

Mechanizmy neurodegenerácie pri Parkinsonovej chorobe

The Mechanisms of Neurodegeneration in Parkinson's Disease

Súhrn

Parkinsonova choroba patrí medzi najčastejšie sa vyskytujúce neurodegeneratívne ochorenie so závažnými socioekonomickými dôsledkami. Z hľadiska súčasných poznatkov ide o ochorenie nevyliciteľné, avšak včasnou diagnostikou a vhodne zahájenou liečbou sa dá prispieť k zlepšeniu kvality života pacienta. Príčina vzniku Parkinsonovej choroby nie je dodnes presne známa. V súčasnosti sa množia dôkazy podporujúce teóriu, že oxidatívny stres a mitochondriálna dysfunkcia môžu mať zásadný význam v patogenéze ochorenia. Výskum mechanizmov zahrnutých v zložitom procese neurodegenerácie PCh by mohla priniesť možnosť identifikácie rizikových a presymptomatických jedincov, ako aj identifikovanie terapeutického cieľa a následnej neuroprotektívnej liečby.

Abstract

Parkinson's disease is the most common neurodegenerative disorder, with serious socio-economic consequences. At present the disorder appears incurable, but well-timed diagnostics and appropriate therapy can improve the quality of life for those who suffer from it. Recent research appears to support a hypothesis that oxidative damage and mitochondrial dysfunction may play a primary role in the pathogenesis of PD. Further investigation of the mechanisms implicated in the complex process of neurodegeneration may result in the possibility of identifying individuals at risk and presymptomatic patients, and also determining proper therapeutic targets and subsequent neuroprotective treatments.

**D. Petrleničová,
K. Gmitterová, J. Benetin**

II. neurologická klinika
LF UK a FNsP Bratislava



doc. MUDr. Ján Benetin, CSc.

II. neurologická klinika
LF UK a FNsP Bratislava
Nemocnica akad. L. Déreza
Limbová 5
833 05 Bratislava
e-mail: benetin@stonline.sk

Prijato k recenzii: 10. 3. 2010
Prijato do tlače: 10. 6. 2010

Kľúčové slová

Parkinsonova choroba – neurodegenerácia – oxidatívny stres – mitochondriálna dysfunkcia – neuroprotektívna liečba

Key words

Parkinson's disease – neurodegeneration – oxidative damage – mitochondrial dysfunction – neuroprotective treatment

Úvod

Neurodegeneratívne ochorenia sú asociované s degeneráciou a zánikom neurónov v postihnutých oblastiach mozgu. Mechanizmy tejto, často selektívnej, vulnerability neurónov, ako aj ich smrti však dodnes nie sú presne známe.

Parkinsonova choroba (PCh) je druhé najčastejšie sa vyskytujúce neurodegeneratívne ochorenie, ktorého prevalencia sa zvyšuje vekom. Špecifický proces neurodegenerácie pri tomto ochorení postihuje periférny, enterický a centrálny nervový systém. V dôsledku degeneratívneho zániku neurónov v pars compacta substantie nigrae a ďalších pigmentovaných jadrách mozgového kmeňa dochádza k nedostatku dopamínu (DA) a iných neuromediátorov v bazálnych gangliách mozgu. Klinicky sa to prejavuje tzv. extrapyramídovým hypokineticko-rigídny (parkinsonským) syndrómom, pozostávajúcim z hypokinézy, rigidity, trasu a posturálnej poruchy.

V posledných rokoch sa detekovalo veľa možných príčin tohto relatívne selektívneho zániku neurónov, medzi ktorými dominuje oxidatívny stres ako zjednocujúci moment. Posledný výskum v genetickej oblasti ukázal, že tieto príčiny sú zahrnuté v etiopatogenéze ako sporadickej, tak i familiárnej formy ochorenia. Je teda zrejmé, že PCh je spôsobená kombináciou genetických a environmentálnych faktorov. Otvorenou otázkou zostáva, či tieto faktory predstavujú rôzne mechanizmy vzniku Parkinsonovej choroby, alebo sa zbiehajú v jednom bode, ktorý je spoločným patogenetickým menovateľom PCh.

V nasledujúcich riadkoch sa budem zaoberať vplyvom oxidatívneho stresu na mechanizmy neurodegenerácie, z ktorého vyplývajú potenciálne nové diagnostické i terapeutické možnosti.

Proteínová agregácia – proteolytický stres

Charakteristickou črtou neurodegeneratívnych ochorení je aberantná agregácia špecifických proteínov. Vo forme inklúzií sa ukladajú ako intra- a extraneuronálne telieska. Mechanizmus, ktorý spúšťa abnormálnu agregáciu uvedených proteínov, nie je jasný. Iniciálnym spoločným krokom je konverzia natívneho proteínu z jeho pôvodnej alfa-špirálovej formy na toxickú fibrilárnu beta-formu, ktorá je náchylná k agregácii [1]. Pre Parkinsonovu

chorobu sú typické tzv. Lewyho telieska, ktoré sa postupne objavujú v rôznych oblastiach mozgu. Braak et al rozdelili tento proces do šiestich štádií s postihnutím vzostupne od predĺženej miechy až po neocortex [2]. Hlavnou štruktúrnou súčasťou Lewyho teliesok je modifikovaný alfa-synukleín [3]. Bol pozorovaný pri sporadickej, aj pri familiárnej forme ochorenia [4]. Fyziologická funkcia alfa-synukleínu nie je úplne jasná, ale zdá sa, že sa podieľa na udržiavaní synáps a ich plasticity. Nadmerná expresia zmutovaného alfa-synukleínu je pre dopaminergné neuróny toxická, obzvlášť indukciou apoptózy [5,6] prostredníctvom oxidatívneho stresu, mitochondriálnej dysfunkcie a alterácie bunkového transportu [7].

Ubiquitín-proteazómový systém (UPS) spolu so chaperonmi a lyzozómami funguje ako odstraňovač zmutovaných, poškodených či iným spôsobom nepotrebných intracytoplazmatických proteínov [8]. Pri prekročení kapacity UPS nadmernou produkciou nežiaducich proteínov vzniká tzv. proteolytický stres, dochádza k akumulácii a agregácii týchto proteínov, čoho dôsledkom môže byť poškodenie rôznych bunkových funkcií a spustenie apoptózy. Mutácie v génoch kódujúcich alfa-synukleín, parkin (ubiquitin ligáza) a UCH-L1 (ubiquitin carboxyl-terminal esterase L1) boli pozorované u familiárnej formy PCh a sú spojené s proteolytickým stresom [9]. U pacientov so sporadickou PCh sa zistil defekt v proteazóme, ktorý pozostával z redukcie alfa-subjednotky ako stavebnej zložky, ako i z poruchy regulačnej a proteolytickej aktivity proteazómu. Proteolytický stres je významným patogenetickým prvkom pri oboch formách PCh [9,10].

Mitochondriálna dysfunkcia

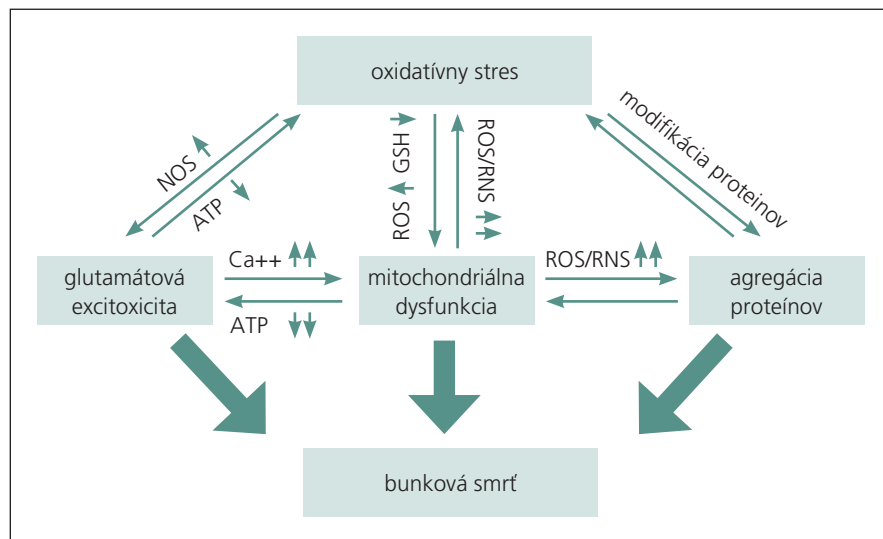
Starnutie je najdôležitejší rizikový faktor pre mnohé neurodegeneratívne ochorenia. V CNS je starnutie asociované so zvýšeným počtom mutácií mitochondriálnej DNA (mtDNA), s defektami v mitochondriálnom dýchacom reťazci [11]. Mitochondrie majú esenciálnu úlohu v bioenergetike, ich prostredníctvom sa vyrobí až 90 % ATP určených pre zásoby bunky. Sú jedinečné tým, že majú na rozdiel od ostatných živočíšnych organel svoj vlastný genóm (mtDNA). MtDNA je vysoko polymorfna a viac náchylná na mutácie v porovnaní s nukleárnou DNA (nDNA), pri-

čom somatické mutácie sa akumulujú v mtDNA 17krát rýchlejšie ako v nDNA. Je to spôsobené tým, že mtDNA je viac exponovaná oxidatívne stresu. V dospelom veku je zmutovaných až 90 % mtDNA [12].

Parkinsonizmus ako taký je spojený s viacerými mtDNA mutáciami. Posledné štúdie dokázali, že v substantia nigra starších subjektov sa akumuluje až 45 % zmutovanej mtDNA. Toto množstvo je ešte vyššie u pacientov s PCh [13]. Zdá sa, že táto akumulácia deletovanej mtDNA je špecifická len pre nigrálne neuróny a mutácie mtDNA by mohli byť zodpovedné za sporadickú formu PCh [11]. U pacientov s familiárnou PCh boli detekované mutácie troch génov kódujúcich mitochondriálny proteín PINK1 a dvoch proteínov asociovaných s mitochondriálnou funkciou [14].

Podrobnejší výskum významu mitochondriálnej dysfunkcie v patogenéze sporadickej PCh sa začal po náhodnom objave, že environmentálne toxíny spôsobujúce parkinsonizmus-MPTP (1-metyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridín) a rotenon inhibujú komplex I dýchacieho reťazca mitochondrií (ETC, OXPHOS). Ich neurotoxicita spočíva v navodení oxidatívneho stresu [15].

Mitochondriálna dysfunkcia má rozhodujúcu úlohu v aktivácii kaspáz sprostredkujúcich proces apoptózy. Poškodením ich dýchacieho reťazca vzniká porucha energetického metabolizmu, čo vedie k deficitu ATP. Deficit ATP spôsobuje dysfunkciu glutamátových transportných systémov a vedie k akumulácii glutamátu. Pri jeho nadmernej aktivite dochádza k excesívnej aktivácii jeho receptorov, čo vedie k prolongovanému otvoreniu iónových kanálov a vstupu Na⁺ do postsynaptických neurónov. Prostredníctvom priamej aktivácie AMPA (3-OH-5metylisoxazol-4-propionát) a NMDA (N-metyl D-aspartát) receptorov, alebo nepriamou aktiváciou VDCC (na voltáži závislé Ca²⁺ kanálov), tak glutamát zapríčini nadmerný influx Ca²⁺ do cytozolu bunky. Navyše glutamát stimuláciou metabotropických receptorov spolu s GTP-viažucim proteínom Gq11 spustí uvoľnenie IP3 (inozitol trifosfát), ktoré aktivuje Ca²⁺ kanály v ER (endoplazmatickom retikule). Aktivujú sa Ca²⁺ závislé enzýmy (proteínkináza, proteázy, fosfolipázy a pod.) a spustí sa kruh reakcií sprostredkovaných mitochondriálnou dysfunkciou



Obr. 1. Vzťah medzi oxidačným stresom a ostatnými procesmi zahrnutými v neurodegenerácii a zániku neurónov [1].

a oxidatívnym stresom (obr. 1). Konečným výsledkom je apoptóza a zánik buniek. Z terapeutického hľadiska sa nádejou zdá byť používanie antagonistov receptorov AMPA, NMDA a VDCC, ktoré sa v in vitro štúdiách ukázali byť efektívne v ochrane neurónov CNS pred glutamátovou excitotoxicitou [1,16].

Oxidatívny stres

Úloha oxidatívneho stresu v patogenéze neurodegeneratívnych ochorení ako PCh sa v súčasnosti považuje za kľúčovú [17]. Oxidatívny stres bol prvým patogenetickým faktorom, o ktorom sa uvažovalo v priamej súvislosti s degeneráciou dopaminergných neurónov. Post mortem analýzami substantia nigra pacientov s Parkinsonovou a Alzheimerovou chorobou a pre mortem štúdiami likvoru, plazmy, séra a moču boli detekované oxidatívne modifikované produkty nukleových kyselín (napr. 8-hydroxydeoxyguanozín-8-OHdG, 8-hydroxyguanozín-8-OHG) a proteínov (napr. 3-nitrotyrozin, karboxylové proteíny), ako i produkty lipidovej peroxidácie (napr. malonaldehyd) a glykoxidácie (napr. karboxymetyl-lyzín). Zároveň boli v dopaminergných neurónoch týchto pacientov zistené vyššie hladiny železa (prooxidant) a redukovaná hladina glutationu (hlavný antioxidant CNS). Všetko sú to dnes už známe potenciálne markery oxidatívneho stresu [18,19].

Je známe, že voľné radikály vznikajú pri využívaní kyslíku mitochondriami ako konečného príjemcu elektrónov. Mito-

chondriálny oxidatívny metabolizmus je významným potenciálnym zdrojom vnútrobunkových voľných radikálov. Ďalšími zdrojmi sú metabolizmus oxidu dusičného a fosfolipidov, ako i proteolytické dráhy a kovové ióny.

Mozog je zvlášť citlivý na pôsobenie oxidatívneho stresu. Je to spôsobené tým, že v mozgu je vysoká spotreba kyslíka (až 20 % celkovej spotreby organizmu) a jeho lipidové bunkové membrány obsahujú veľa nenasýtených mastných kyselín, ktoré rýchlo podliehajú lipidovej peroxidácii. Navyše antioxidantné enzýmy sú tu prítomné v nižšej miere [20].

Príčinou oxidatívneho stresu v dopaminergných neurónoch a ich následnej selektívnej straty u pacientov s PCh môže byť aj samotný dopamín. Jeho deamináciou prostredníctvom monoaminoxidázy (MAO) ako vedľajší produkt vzniká peroxid vodíka. Navyše v priebehu vzniku neuromelanínu v nigrálnych bunkách dochádza k oxidácii dopamínu až na 6-OHDA (6-hydroxydopamín), známy neurotoxin [21].

Viacere štúdie zaoberajúce sa úlohou oxidatívneho stresu v patogenéze Parkinsonovej choroby poukazujú na zvýšenú koncentráciu dvoch hlavných produktov oxidatívneho odbúrania nukleových kyselín (DNA, RNA) v substantia nigra, a to 8-OHdG a 8-OHG. Vznikajú hydroxyláciou deoxyguanozínu a guanozínu vysoko reaktívnymi voľnými kyslíkovými radikálmi [22,23]. Spomedzi viacerých produktov nukleozidovej oxidácie dominujú a najlep-

šie vystihujú oxidované formy DNA/RNA práve 8-OHdG a 8-OHG [24]. Ich vyššie hladiny boli (metodika ELISA –enzymaticky viazaná imunisorbentná assay) zistené v plazme, sére i likvore pacientov s PCh [25–27]. Dokonca sa zistilo, že hladinu 8-OHdG je možné vyšetrovať i v moči, pričom stúpa so progresiou ochorenia. Preto sa vyšetrovanie tohto markera v moči potenciálne javí ako dobre využiteľné na zhodnotenie progresie Parkinsonovej choroby [28]. 8-OHG sa zase zdá byť vhodným markerom pre stanovenie začiatku ochorenia alebo konverzie z prodromálneho do skorého štádia ochorenia. Zistilo sa totiž, že oxidácia RNA je typická pre vulnérabilné neuróny práve vo včasných štádiách [19]. Z hľadiska možnej identifikácie rizikových jednotlivcov či odhalenia ochorenia vo včasnom štádiu, ako i potenciálnej neuroprotektívnej terapeutickú intervencie je potrebný ďalší výskum.

Kalcium (Ca²⁺) a selektívna vulnérabilita dopaminergných neurónov

V priebehu starnutia organizmu dochádza v dôsledku produktov energetického metabolizmu akumulujúcich sa vekom a oxidatívneho stresu k dysregulácii Ca²⁺ homeostázy. Neurodegeneratívne ochorenia asociované s vekom, ako PCh, sú charakterizované pozitívnou spätnou väzbou medzi Ca²⁺ dyshomeostázou a agregáciou pre dané ochorenie špecifických proteínov [29].

Excitotoxicita a excesívna Ca²⁺ indukovaná produkcia voľných radikálov dusíka (RNI) sa považuje za jednu z príčin zániku dopaminergných neurónov [16,30].

Čo je presnou príčinou vulnérability dopaminergných neurónov, zatiaľ nie je jasné. Mohla by to byť aj ich závislosť na Ca²⁺ kanáloch, vďaka ktorým si udržiavajú svoju autonómnú aktivitu podobnú aktivite pacemakerových buniek v myokarde, ktorá je sprostredkovaná subjednotkou Cav 1,3 L-typu kalciových kanálov. Dopaminergné neuróny vďaka tomu vytvárajú spontánne akčné potenciály s frekvenciou 2–4 Hz. Koncentrácia kalcia v extracelulárnom prostredí je 10 000krát vyššia ako v intracelulárnom, a tak kalcium vďaka tomuto gradientu prúdi do bunky práve cez L-typ kanálov. Z buniek musí byť „pumpovaný von“ prostredníctvom pomalých ATP-dependentných transportérov. Tento

jav prebieha u väčšiny neurónov zriedka (ak sa vytvorí krátký akčný potenciál), v dopaminergných neurónoch sú však Ca^{2+} kanály otvorené skoro stále. Z toho vyplýva jednak vysoká spotreba ATP, jednak vyššia koncentrácia Ca^{2+} v dopaminergných neurónoch. Vzhľadom na závislosť L-typu kanálov od ATP a zníženej funkcie mitochondrií v priebehu starnutia, dopaminergné neuróny starnú rýchlejšie o 5–10 % v porovnaní s ostatnými neurónmi. Podľa tejto hypotézy by sa PCh vyvinula u každého jedinca s dostatočnou dĺžkou života. Nie je tomu tak vďaka určitým individuálnym rozdielom vychádzajúcim z genetických mutácií alebo polymorfizmu, ktoré modifikujú efektivitu dýchacieho reťazca mitochondrií, ako i mieru a produkciu voľných radikálov kyselika. Bližšie objasnenie vulnerability dopaminergných neurónov vo vzťahu Ca^{2+} by mohlo viesť k efektívnej neuroprotektívnej liečbe. V súčasnosti sa uvažuje najmä o využití selektívnych blokátorov L-typu kalciových kanálov [30].

Železo a kovové ióny vo vzťahu k Parkinsonovej chorobe

Zvýšená hladina železa v patologicky relevantných oblastiach mozgu a železom mediovaný oxidatívny stres zohrávajú pravdepodobne ústrednú úlohu v etiopatogenéze mnohých neurodegeneratívnych ochorení [31].

Post mortem štúdiami pacientov s PCh sa zistili vysoké hladiny železa v pars compacta substantia nigra asociované s degeneráciou nigrálnych neurónov, ktoré stúpali so závažnosťou neuropatologických zmien [32]. Toto zistenie podporili intravitam štúdie pomocou MR [33] a transkraniálnej sonografie [34,35]. Odhaduje sa, že toto zvýšenie je okolo 30–35 % v porovnaní so zdravou populáciou [36]. Prítomnosť samotná miera jeho zvýšenia nie je podstatná, pretože už hraničné zvýšenie železa v substantia nigra spustí Fentonovu reakciu potencujúcu neurodegeneráciu [37].

Vulnerabilita dopaminergných neurónov substantia nigra je asociovaná s neuromelanínom (NM), ktorý má v mozgu protektívnu úlohu proti oxidatívne mu stresu. Funguje ako chelát, no pri elevácii hladiny železa v mozgu nadobúda cytotoxický charakter, čo v konečnom dôsledku vedie k apoptóze. Je možné, že vývojom terapeutických agensov-chelátov, bude

možné lepšie modifikovať priebeh ochorenia [18,31].

Zápal, aktivácia mikrogliie

Mikrogliia v mozgovom tkanive za normálnych okolností plní neuroprotektívnu funkciu, ale pri nepriaznivých stimuloch prispieva ku škodlivej chronickej inflamácii, a zhoršuje tak samotný proces neurodegenerácie. V substantia nigra, bazálnych gangliách a mozgovom kmeni pacientov s PCh sa našlo veľké množstvo reaktívnych astrocytov a mikrogliie. Význam zápalového procesu v neurodegenerácii podporili epidemiologické štúdie, ktorých záver jednoznačne ukázal nižší výskyt PCh u chronických užívateľov protizápalových liekov [38,39].

Pri PCh bola pozorovaná aktivácia mikrogliie, napr. agregovaným alfa-synukleínom či inými látkami produkovanými v poškodených dopaminergných neurónoch (chromogranín A, metaloproteáza 3). V súčasnosti sa zvažuje úloha extraneuronálneho melanínu ako aktivátora mikrogliózy, pretože sa zistilo, že pridaním humánneho neuromelanínu (NM) do mikrogliálnej kultúry sa v nej indukuje uvoľňovanie prozápalových mediátorov. V súlade s týmto nálezom je i fakt, že práve dopaminergné neuróny obsahujúce NM sú predominantne postihnuté zápalom [38]. U pacientov s idiopatickou PCh sa našli nerozpustné extraneuronálne NM granule uvoľnené zo SN po zániku neurónov, ktoré môžu zostať v extracelulárnom priestore po dlhý čas, a neustále tak aktivovať mikrogliu a produkciu neurotoxických látok [36]. Mikrogliálna aktivácia vedie k zvyšovaniu voľného železa v bunkách, a zvyšuje tak riziko železom indukovaného oxidatívneho stresu.

Na základe týchto skutočností sa črtajú ďalšie terapeutické možnosti, či už blokovaním inflamácie alebo ovplyvnením rovnováhy medzi pro- a protizápalovými súčastami tohto procesu [39,40].

Kyselina močová

Kyselina močová je antioxidant a chelátor železa. Na základe viacerých štúdií sa u pacientov s PCh, obzvlášť u žien, zistila nízka hladina kyseliny močovej v plazme, ktorá sa v súčasnosti pokladá za rizikový faktor vzniku ochorenia [41–43]. Jej deficit v plazme a moči dokonca súvisí s kognitívnym postihnutím (znížený neuropsychologický výkon), ktoré je u pacientov s PCh

častým javom korelujúcim so štádiom ochorenia [44]. Predpokladá sa, že nízke hladiny kyseliny močovej v plazme reflektujú jej nízku intracelulárnu koncentráciu v mozgovom tkanive, vrátane substantia nigra. Z vyššie uvedeného vyplýva, že pri malom množstve urátu je nižšia i jeho chelátová kapacita, čo v konečnom dôsledku exponuje dopaminergné neuróny toxickému efektu voľného železa [41].

Apoptóza

Apoptóza je predominantnou formou bunkovej smrti pri chronických neurodegeneratívnych ochoreniach ako PCh. Hlavnými „katmi“ v procese apoptózy sú kaspázy – proteolytické enzýmy, ktoré existujú vo forme latentných prekursorov a sú aktivované rôznymi signálmi. V aktivovanom stave iniciujú programovanú smrť ničením kľúčových komponentov infraštruktúry bunky. Navyše aktivujú ďalšie mediátory tohto ničivého programu. Kaspázy teda priamo i nepriamo organizujú morfologické zmeny buniek v priebehu apoptózy [45].

V nigrálnych neurónoch pacientov s PCh bola detekovaná zvýšená expresia pro-apoptotického faktora p53, ako i ďalších bunkových signálov asociovaných s apoptózou (BAX a kaspáza 3) [46,47]. Induktorom apoptózy v dopaminergných neurónoch (za experimentálnych podmienok) môže byť každý jeden z vyššie uvedených patogenetických faktorov implikovaných v PCh [48].

Záver

Široký výskum v oblasti mechanizmov neurodegenerácie, obzvlášť oxidatívneho stresu, otvoril dvere novým diagnostickým a terapeutickým možnostiam. Ak sa definitívne potvrdí význam vyšetrovania jeho markerov, bude možné v kooperácii s ostatnými vyšetrovacími metódami zdiagnostikovať už presymptomatických pacientov či dokonca rizikových jedincov. Zároveň prináša nové podnety do vývoja účinnej neuroprotektívnej liečby.

Literatúra

1. Sarkar KP. Degeneration and death of neurons in adult neurodegenerative diseases. *Current Science* 2005; 89(5): 764–773.
2. Braak H, Del Tredici K, Bratzke H, Hamm Clement J, Sandmann-Keil D, Rub U. Staging of intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). *J Neurol* 2002; 249 (Suppl 3): 1–5.
3. Giasson BI, Duda JE, Murray IV, Chen Q, Souza JM, Hurtig HI et al. Oxidative damage linked to neuro-

- degeneration by selective alpha-synuclein nitration in synucleopathy lesions. *Science* 2000; 290(5493): 985–989.
4. Mezey E, Dehija AM, Harta G, Tresser N, Suchy SF, Nussbaum RL et al. Alpha synuclein is present in Lewy bodies in sporadic Parkinson's disease. *Mol Psychiatry* 1999; 3(6): 4–197.
 5. Zhou W, Hurlbert MS, Schaack J, Prasad KN, Freed CR. Overexpression of human alpha-synuclein causes dopamine neuron death in rat primary culture and immortalized mesencephalon-derived cells. *Brain Res* 2000; 866(1–2): 33–43.
 6. Lee M, Hyun D, Halliwell B, Jenner P. Effect of the overexpression of wild-type or mutant alpha-synuclein on cell susceptibility to insult. *J Neurochem* 2001; 76(4): 998–1009.
 7. Wetzel BE, Schwarzenbacher R, Lipton SA. Molecular pathways to neurodegeneration. *Nat Med* 2004; 10 (Suppl): S2–S9.
 8. Goldberg AL. Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins. *Nature* 2003; 426(6968): 895–899.
 9. Olanow CW. The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease – 2007. *Mov Disord* 2007; 22 (Suppl 17): S335–S342.
 10. McNaught KS, Belizaire R, Isacson O, Jenner P, Olanow CW. Altered proteosomal function in sporadic Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2003; 179(1): 38–46.
 11. Fukui H, Moraes CT. The mitochondrial impairment, oxidative stress and neurodegeneration connection: reality or just attractive hypothesis? *Trends Neurosci* 2008; 31(5): 251–256.
 12. Maruszak A, Gaweda-Walerych K, Softyszewski J, Zekanovsky C. Mitochondrial DNA in pathogenesis of Alzheimer's and Parkinson's disease. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2006; 66: 153–176.
 13. Bender A, Krishnan KJ, Morris CM, Taylor GA, Reeve AK, Perry RH et al. High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson's disease. *Nat Genet* 2006; 38(5): 515–517.
 14. Beal MF. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Ann Neurol* 2005; 58(4): 495–505.
 15. Sherer TB, Betabert R, Stout AK, Lund S, Baptista M, Panov AV, Cookson MR, Greenamyre JT. An in vitro model of Parkinson's disease: linking mitochondrial impairment to altered alpha-synuclein metabolism and oxidative damage. *J Neurosci* 2002; 22(16): 7006–7015.
 16. Mattson M. Calcium and neurodegeneration. *Aging Cell* 2007; 6: 337–350.
 17. Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* 2006; 443(7113): 787–795.
 18. Gaeta A, Hider R. The crucial role of metal ions in neurodegeneration: the basis for a promising therapy. *Br J Pharmacol* 2005; 146(8): 1041–1059.
 19. Nunomura A, Moreira PI, Takeda A, Smith MA, Perry G. Oxidative RNA damage and neurodegeneration. *Curr Med Chem* 2007; 14(28): 2968–2975.
 20. Mariani E, Polidori MC, Cherubini A, Mecocci P. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005; 827(1): 65–75.
 21. Mancuso M, Coppede F, Migliore, Siciliano G, Murri L. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neurodegeneration. *J Alzheimers Dis* 2006; 10: 59–73.
 22. Kasai H, Crain PF, Kuchino Y, Nishimura S, Ootsuyama TH. Formation of 8-hydroxyguanine moiety cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair. *Carcinogenesis* 1986; 7(11): 1849–1851.
 23. Zhang, J, Perry G, Smith MA, Robertson D, Olson SJ, Graham DG, Montine TJ. Parkinson's disease is associated with oxidative damage to cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons. *Am J Pathol* 1999; 154(5): 1423–1429.
 24. Wamer WG, Wei RR. In vitro photooxidation of nucleic acids by ultraviolet A radiation. *Photochem Photobiol* 1997; 65(3): 560–563.
 25. Kikuchi A, Takeda A, Onodera H, Kimpara T, Kinya H, Sato N et al. Systemic increase of oxidative nucleic acid damage in Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Neurobiol Dis* 2002; 9(2): 244–248.
 26. Migliore L, Petrozzi L, Lucetti C, Gambaccini G, Bernardini S, Scarpato R et al. Oxidative damage and cytogenetic analysis in leukocytes of Parkinson's disease patients. *Neurology* 2002; 58(12): 1809–1815.
 27. Bogdanov M, Matson WR, Wang L, Matson T, Saunders-Pullman R, Bressman SS et al. Metabolomic profiling to develop blood biomarkers for Parkinson's disease. *Brain* 2008; 131(2): 389–396.
 28. Sato S, Mizuno Y, Hattori N. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine levels as a biomarker for progression of Parkinson disease. *Neurology* 2005; 64(6): 1081–1083.
 29. Wojda U, Salinska E, Kuznicki J. Calcium ions in neuronal degeneration. *IUBMB Life* 2008; 60(9): 575–590.
 30. Surmeier DJ. Calcium, ageing, and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2007; 6(10): 933–938.
 31. Berg D, Youdim BH. Role of iron in neurodegenerative disorders. *Top Magn Reson Imaging* 2006; 17(1): 5–17.
 32. Salazar J, Mena N, Núñez MT. Iron dyshomeostasis in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 2006; 71: 205–213.
 33. Martin WR, Wieler M, Gee M. Midbrain iron content in early Parkinson disease. *Neurol* 2008; 70(16): 1411–1417.
 34. Walter U, Wittstock M, Benecke R, Dressler D. Substantia nigra echogenicity is normal in non-extrapyramidal cerebral disorders but increased in Parkinson's disease. *J Neural Trans* 2002; 109(2): 191–196.
 35. Berg D, Roggendorf W, Schröder U, Klein R, Tatschner T, Benz P et al. Echogenicity of the substantia nigra: association with increased iron content and marker for susceptibility to nigrostriatal injury. *Arch Neurol* 2002; 59(6): 999–1005.
 36. Zecca L, Zucca FA, Wilms H, Sulzer D. Neuromelanin of the substantia nigra: a neuronal black hole with protective and toxic characteristics. *Trends Neurosci* 2003; 26(11): 578–580.
 37. Galazka-Friedman J, Friedman A. Controversies about iron in parkinsonian and control substantia nigra. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 1997; 57(3): 217–225.
 38. Wilms H, Zecca L, Rosenstiel P, Sievers J, Deuschl G, Lucius R. Inflammation in Parkinson's disease: cause and therapeutic implications. *Curr Pharm Des* 2007; 13(18): 1925–1928.
 39. McGeer PL, McGeer EG. Glial reactions in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2008; 23(4): 474–483.
 40. Streit WJ, Miller K, Lopes KO, Njie E. Microglial degeneration in the aging brain-bad for neurons? *Front Biosci* 2008; 13: 3423–3438.
 41. Annamaki T, Muuronen A, Murros K. Low plasma uric acid level in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2007; 22(8): 1133–1137.
 42. de Lau LM, Koudstaal PJ, Hofman A, Breteler MM. Serum uric acid levels and the risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2005; 58(5): 797–800.
 43. Nan H, Qiao Q, Dong Y, Gao W, Tang B, Qian R et al. The prevalence of hyperuricemia in a population of the coastal city of Qingdao, China. *J Rheumatol* 2006; 33(7): 1346–1350.
 44. Annamaki T, Pessala-Driver A, Hokkanen L, Murros K. Uric acid associates with cognition in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2008; 14(7): 576–578.
 45. Friedlander RM. Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *N Eng J Med* 2003; 384(14): 1365–1375.
 46. Nair VD, McNaught K, St P, Gonzales-Maeso J, Sealson SC, Olanow CW. p53 mediates nontranscriptional cell death in dopaminergic cells in response to proteasome inhibition. *J Biol Chem* 2006; 281: 39550–39560.
 47. Tatton WG, Chalmers-Redman R, Brown D, Tatton N. Apoptosis in Parkinson's disease: signals for neuronal degeneration. *Ann Neurol* 2003; 53 (Suppl 3): S61–S70.
 48. Tatton WG, Olanow CW. Apoptosis in neurodegenerative disease: the role of mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1410(2): 195–213.