Co. Publishers; 1987: 166-230.
2. GOLBE LI, LANGSTON JW. The etiology of Parkinson's disease: new directions for research. En: Jankovic J, Tolosa E, eds. *Parkinson's disease and Movement Disorders*. Baltimore: Williams and Wilkins 1993; 93-102.
3. LANGSTON JW, BALLARD P, TETRUD JW, IRWIN Y. Chronic parkinsonism in humans due to a

- product of meperidine analog synthesis. *Science* 1983; 219: 979-980.
4. GASSER T, WSZOLEK ZK, TROFATTER J, OZELIUS L, VITTI RJ, LEE CS. Genetic linkage studies in autosomal dominant parkinsonism: evaluation of seven candidate genes. *Ann Neurol* 1994; 36: 387-396.
 5. PARKER WD, BOYSON SJ, PARKS JK. Abnormalities of the electron transport chain in idiopathic Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1989; 26: 719-723.
 6. SMITH CAD, GOUGH AC, LEIGH PN *et al*. Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism and susceptibility of Parkinson's disease. *Lancet* 1992; 339: 1375-1377.
 7. JENNER P, OLANOW CW. Pathological evidence for oxidative stress in Parkinson's disease and related degenerative disorders. En: Olanow CW, Jenner P, Youdim M, eds. *Neurodegeneration and neuroprotection in Parkinson's disease*. Londres: Academic 1996; 24-25.
 8. OLANOW CW. An introduction to the free radical hypothesis in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1992; 32: 2-9.
 9. GÖTZ ME, KÜNIG G, RIEDERER P, YODIM MBH. Oxidative stress: free radical production in neural degeneration. *Pharmac Ther* 1994; 63: 37-122.
 10. GERLACH M, RIEDERER P, PRZUNTEK H, YODIM MBH. The MPTP mechanism of neurotoxicity and their implications for Parkinson's disease. *Eu J Pharmacol* 1991; 208: 273-286.
 11. ADAMS JD, KLAIDMAN LK, LEUNG AC. MPP⁺ and MPDP⁺ induced oxygen radical formation with mitochondrial enzymes. *Free Rad Biol Med* 1993; 15: 181-186.
 12. CHIUH CC, MIKAYE H, PENG MT. Role of dopamine autoxidation, hydroxyl radical generation and calcium overload in underlying mechanism involved in MPTP-induced parkinsonism. En: Narabayashi H, Nagatsu T, Yanogisawa N, Mizuno Y, eds. *Advances in Neurology. Parkinson's disease: from Basic research to Treatment*. New York: Raven Press, 1993; 251-258.
 13. LUQUIN MR, ZBARSKY V, DEL RÍO L *et al*. Desferoxamine does not protect against MPP⁺-induced toxicity in rats. *Mov Disord* 1996; 11 (Suppl 1): 144.
 14. SPENCER TS, PARKER WD, BENNET J. L-Dopa increases nigral production of hydroxyl radicals *in vivo*: potential L-dopa toxicity? *Neuroreport* 1994; 5: 1009-1011.
 15. OLANOW CW. Oxidation reactions in Parkinson's disease. *Neurology* 1990; 40: 32-37.
 16. BLUNT SB, JENNER P, MARSDEN CD. Suppressive effect of L-Dopa on dopamine cells remaining in the ventral tegmental area of rats previously exposed to the neurotoxin 6-Hydroxydopamine. *Mov Disord* 1993; 8: 129-133.
 17. PERRY T, YONG VW, ITO M, FOULKS JG, WALL RA, GODIN DV. Nigrostriatal dopaminergic neurons remain undamaged in rats given high doses of levodopa+carbidopa chronically. *J Neurochem* 1984; 43: 990-993.
 18. PARDO B, MENA MA, FAHN S, GARCÍA DE YÉBENES J. Ascorbic acid protects against levodopa-induced neurotoxicity on a catecholamine rich human neuroblastoma cells. *Mov Disord* 1993; 8: 278-284.
 19. SOFIC E, PAULUS W, JELLINGER K, RIEDERER P, YODIM MBH. Selective increase of iron in substantia nigra zona compacta of parkinsonian brains. *J Neurochem* 1991; 56: 978-982.
 20. GERLACH M, BEN-SHACHAR D, RIEDERER P, YODIM MBH. Altered brain metabolism of iron as a cause of neurodegenerative diseases?. *J Neurochem* 1994; 63: 793-807.
 21. HOROVITZ CT, BONDY SC. The effect of ions on free radical formation in lung and brain of rats. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1994; 8: 167-171.
 22. CONNOR JR, SNYDER BS, AROSIO P, LOEFFLER DA, LE WIT P. A quantitative analysis of isoferritins in select regions of aged, parkinsonian and Alzheimer diseased brains. *J Neurochem* 1995; 65: 717-724.
 23. BOMFORD AB, MUNRO HN. Transferrin and its receptors: their roles in cell function. *Hepatology* 1985; 5: 870-875.
 24. LUQUIN MR, SALDISE L. Sistema dopaminérgico y muerte neuronal. *Rev Neurol* 1997; 25 (Supl 2): S 129-S 140.
 25. PERRY TL, GODIN DV, HANSEN S. Parkinson's disease: a disorder due to nigral glutathione deficiency. *Neurosci Lett* 1982; 33: 305-310.
 26. SIAN J, DEXTER DT, LEES AJ, DANIEL S, AGID Y, JAVOY-AGID F. Alterations in glutathione levels in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders affecting basal ganglia. *Ann Neurol* 1994; 36: 348-355.
 27. SAGGU H, COOKSEY J, DEXTER D, WELLS FR, LEES A, JENNER P. A selective increase in particulate superoxide dismutase activity in parkinsonian substantia nigra. *J Neurochem* 1989; 53: 692-697.
 28. KISH SJ, MORITS C, HORNYKIEWICZ O. Glutathione peroxidase activity in Parkinson's disease brain. *Neurosci Lett* 1985; 58: 343-346.

29. SIAN J, DEXTER DT, LEES AJ, DANIEL S, JENNER P, MARSDEN CD. Glutathione-related enzymes in brain in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1994; 36: 356-361.
30. DAMIER P, HIRSCH E, JAVOY-AGID F. Glutathion peroxidase, glial cells and Parkinson's disease. *Neuroscience* 1993; 32: 1-6.
31. MARTTILA RJ, LORENTZ H, RINNE UK. Oxygen toxicity protecting enzymes in Parkinson's disease: increase of superoxide dismutase-like activity in the substantia nigra and basal nucleus. *J Neurol Sci* 1988; 86: 321-331.
32. JAVOY-AGID F. Factors associated to dopaminergic cell death in Parkinson's disease. En: Fuxe K, Agnati LF, Bjelke B, Ottoson D, eds. *Trophic regulation of the basal ganglia. Focus on dopamine neurons*. Pergamon, 1996; 89-100.
33. SCHAPIRA AHV. Evidence for mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: a critical appraisal. *Mov Disord* 1994; 9: 125-138.
34. NICKLAS WJ, VYAS Y, HEIKKILA RE. Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 5, 6-tetrahydropyridine. *Lif Sci* 1985; 36: 2503-2508.
35. LESTIENNE P, NELSON J, RIEDERER P, JELLINGER K, REICHMANN H. Normal mitochondrial genome in brain from patients with Parkinson's disease and complex I defect. *J Neurochem* 1990; 55: 1810-1812.
36. RICHTER C, PARK JW, AMES BN. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6465-6467.
37. OLANOW CW. A radical hypothesis for neurodegeneration. *Trends Neurosci* 1993; 16: 439-444.
38. MC CALL T, VALLANCE P. Nitric oxide takes center stage with newly defined roles. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 13: 1-6.
39. SATOH K, ARAI R, IKEMOTO K, NARITA M, NAGAI T, OHSHIMA H. Distribution of nitric oxide synthase in the central nervous system of *Macaca Fuscata*: Subcortical regions. *Neuroscience* 1995; 66: 685-696.
40. OURY TD, HO YS, PIANTADOSI CA, CRAPO JD. Extracellular superoxide dismutase, nitric oxide and central nervous system O toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9715-9719.
41. REIF DW, SIMMONDS RD. Nitric oxide mediates iron release from ferritin. *Arch Biochem Biophys* 1990; 283: 537-541.
42. CLEETER MWJ, COOPER JM, DARLEY-USMAR VM, MONCADA S, SCHAPIRA AHV. Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide: implications for neurodegenerative diseases. *FEBS Lett* 1994; 345: 50-54.
43. HUNOT S, BOISSIERI F, FAUCHEAUX B, BRUGG B, MOUATT-PRIGENT A, HIRSCH EC. Nitric oxide synthase and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *Neuroscience* 1996; 72: 355-363.
44. Parkinson Study Group. Datatop: a multicenter controlled clinical trial in early Parkinson's disease. *Arch Neurol* 1989; 46: 1052-1060.
45. LOGROSCINO G, MARDER K, COTE L, TANG M-X, SHEA S, MAYEUX R. Dietary lipids and antioxidants in Parkinson's disease: a population-based, case-control study. *Ann Neurol* 1996; 39: 89-94.
46. MORENS DM, GRANDINETTI A, WASLIEN CI, PARK CB, ROSS GW, WHITE LR. Case-control study of idiopathic Parkinson's disease and dietary vitamin E intake. *Neurology* 1996; 46: 1270-1274.
47. DE RIJK MC, BRETELER MMB, DEN BREEIJEN JH, LAUNER LJ, GROBBEE DE, VAN DER MECHÉ FGA et al. Dietary antioxidants and Parkinson Disease. The Rotterdam Study. *Arch Neurol* 1997; 54: 762-765.
48. TANNER C. Epidemiology of Parkinson's disease. *Neurol Clin* 1992; 10: 317-327.
49. GOLBE LI, FARRELL TLM, DAVIS PH. Case-control study of early life dietary factors in Parkinson's disease. *Arch Neurol* 1988; 45: 1350-1353.
50. GOLBE LI, FARRELL TLM, DAVIS PH. Follow-up study of early-life protective and risk factors in Parkinson's disease. *Mov Disord* 1990; 5: 66-70.
51. HELLENBRAND W, BOEING H, ROBRA BP, SEIDLER A, VIERGE P, NISCHAN P et al. Diet and Parkinson's disease, II: a possible role for the past intake of specific nutrients-results from a self-administered food-frequency questionnaire in a case-control study. *Neurology* 1996; 47: 644-650.
52. CERHAN JR, WALLACE RB, FOLSOM AR. Antioxidant intake and risk of Parkinson's disease (PD) in older women. *Am J Epidemiol* 1994; 254: S65.
53. KING D, PLAYFER JR, ROBERTS NB. Concentrations of vitamins A, C and E in elderly patients with Parkinson's disease. *Postgrad Med J* 1992; 68: 634-637.
54. JIMÉNEZ JF, MOLINA JA, FERNÁNDEZ CP et al. Serum levels of beta-carotene and other carotenoids in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 1993; 157: 103-106.

55. The Parkinson Study Group. Effect of deprenyl on the progression of disability in early Parkinson's disease. *New Eng J Med* 1989; 321: 1364-1371.
56. HEIKKILA RE, MANZINO L, CABBAT FS, DUVOISIN RC. Protection against the dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-tetrahydropyridine by monoamine oxidase inhibitors. *Nature* 1984; 311: 467-469.
57. OLANOW CW, HAUSER RA, GAUGER L, MALAPIRA T, KOLLER W, HUBBLE J *et al*. The effect of deprenyl and levodopa on the progression of signs and symptoms in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1995; 38: 771-777.
58. BEN-CHACHAR D, ESHEL G, FINBERG JPM, YODIM MBH. The iron chelator desferoxamine (desferol) retards 6-hydroxydopamine-induced degeneration of nigrostriatal neurons. *J Neurochem* 1991; 56: 1441-1444.
59. LUQUIN MR, DOMÍNGUEZ J, DEL RÍO L *et al*. N-acetyl-cysteine reduces dopaminergic-neuronal death induced by 6-OHDA. *Mov Disord* 1996; 11 (Suppl 1): 144.