

Posible contribución del paraquat al desarrollo de la enfermedad de Parkinson

Elena-Real CA, Pasión-Galván R, Pérez-Artés MR, Puerto M, Moreno I*.

Área de Toxicología de la Universidad de Sevilla. Facultad de Farmacia. C/Profesor García González nº2, 41012, Sevilla.

Resumen: La enfermedad de Parkinson (PD) es una de las enfermedades neurodegenerativas más comunes relacionadas con la edad que afecta a millones de personas en todo el mundo. Existen pruebas sólidas que apoyan el papel de los radicales libres, estrés oxidativo, disfunción mitocondrial y agregación de proteínas en el mecanismo de acción tóxica y muerte neuronal en la PD. Los factores ambientales, especialmente, los plaguicidas constituyen uno de los principales grupos de agentes neurotóxicos asociados a la PD. La toxicidad de los plaguicidas ha sido claramente demostrada, siendo capaces de alterar una gran variedad de funciones neurológicas. En particular, existe una fuerte evidencia que sugiere que la exposición a estas sustancias predispone a ciertas enfermedades neurodegenerativas (esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, etc.). De hecho, los estudios epidemiológicos han sugerido una relación entre la exposición a determinados plaguicidas y la neurodegeneración cerebral. Cabe destacar la relación observada entre Paraquat (PQ) y la PD en estudios experimentales con roedores en los que se observan lesiones en la *substancia nigra pars compacta*. Sin embargo, los resultados de los estudios epidemiológicos no son definitivos en este sentido, haciéndose necesario llevar a cabo más estudios de este tipo, que estén bien diseñados para poder llegar a una conclusión firme a la hora de relacionar la exposición a PQ y la PD. En esta revisión se analizan críticamente los estudios que tratan de relacionar al PQ en el parkinsonismo, con énfasis en los mecanismos asociados con la inducción de muerte celular neuronal por esta sustancia.

Palabras clave: Paraquat, enfermedad de Parkinson, estrés oxidativo, neurotoxicidad

Abstract: Possible contribution of paraquat to the development of Parkinson disease. Parkinson's disease (PD) is one of the most common age related neurodegenerative diseases and affects millions of people worldwide. Strong evidence supports the role of free radicals, oxidative stress, mitochondrial dysfunctions and protein aggregation underlying neuronal death in PD. Environmental factors, especially pesticides represent one of the main groups of neurotoxic agents associated with PD. Pesticide toxicity has been clearly demonstrated to alter a variety of neurological functions. Particularly, there is strong evidence suggesting that pesticide exposure predisposes to neurodegenerative diseases (amyotrophic lateral sclerosis, Huntington's disease, etc.). Indeed, epidemiological data have suggested a relationship between pesticide exposure and brain neurodegeneration. Highlighting the observed relationship between paraquat (PQ) and PD in experimental studies with rodents in which lesions are seen in the *substantia nigra pars compacta*. However, the results of epidemiological studies are not conclusive in this regard,

making it necessary to design further epidemiological studies to reach evidences in linking exposure to PQ and PD. In this paper, we analyze critically studies attempting to relate the PQ in Parkinsonism, with emphasis on the mechanisms associated with the induction of neuronal cell death by this substance.

Keywords: Paraquat, Parkinson disease, oxidative stress, neurotoxicity

Introducción

La neurodegeneración se describe como la pérdida de la estructura y funcionalidad neuronal. Hay un gran número de enfermedades neurológicas neurodegenerativas. Las causas de la mayoría de estas enfermedades son desconocidas, pero desde hace algún tiempo se relaciona la posible exposición a ciertos tóxicos como agentes causales de las mismas [1]. Dentro de estos agentes causales, podemos destacar ciertos estudios que relacionan la exposición a plaguicidas con alguna de las más importantes enfermedades neurodegenerativas. Así, se ha relacionado la esclerosis lateral amiotrófica con la exposición combinada a plaguicidas organoclorados, organofosforados y disolventes orgánicos [2], observándose esta relación también en el caso de exposición individual a plaguicidas como los organofosforados o los piretroides [3]. La exposición a plaguicidas como la rotenona se ha asociado a un aumento de la agregación de la proteína mutante huntingtina característica de la enfermedad de Huntington [4]. La enfermedad de Parkinson (PD) es una enfermedad neurodegenerativa crónica multifactorial progresiva influenciada por la edad, y por factores genéticos y ambientales [5]. Alrededor del 5-10% de los casos están causados por mutaciones monogenéticas, pero el resto son de etiología desconocida [6]. Dentro de los factores ambientales cabe destacar la exposición a plaguicidas. La toxicidad de éstos ha sido claramente demostrada, incluyéndose evidencias de un aumento en el riesgo de padecer cáncer o enfermedades neurodegenerativas tras una exposición prolongada a estas sustancias [7]. Estudios llevados a cabo en animales han sugerido la posible relación entre la exposición a ciertos plaguicidas y un incremento del riesgo a padecer la PD [8]. Los estudios epidemiológicos sin embargo no son concluyentes en este sentido [9, 10] aunque se ha observado una posible relación entre plaguicidas tales como el maneb, rotenona y paraquat con la PD [7]. La exposición al fungicida maneb se ha asociado a la inducción de estrés oxidativo y esta enfermedad, además se ha comprobado que es capaz de exacerbar la toxicidad de otros agentes en modelos animales, como le ocurre al paraquat (PQ) [6, 7]. El insecticida de amplio espectro rotenona por su lado actúa induciendo la apoptosis y también se ha relacionado con la PD; en concreto se ha observado como tras una administración subcutánea en un estudio crónico

* e-mail: imoreno/us.es

realizado en ratas se inducía un síndrome parkinsoniano con destrucción selectiva de neuronas dopaminérgicas [6, 7]. El parecido estructural del PQ al 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺) indujo a pensar en el potencial neurotóxico de este plaguicida ya que podría tener un mecanismo de acción tóxica parecido al del 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), provocando una degeneración celular similar a la que ocurre en la PD [11]. Los estudios experimentales con animales demostraron su capacidad de causar degeneración de neuronas dopaminérgicas, confirmándose este hecho con ciertos estudios epidemiológicos [6, 7]. Wang y col. [8] fueron los primeros en sugerir que una exposición conjunta a ciertos plaguicidas (PQ, maneb y ziram) aumentaba el riesgo de sufrir Parkinson frente a exposiciones individuales a cualquiera de ellos o en combinaciones de dos tras un estudio epidemiológico. Tanner y col. [12] llevaron a cabo un estudio de caso-control para buscar la relación entre la exposición a plaguicidas capaces de producir estrés oxidativo y disfunción mitocondrial y la PD. La conclusión a la que llegan es que sólo la rotenona y el PQ pueden asociarse de forma positiva a esta enfermedad. Posteriormente Mandel y col. [13] revisan algunos de los estudios epidemiológicos realizados en los últimos años que trataban de relacionar plaguicidas con PD, llegando a la conclusión de que se requieren de nuevos estudios epidemiológicos mejor diseñados y con más individuos expuestos para poder llegar a conclusiones más definitivas.

Patología y etiología de la enfermedad de Parkinson

La PD es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que completamente desarrollada abarca síntomas motores como temblor, rigidez, bradicinesia, hipocinesia, e incapacidad de reflejo postural. La característica común de la PD es la degeneración de la conexión neuronal entre la *substantia nigra* (SN) y el cuerpo estriado, dos regiones del cerebro esenciales en el mantenimiento de la función motora normal. El cuerpo estriado recibe su aporte dopaminérgico de las neuronas de la *substantia nigra pars compacta* a través de la vía nigroestriatal. La degeneración progresiva de la vía dopaminérgica nigroestriatal produce una profunda deficiencia de dopamina en el estriado [5]. Esta degeneración selectiva de las neuronas dopaminérgicas en la SN es atribuida a la acumulación de tóxicos y a la agregación de proteínas, disfunción mitocondrial y estrés oxidativo. [14, 15]. El examen histopatológico de cerebros de pacientes con PD revela una pérdida de neuronas del SN, así como la presencia de inclusiones neuronales citoplasmáticas conocidas como cuerpos de Lewy (LBs) en algunas neuronas dopaminérgicas supervivientes. Un componente importante de los LBs es la proteína α -sinucleína, de hecho los LBs parecen derivar de una agregación de α -sinucleína [16].

Son considerables las evidencias que sugieren una etiología multifactorial para la PD, con la participación de factores genéticos y ambientales. Los estudios epidemiológicos revelan que menos del 10% de la PD tienen una etiología estrictamente familiar, mientras que el resto de casos son esporádicos. En las formas familiares o hereditarias se ha confirmado la participación de ciertos genes en el desarrollo de la enfermedad, en concreto ocho genes en los que cabe destacar el PARK1 o gen α -sinucleína [15]. Con respecto a los factores ambientales se han identificado numerosos agentes causales, ya sea en la modulación de la aparición de la enfermedad y/o en su progresión. Se ha demostrado la capacidad de producir daño nigroestriatal de varios agentes ambientales, lo que podría contribuir a la PD inducida por estos agentes, a saber: (i) metales (ii) disolventes y (iii) monóxido de carbono. Además a partir de ciertos estudios epidemiológicos se ha asociado un incremento del riesgo de

desarrollar PD con una serie de plaguicidas incluyendo el PQ [5]. Sin embargo, existe una gran controversia en este sentido, ya que hay autores para los que esta relación observada en los estudios epidemiológicos no es concluyente [17]. Esto es debido principalmente a que para llevar a cabo un estudio epidemiológico es necesario tener en cuenta los posibles sesgos que se puedan producir, así como los factores que puedan favorecer confusiones. Además es muy importante definir adecuadamente la duración y el alcance de la exposición al plaguicida, consideraciones de las cuales a menudo no se tienen registros [11].

Los primeros estudios epidemiológicos trataron de dilucidar una posible relación entre tóxicos como el PQ y enfermedades neurodegenerativas. Por ejemplo Engel y col. [18] consideraron la relación entre la exposición a plaguicidas de 310 horticultores que mostraban algunos síntomas del parkinsonismo. Concluyeron que el parkinsonismo podría estar asociado con el uso a largo plazo de distintos plaguicidas, pero sin relacionarlo con ninguno en particular. El debate sobre una posible asociación entre el PQ y el Parkinson recibió una mayor atención tras un estudio llevado a cabo en Taiwan entre 1993 y 1995. En él se observaron 120 pacientes de Parkinson, y 240 individuos controles expuestos a plaguicidas. La conclusión a la que se llegó fue que la exposición a PQ y otros plaguicidas suponía un mayor riesgo de sufrir PD. Uno de los sesgos de este estudio fue la obtención de la información del uso de herbicidas/plaguicidas a través de los propios pacientes, por lo que la rigurosidad de los datos fue baja [19]. Tras una revisión de los estudios epidemiológicos llevados a cabo hasta la fecha, Berry y col. [17] concluye que en ninguno de ellos se constata la asociación específica entre PQ y PD. Afirmación con la que coinciden posteriormente Mandel y col. [13] los cuales vuelven a revisar de forma exhaustiva los estudios epidemiológicos publicados, concluyendo que es necesario estudios complementarios con una mejor base metodológica para llegar a una conclusión definitiva.

En estudios experimentales en ratón se ha observado una relación directa entre la exposición crónica por vía intragástrica a rotenona y la aparición y progresión de una enfermedad que cursa con la misma sintomatología que la PD observada en humanos. En concreto se observó una acumulación y agregación de proteínas α -sinucleína en las áreas del Sistema Nervioso entérico características de la patología de la PD [20]. Estudios posteriores en este mismo modelo animal demostraron que la progresión de la enfermedad era debida a un transporte transneuronal y retrogrado de la α -sinucleína a través de los nervios simpáticos y parasimpáticos y que una escisión de estos nervios sería suficiente para detener dicha progresión de la PD hacia el sistema nervioso central [21]. Sin embargo, aún no se ha definido como hacer la extrapolación de estos resultados experimentales a los efectos que se producirían en el humano, teniendo en cuenta además una posible predisposición genética. Los niveles de exposición humana tanto estimados como los datos disponibles, son significativamente inferiores a los utilizados en los ensayos experimentales, por lo que proporcionan poco apoyo para una relación causal entre la exposición a plaguicidas y el desarrollo de la PD en los seres humanos [22].

Mecanismo de toxicidad del paraquat

El PQ (dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo), es un herbicida que debido a su bajo coste, rápida acción y a sus características medioambientales es uno de los más usados en el mundo [7].

Su mecanismo de acción tóxica radica en ser reducido enzimáticamente, principalmente por la NADPH-citocromo P450

reductasa, la NADH ubiquinina oxidoreductasa (complejo I), la xantina oxidasa (XO), y la óxido nítrico sintetasa (NOS) para formar un radical libre de paraquat (PQ) más NADP^+ . El PQ es rápidamente reoxidado en presencia de O_2 originándose el anión superóxido (O_2^-). Por lo tanto el PQ juega un papel catalítico en este proceso redox, generando O_2^- a expensas de NADPH. Éste a continuación dirige la formación de otras especies reactivas de oxígeno (ROS), principalmente peróxido de hidrógeno (H_2O_2), mediada por la acción de la enzima superóxido dismutasa (SOD), y radical hidroxilo (HO^\bullet) a través de la reacción de Fenton, en presencia de metales (Fe^{++} y Cu^{++}). Estos radicales libres producirán efectos deletéreos en la célula [5] (Fig. 1).

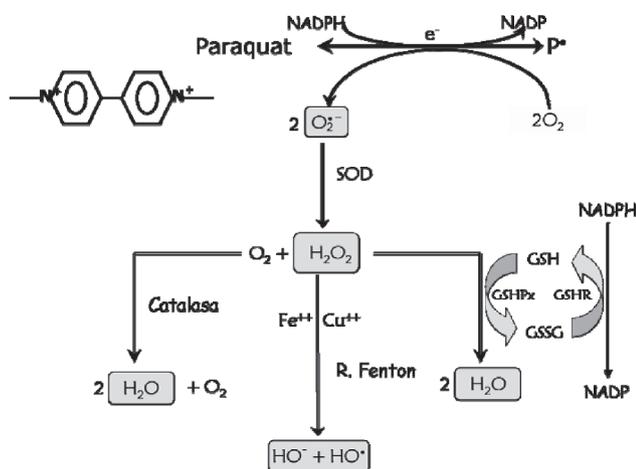


Figura 1: Modelo de acción tóxica del paraquat.

La *intoxicación aguda* por PQ accidental o intencionadamente puede afectar a pulmones, hígado, cerebro, riñones y otros órganos [23]. Independientemente de su ruta de administración en mamíferos, el PQ se distribuye rápidamente por muchos tejidos, siendo en los pulmones y riñón donde se encuentra la mayor concentración. El PQ causa una lesión pulmonar que se agrava por incremento de la concentración de oxígeno en el aire inspirado pudiendo causar la muerte por una lesión aguda pulmonar [24]. El PQ no es absorbido fácilmente en el tracto gastrointestinal, siendo incluso más lenta su absorción a través de la piel. Se ha sugerido que los metabolitos del PQ podrían ser más fácilmente absorbidos que el compuesto original, pero sus identidades y toxicidades se desconocen. El PQ es excretado prácticamente inalterado en la orina, aunque existen controversias en cuanto al grado de metabolización del mismo por la acción de la microflora intestinal. El metabolismo del PQ ocurre vía desmetilación (ion monometil dipiridino) u oxidación (ion paraquat piridino e ion paraquat dipiridino) [7]. La *exposición crónica* a dosis bajas y no neumotóxicas de este herbicida, puede llegar a producir daño en los ganglios basales y se ha sugerido como posible factor etiológico del Parkinson [23]

Efectos neurotóxicos del paraquat

1. Penetración del PQ a través de la barrera hematoencefálica y absorción neuronal

El PQ es una molécula cargada, con una estructura hidrofílica y bajo coeficiente de partición, por lo que no atraviesa fácilmente las membranas. Por lo tanto, es poco probable que la entrada pasiva de PQ a través de la barrera hematoencefálica conduzca a una acumulación significativa del compuesto en el cerebro [5]. Sin

embargo, Shimizu y col. [25] mediante el empleo de técnicas de microdialísis cerebral en ratas demostraron que el PQ se encontraba en el líquido dializado tras una administración por vía subcutánea. Esto les llevó a pensar en una penetración mediada por un sistema de transporte específico, en concreto, el sistema de transporte de aminoácidos neutros como el sistema transportador L (LAT-1), que normalmente transporta los aminoácidos L-valina y L-fenilalanina, y cuya administración se ha demostrado que previene la neurotoxicidad inducida por PQ [25, 26].

Una vez atravesada la barrera hematoencefálica pueden surgir cambios patológicos por las interacciones del PQ con la proteína α -sinucleína, la cual tiene una localización predominantemente presináptica. Se han encontrado mutaciones en el gen que codifica la síntesis de la α -sinucleína (PARK1), entre otras, lo que propicia el desarrollo de la PD formando inclusiones intraneuronales de agregados citoplasmáticos enriquecidos en esta proteína presentes en las neuronas del sistema nervioso central y periférico, los anteriormente mencionados LBs [27,28]. La α -sinucleína es una proteína tóxica, especialmente en sus formas mutantes o en condiciones en que su nivel de expresión se incrementa, en el sentido de que se asocia con una mayor tasa de muerte de células neuronales incluyendo las células dopaminérgicas de la SN. Puede modificarse por truncamiento, nitración, ubiquitinación y fosforilación como por oxidación del catecol [29, 0]. Pueden surgir cambios patológicos de las interacciones de α -sinucleína con factores ambientales como plaguicidas. Se ha demostrado que el PQ induce la agregación de la α -sinucleína y la disfunción del sistema ubiquitina proteasoma y la inducción de daño oxidativo reflejado en una mayor generación de ROS e iniciación de la cascada de caspasas que da lugar a la apoptosis, observándose una relación entre el estrés oxidativo y la toxicidad inducida [31,32]. Otros estudios han mostrado el papel protector de la sobreexpresión de α -sinucleína contra la toxicidad del PQ a través de la regulación positiva de Hsp70 induciendo neurodegeneración [30, 33].

2. Susceptibilidad neuronal al estrés oxidativo inducido por PQ

La selectividad de la toxicidad del PQ se ha evaluado en neuronas del hipocampo donde no causó una reducción del número de células, al igual que en la *pars reticulata*. Es solo en la *pars compacta* donde causa lesiones dopaminérgicas [34]. En comparación con otros tipos de células neuronales, las células dopaminérgicas son mucho más sensibles al daño oxidativo debido a la participación de la dopamina en las reacciones oxidativas [35].

Comparado con las neuronas, se ha demostrado que los astrocitos son más resistentes al estrés oxidativo producido por PQ gracias a la inducción de varios sistemas antioxidantes como la catalasa (CAT). El PQ induce la activación de la microglia, que parece preceder a la neurodegeneración parkinsoniana. Se ha demostrado que bajas concentraciones de PQ son tóxicas para las neuronas sólo en presencia de células de la microglia, las cuales son una fuente de estrés oxidativo a través de la NADPH oxidasa ya que media en la generación de ROS [7]. Recientemente se ha observado que además de la vía del estrés oxidativo, el PQ desencadena una respuesta inflamatoria mediada por la citoquina interferón-gamma que lleva a una destrucción de las neuronas dopaminérgicas de la SN [36].

3. Aumento de los niveles de especies reactivas de nitrógeno (RNS) inducidas por PQ

Es muy común en distintas enfermedades neurodegenerativas que se produzca un mecanismo de toxicidad inducido por la activación del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA), y por tanto asociado a la

entrada de Ca^{2+} en las células mediante la activación de receptores no-NMDA. En especial Beal [37] encontró evidencias de que este tipo de toxicidad juega un rol muy importante en la degeneración progresiva de las neuronas dopaminérgicas en la PD. Dichas evidencias se basan en estudios *in vivo* en ratones sobre los mecanismos de toxicidad mediados por PQ en el cuerpo estriado, que mostraron que el PQ inducía el flujo de salida de glutamato, iniciando así la toxicidad mediada por especies reactivas de nitrógeno (RNS). El mecanismo por el que se produce no está claro del todo, pero se han encontrado ciertas evidencias que muestran que tras la exposición a PQ se activa la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) de las neuronas, y por tanto se produce la despolarización, que está provocada por los canales con receptores NMDA y por la entrada de Ca^{2+} mediada por la activación de los canales no-NMDA. La NOS se activa porque la entrada de Ca^{2+} activa una serie de procesos. Como consecuencia se observó un aumento en los niveles de glutamato extracelular, en relación dosis dependiente del PQ [5].

En definitiva, el proceso está activando a la NOS, que media en la formación del anión peroxinitrito (ONOO^-) al reaccionar con O_2^- , el cual se produce en el ciclo redox generado por el PQ [38]. El ONOO^- el cual tiene un mayor rango de dianas químicas que el óxido nítrico, puede oxidar a proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Además inhibe la función de la enzima SOD, con el consiguiente aumento de los niveles de O_2^- y la formación de mayor cantidad de ONOO^- . Así pues, como consecuencia de esta formación de ONOO^- se puede llegar a la muerte de las neuronas dopaminérgicas. Ambos efectos fueron estudiados por Shimizu y col. [39,40] mediante el tratamiento con antagonistas del receptor de glutamato, con un inhibidor de la NOS y con L-deprenil, que es un inhibidor de la monoamino oxidasa. Con estos tratamientos se consiguió impedir la liberación de dopamina y la muerte neuronal, lo que sugiere que la exposición crónica a bajas dosis de PQ conduce a un aumento de la vulnerabilidad de las neuronas dopaminérgicas del sistema nigroestriatal.

Neuroprotección en la enfermedad de Parkinson.

Actualmente, el tratamiento más extendido para la PD es la administración de Levodopa. Éste es un tratamiento sintomático, incapaz de proporcionar la protección a largo plazo que se requiere para impedir el progreso de la enfermedad. Ninguno de los tratamientos conocidos logran frenar la neurodegeneración que lleva asociada esta enfermedad, por este motivo es importante el desarrollo de nuevas terapias neuroprotectoras [41]. En la actualidad está permitido el uso de cannabinoides para el tratamiento de la espasticidad muscular asociada a esta enfermedad [42]. Estudios recientes han demostrado que el tetrahidro cannabinoil (THC) actúa como neuroprotector en líneas celulares humanas expuestas previamente a PQ. Esta actividad más que por sus propiedades estructurales ha sido mediada por la interacción del THC con el receptor de proliferadores de peroxisomas gamma, el cual va a mediar una respuesta antioxidante mediante una disminución de la expresión de la NADPH y un aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes SOD y CAT [43]. Siguiendo esta línea de neuroprotectores con capacidad antioxidante, Djukic y col. [44] se propusieron estudiar la efectividad del tratamiento con glutatión reductasa (GR) en ratas a las que se les había inducido neurotoxicidad con PQ. Los resultados obtenidos tras el pretratamiento con GR fue una ausencia de síntomas parkinsonianos junto con la no aparición de estrés oxidativo/nitrosativo. También se ha visto como la asociación de vitamina C (antioxidante natural) con trimetazidina (activador de la glutatión peroxidasa) aumentó la tasa de supervivencia en ratas intoxicadas con PQ [45]. Existen estudios preclínicos de ciertas

sustancias neuroprotectoras tales como melatonina, estrógenos, nicotina, cafeína, riluzola, curcumina, coenzima Q10, aspirina, galato de epigallocatequina y resveratrol, que tratan de ver su potencial uso en el tratamiento de la PD. Los mecanismos de estas sustancias incluyen los procesos anti-inflamatorios y anti-estrés oxidativo. De todos ellos los que mejores resultados han dado en el tratamiento de la PD inducida por PQ son la nicotina, la coenzima Q10, cafeína y melatonina. En algunos casos como la coenzima Q10 el problema que presentan es su baja biodisponibilidad en humanos por lo que sería necesaria una optimización de su formulación [41]. En este sentido Liddell y col. [46] incrementaron la biodisponibilidad de la desferroxiamina B (DFOB) (quelante del Fe utilizado en modelos animales en el tratamiento de la PD), cuya hidrosolubilidad le imposibilita la entrada a través de la barrera hematoencefálica, conjugándolo con fragmentos lipofílicos, observándose una neuroprotección 66 veces mayor que con el DFBO. A pesar de los resultados esperanzadores de los estudios preclínicos, existen discrepancias manifiestas con los obtenidos en los ensayos clínicos. Encontrar nuevos neuroprotectores sigue siendo el mayor desafío para futuras investigaciones, buscando los modelos animales que reflejen los procesos neurodegenerativos subyacentes asociados a la PD idiopática [47]. Recientemente se ha estudiado la capacidad neuroprotectora de extractos naturales de plantas tales como *Bacopa monniera* y *Withania somnifera*, los cuales han mostrado capacidad antioxidante, responsable de la protección frente a la PD inducida en líneas celulares y ratón respectivamente, por exposición a PQ [48, 49].

Conclusión

En los últimos años se ha relacionado la PD con la exposición crónica a PQ, basándose en estudios experimentales con animales y en las evidencias epidemiológicas. Sin embargo, existe una gran controversia en este sentido por lo que se hace necesario seguir con estudios tanto experimentales como epidemiológicos que confirmen esta relación, y que permitan hacer una evaluación del riesgo en el hombre de la exposición crónica a este plaguicida. Se requiere la selección de un modelo animal adecuado para poder extrapolar los resultados al humano y hacer un mejor diseño de los estudios epidemiológicos para sacar conclusiones definitivas. Hasta el momento el tratamiento de la PD es principalmente con levodopa, aunque existen numerosos estudios preclínicos de posibles neuroprotectores como tratamiento alternativo. Es urgente seguir con estos estudios y desarrollar ensayos clínicos que confirmen estas propiedades.

Bibliografía

1. Cannon JR, Greenamyre JT (2011) The role of environmental exposures in neurodegeneration and neurodegenerative diseases. *Toxicol Sci* 124: 225-250.
2. Kanavours K, Tzatzarakis MN, Mastorodemos V, Plaitakis A, Tsatsakis AM (2012) A case report of motor neuron disease in a patient showing significant level of DDTs, HCHs and organophosphate metabolites in hair as well as levels of hexane and toluene in blood. *Toxicol Appl. Pharmacol* 256:399-404.
3. Vicenti M, Bottecchi I, Fan A, Finkelstein Y, Mandrioli J

- (2012) Are environmental exposures to selenium, heavy metals, and pesticides risk factors for amyotrophic lateral sclerosis. *Rev Environ Health* 27:19-41.
4. Deshmukh RS, Chaudhary RK, Roy I (2012) Effects of pesticides on the aggregation of mutant huntingtin protein. *Mol Neurobiol* 45:405-414.
 5. Dinis-Oliveira RJ, Remiao F, Carmo H, Duarte JA, Sánchez Navarro A, Bastos ML, Carvalho F (2006) Paraquat exposure as an etiological factor of Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 27: 1110-1122.
 6. Hatcher JM, Pennell KD, Miller GW (2008) Parkinson's disease and pesticides: a toxicological perspective. *Trends Pharmacol Sci* 29:322-9.
 7. Franco R, Li S, Rodriguez-Rocha H, Burns M, Panayiotidis MI (2010) Molecular mechanisms of pesticide-induced neurotoxicity: Relevance to Parkinson's disease. *Chem Biol Int* 188: 289-300.
 8. Wang A, Costello S, Cockburn M, Zhang X, Bronstein J, Ritz B (2011) Parkinson's disease risk from ambient exposure to pesticides. *Eur J Epidemiol* 26: 547-555.
 9. Van Maele-Fabry G, Hoet P, Vilain F, Lison D (2012) Occupational exposure to pesticides and Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Environ Int* 46:30-43.
 10. Van der Mark M, Brouwer M, Kromhout H, Nijssen P, Huss A, Vermeulen R (2012) Is pesticide use related to Parkinson disease? Some clues to heterogeneity in study results. *Environ Health Persp* 120:340-347.
 11. Barbeau A (1984) Manganese and extrapyramidal disorders (a critical review and tribute to Dr. Georg C. Cotzias). *Neurotoxicology* 5: 13-35.
 12. Tanner CM, Kamel F, Webster Ross G, Hppin JA, Goldman SM, Korell M, Marras C, y col. (2011). Rotenone, paraquat and Parkinson's disease. *Environ Health Persp* 119: 866-872.
 13. Mandel JS, Adami HO, Cole P (2012) Paraquat and Parkinson's disease: an overview of the epidemiology and a review of two recent studies. *Regul Toxicol Pharm* 62: 385-392.
 14. Mattson MP (2006) Neuronal life-and-death signaling, apoptosis, and neurodegenerative disorders. *Antiox Redox Signal* 8: 1997-2006.
 15. Thomas B, Beal M (2007) Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2:186-194.
 16. Grant H, Lantos PL, Parkinson C (1980) Cerebral damage in paraquat poisoning. *Histo.* 4: 185-195.
 17. Berry C, La Vecchia C, Nicotera P (2010) Paraquat and Parkinson's disease. *Cell Death Differ* 17: 1115-1125.
 18. Engel LS, Checkoway H, Keifer MC, Seixas NS, Longstreth WT, Scott KC et al. (2001) Parkinsonism and occupational exposure to pesticides. *Occup Environ Med.* 58:582-589.
 19. Liou HH, Tsai MC, Chen CJ, Jeng JS, Chang YC, Chen SY y col. (1997) Environmental risk factors and Parkinson's disease: a case-control study in Taiwan. *Neurology* 48:1583-1588.
 20. Pan-Montojo F, Anichtchik O, Dening Y, Knels L, Pursche S, y col. (2010) Progression of Parkinson's Disease Pathology Is Reproduced by Intragastric Administration of Rotenone in Mice. *PLoS ONE* 5: e8762
 21. Pan-Montojo, F. y col. (2012) Environmental toxins trigger PD-like progression via increased alpha-synuclein release from enteric neurons in mice. *Sci Rep* 2: 898.
 22. Moretto A, Colosio C (2013) The role of pesticide exposure in the genesis of Parkinson's disease: Epidemiological studies and experimental data. *Toxicology*, 307:24-34
 23. Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, Sánchez-Navarro A (2008) Paraquat poisonings: Mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment. *Crit Rev Toxicol* 38:13-71.
 24. Shihui S, Hanbin W, Guangyu Z, Yingbo A (2011) Complement Inhibition Alleviates Paraquat-Induced Acute Lung Injury. *Respir Cell Mol Biol* 45: 834-842.
 25. Shimizu K, Ohtaki K, Matsubara K, Aoyama K, Uezono T, Saito O, y col (2001) Carrier-mediated processes in blood-brain barrier penetration and neural uptake of paraquat. *Brain Res* 906:135-42.
 26. Chanyachukul T, Yoovathaworn K, Thongsard W, Chongthammakun S, Navasumrit P, Satayavivad J (2004) Attenuation of paraquat-induced motor behavior and neurochemical disturbances by l-valine in vivo. *Toxicol Lett* 150: 259-269.
 27. Kahle PJ, Neumann M, Ozmen L, Muller V, Odoj S, Okamoto N, Jacobsen H, Iwatsubo T, Trojanowski JQ, Takahashi H, Wakabayashi K, Bogdanovic N, Riederer P, Kretschmar HA, Haass C (2001) Selective insolubility of alpha-synuclein in human Lewy body diseases is recapitulated in a transgenic mouse model. *Am J Pathol* 159:2215-2225.
 28. Anderson JP, Walker DE, Goldstein JM, de Laat R, Banducci K, Caccavello RJ, Barbour R, Huang J, Kling K, Lee M, Diep L, Keim PS, Shen X, Chataway T, Schlossmacher MG, Seubert P, Schenk D, Sinha S, Gai WP, Chilcote TJ (2006) Phosphorylation of Ser-129 is the dominant pathological modification of alpha-synuclein in familial and sporadic Lewy body disease. *J Biol Chem* 281:29739-29752.
 29. Tofaris GK, Razaq A, Ghetti B, Lilley KS, Spillantini MG (2003) Ubiquitination of alpha-synuclein in Lewy bodies is a pathological event not associated with impairment of proteasome function. *J Biol Chem* 278:44405-44411.
 30. Manning-Bog AB, McCormack AL, Li J, Uversky VN, Fink AL, Di Monte DA. (2002) The herbicide paraquat causes up-regulation and aggregation of alpha-synuclein in mice: paraquat and alpha-synuclein. *J Biol Chem* 277:1641-1644.
 31. Thiruchelvam MJ, Powers JM, Cory-Slechta DA, Richfield EK (2004) Risk factors for dopaminergic neuron loss in human alpha-synuclein transgenic mice. *Eur J Neurosci* 19:845-854.
 32. Norris EH, Uryu K, Leight S, Giasson BI, Trojanowski JQ, Lee VM. (2007) Pesticide exposure exacerbates alpha-synucleinopathy in an A53T transgenic mouse model. *Am J Pathol* 170:658-666.
 33. Fernagut PO, Hutson CB, Fleming SM, Tetreault NA, Salcedo J, Masliah E, Chesselet MF (2007) Behavioral and

- histopathological consequences of paraquat intoxication in mice: effects of alpha-synuclein over-expression. *Synapse* 61:991-1001.
34. McCormack AL, Thiruchelvam M, Manning-Bog AB, Thiffault C, Langston JW, Cory-Slechta DA, Di Monte DA (2002) Environmental Risk Factors and Parkinson's Disease: Selective Degeneration of Nigral Dopaminergic Neurons Caused by the Herbicide Paraquat. *Neurobiol Dis* 10: 119–127.
 35. Fitsanakis VA, Amarnath V, Moore JT, Montine KS, Zhang J, Montine TJ (2002) Catalysis of catechol oxidation by metal-dithiocarbamate complexes in pesticides. *Free Radic Biol Med* 33: 1714-23.
 36. Mangano EN, Litteljohn D, So R, Nelson E, Peters S, Bethune C, Bobyn J, Hayley S (2012) Interferon- γ plays a role in paraquat-induced neurodegeneration involving oxidative and proinflammatory pathways. *Neurobiol Aging* 33: 1411-1426.
 37. Beal MF (1998) Excitotoxicity and nitric oxide in Parkinson's disease pathogenesis. *Ann Neurol* 44: 110–114.
 38. LaVoie MJ, Hastings TG (1999) Peroxynitrite- and nitrite-induced oxidation of dopamine: implications for nitric oxide in dopaminergic cell loss. *J Neurochem* 73: 2546–2554.
 39. Shimizu K, Matsubara K, Ohtaki K, Fujimaru S, Saito O, Shiono H (2003) Paraquat induces long-lasting dopamine overflow through the excitotoxic pathway in the striatum of freely moving rats. *Brain Res* 976: 243–252.
 40. Shimizu K, Matsubara K, Ohtaki K, Shiono H (2003) Paraquat leads to dopaminergic neural vulnerability in organotypic midbrain culture. *Neurosci Res* 46: 523–532.
 41. Douna H, Bavelaar BM, Pellikaan H, Olivier B, Pieters T (2012) Neuroprotection in Parkinson's disease: a systematic review of the preclinical data. *Open Pharmacol J* 6: 12-26.
 42. Hardisson A, Exp3sito C, Rubio C, Pozuelo MR (2002) Nuevas perspectivas terap3uticas de los compuestos cannabin3licos. *Rev Toxicol* 19: 89-92.
 43. Carrol CB, Zeissler ML, Hanemann CO, Zajicek JP (2012) Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) exerts a direct neuroprotective effect in a human cell culture model of Parkinson's disease. *Neuropharmacology* 38: 535–547.
 44. Djukic MM, Jovanovic MD, Ninkovic M, Stevanovic I, Ilic K, Curcic M, Vekic J (2012) *Chem-Biol Interact* 199: 74-86.
 45. Aular Y, Fern3ndez Y, Landaeta G, Suti R, Mu3oz M, Oviedo R (2005) Efecto de la asociaci3n de vitamina C - trimetazidina en la sobrevida de ratas intoxicadas por paraquat. *Rev Toxicol* 22 (suplemento).
 46. Liddell JR, Obando D, Liu J, Ganio G, Volitakis I, Moka S, Crouch PJ, White AR, Codd R (2013) Lipophilic adamantyl- or deferasirox-based conjugates of desferrioxamine B have enhanced neuroprotective capacity: implications for Parkinson disease. *Free Radical Bio Med* 60: 147–156.
 47. L3hle M, Reichmann H (2010) Clinical neuroprotection in Parkinson's disease-Still waiting for the breakthrough. *J Neurol Sci* 289: 104-1.
 48. Singh M, Murthy V, Ramassamy C (2013) Neuroprotective mechanisms of the standardized extract of *Bacopa monniera* in a paraquat/diquat-mediated acute toxicity. *Neurochem Int* 62: 530–539.
 49. Prakash J, Yadav S K, Chouhan S, Singh S P (2013) Neuroprotective Role of *Withania somnifera* Root Extract in Maneb-Paraquat Induced Mouse Model of Parkinsonism. *Neurochem Res* 38:972–980.