

Conocimientos actuales de la etiopatogenia de la enfermedad de Parkinson

M.R. Luquin, V. Zbarsky y N. García de Mardones

Neurología Experimental. Departamento de Neurología y Neurocirugía. Clínica Universitaria de Navarra. Facultad de Medicina. Pamplona.

Correspondencia y solicitud de separatas: Dra. Ala Rosario Luquin. Departamento de Neurología y Neurocirugía. Clínica Universitaria de Navarra. 31008 Pamplona.

INTRODUCCIÓN

La principal característica neuropatológica de la enfermedad de Parkinson (EP) es la degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra compacta (SNc) que proyectan hacia el estriado (caudado y putamen)¹. La causa que induce la muerte neuronal es desconocida. Estudios en pacientes homocigóticos muestran un papel genético limitado, aunque hay casos en los que se ha podido comprobar una transmisión autonómica dominante². Por otro lado, en la EP se han descrito alteraciones de la cadena transportadora de electrones³, lo que sugiere la existencia de alteraciones del genoma mitocondrial. El descubrimiento de la neurotoxina 1-metil-4-feni1-1,2,3,6 tetrahidropiridina (MPTP) que reproduce en animales los hallazgos neuroquímicos e histológicos propios de la EP⁴, ha llevado a plantear la hipótesis de que determinadas toxinas ambientales o de producción endógena podrían estar relacionadas con la muerte neuronal dopaminérgica que ocurre en pacientes con EP. Diversos estudios llevados a cabo en cerebros de pacientes parkinsonianos indican que la degeneración de las neuronas dopaminérgicas podría estar relacionada con fenómenos de peroxidación lipídica⁵. No está claro, sin embargo, si el incremento de los procesos de oxidación es el desencadenante o la consecuencia de la muerte neuronal.

La pérdida de neuronas dopaminérgicas induce secundariamente una disminución muy acusada de los valores estriatales de dopamina (DA). En general, el déficit de DA es mayor en el putamen que en el núcleo caudado y en ambos hay un gradiente rostro-caudal, lo que sugiere que las neuronas dopaminérgicas de la SN podrían presentar una vulnerabilidad diferente a la neurodegeneración⁶.

ESTRÉS OXIDATIVO

En los últimos años se ha descrito de forma repetida un incremento en los valores de peroxidación lipídica en la SN de cerebros de pacientes parkinsonianos⁷.

Esta alteración surge de forma exclusiva en la SN de los pacientes parkinsonianos y no en otras estructuras de inervación dopaminérgica, o en enfermedades degenerativas en las que también hay un compromiso de la vía dopaminérgica nigrostriada, lo que sugiere que en la EP la SN podría estar expuesta de forma continua a la acción de radicales libres derivados del metabolismo de sustancias exógenas o endógenas.

La hipótesis del estrés oxidativo hace referencia a un desequilibrio entre la formación de oxidantes celulares, como el radical superóxido (O_2^-) y el radical hidroxilo (OH), y los procesos antioxidantes. Estos derivados de oxígeno inducen daño celular y alteraciones de la permeabilidad de la membrana a través de reacciones en cadena de peroxidación lipídica⁸.

Aunque no contamos con una prueba directa de que el estrés oxidativo produce la muerte de neuronas dopaminérgicas en la EP, hallazgos en humanos y animales de experimentación apoyan esta hipótesis (fig. 1). Por ejemplo, en cerebros de pacientes con EP la proporción Fe^{2+}/Fe^{3+} es 2/1, frente a un cociente 1/2 en cerebros de sujetos de edad similar⁹; la concentración de glutatión peroxidasa y catalasa está reducida, se ha descrito un incremento en la actividad de la superóxido dismutasa y, finalmente, una disminución en el contenido de glutatión reducido^{10, 11}. Además, diversos autores han descrito en la SN de pacientes parkinsonianos un incremento de productos secundarios de peroxidación lipídica asociados a una disminución en las cifras de ácidos grasos poliinsaturados¹². Estos resultados son apoyados por el hallazgo más reciente de un incremento de hidroperóxidos lipídicos en la SN de cerebros con EP¹³.

En la SN de sujetos control los valores de ARNm para superóxido dismutasa CuZn son muy elevados. Las células hibridadas positivamente contienen neuromelanina y se encuentran localizadas preferentemente en la SNc y en menor grado en el área tegmental ventral. De este modo, parece que el gen y la proteína de superóxido dismutasa CuZn se expresa de forma preferente en aquellas neuronas más vulnerables al proceso patológico subyacente a la EP. Así, las neuronas que contienen neuromelanina requerirían mayor cantidad de superóxido dismutasa CuZn para facilitar la eliminación de radicales superóxido. Por otro lado, una actividad elevada de superóxido dismutasa CuZn en estas células podría contribuir a una mayor vulnerabilidad de las mismas, al incrementar la producción de peróxido de hidrógeno¹⁴.

La localización neuronal de superóxido dismutasa CuZn resulta interesante si tenemos en cuenta la localización celular de glutatión peroxidasa, enzima encargada de eliminar el peróxido de hidrógeno del organismo. Estudios inmunohistológicos han demostrado que esta enzima se encuentra localizada exclusivamente en astrocitos¹⁵. Por tanto, el sistema de defensa de las neuronas dopaminérgicas frente a los radicales libres requiere un acoplamiento perfecto glía-neurona. En cerebros de sujetos control, la densidad de neuronas glutatión peroxidasa (+) es diferente en las distintas áreas dopaminérgicas. Por ejemplo, es muy elevada en áreas dopaminérgicas que no degeneran en la EP, como la sustancia gris central; está muy reducida en la SNc (área dopaminérgica donde existe la mayor depleción dopaminérgica en la EP) y es de valor intermedio en el área tegmental ventral y la región peri y retro-rubral caracterizadas por una pérdida moderada de neuronas dopaminérgicas¹⁶. Estos hallazgos indican que las neuronas dopaminérgicas rodeadas de una densidad baja de células gliales estarían menos protegidas frente a la producción de peróxido de hidrógeno. Por el contrario, neuronas dopaminérgicas situadas en zonas donde la densidad glial es muy elevada estarían más protegidas frente a la acción tóxica de los radicales libres.

En cerebros con EP se ha descrito un aumento del número de células gliales glutatión peroxidasa (+)¹⁷. Este incremento está relacionado directamente con el grado de pérdida neuronal dopaminérgica y podría interpretarse como un mecanismo de defensa de las neuronas dopaminérgicas todavía funcionantes, frente a la producción de radicales libres. Por otro lado, en homogeneizados de SN de pacientes con EP se han descrito alteraciones en la actividad de enzimas y sustratos implicados en la formación de

radicales libres, como aumento en la actividad superóxido dismutasa, disminución de los valores de glutathion reducido (GSH) y de la actividad de glutathion peroxidasa^{18, 19}. La importancia de la disminución de GSH en la patogénesis de la EP es apoyada por el hallazgo de cifras de GSH disminuidas en cerebros de sujetos con cuerpos de Lewy sin sintomatología de EP (estadio presintomático de la EP) en los que los valores de hierro y la actividad del complejo I mitocondrial es normal²⁰. No obstante, la actividad de la enzima responsable de la síntesis de glutathion, gammaglutamilcisteína, es normal en la SN de los cerebros parkinsonianos, lo que hace poco probable que la reducción de las cifras de GSH sean debidos a una alteración en su síntesis²¹. Aunque la mayoría de los estudios histológicos demuestran que el mayor contenido de GSH corresponde al neuropilo y astrocitos, recientemente Pearce et al²² han demostrado por primera vez que las neuronas dopaminérgicas de la SN presentan una inmunoreactividad positiva a GSH, la cual está disminuida de forma significativa en la SN de los cerebros parkinsonianos. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que el estrés oxidativo puede ser uno de los mecanismos subyacentes a la neurodegeneración que ocurre en las neuronas dopaminérgicas de los pacientes con EP.

La vitamina E representa uno de los mecanismos de defensa del organismo frente al exceso de producción de radicales libres. Sin embargo, aunque estudios iniciales sugerían una disminución de las concentraciones séricas de vitamina E en pacientes con EP, estudios más recientes no han hallado diferencias significativas en los valores de vitamina E en líquido cefalorraquídeo de pacientes parkinsonianos en relación a sujetos de edad similar²³.

Los metales pueden desempeñar un papel muy importante en diversas enfermedades degenerativas del SNC. Así, en la enfermedad de Wilson hay una alteración en el metabolismo del cobre²⁴, el aluminio se ha implicado como factor etiopatogénico en la enfermedad de Alzheimer²⁵ y el manganeso en algunas formas de parkinsonismo²⁶. En el caso de la EP, el hierro podría participar en los mecanismos implicados en el incremento de peroxidación lipídica, ya que produce radicales libres por sí mismo²⁷ y se une selectivamente a la neuromelanina produciendo complejos Fe²⁺/melanina que pueden originar estrés oxidativo. En homogeneizados de cerebros parkinsonianos, el contenido total de hierro está incrementado de forma específica en la SN, con valores normales en otros núcleos de los ganglios basales como caudado y putamen²⁸. Este incremento 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 específicos²⁹. Sin embargo, no puede excluirse que la acumulación de Fe en el interior de las células sea un producto inespecífico, de la degradación celular. En cerebros de pacientes con parálisis supranuclear progresiva, en la que existe una degeneración dopaminérgica nigrostriada, los valores cerebrales de hierro son normales, lo que sugiere que la acumulación de hierro descrito en la SN de pacientes parkinsonianos no es meramente un marcador inespecífico de muerte celular^{30,31}.

Modelos animales de EP apoyan la hipótesis de que el estrés oxidativo puede desempeñar un papel muy importante en los mecanismos de muerte neuronal dopaminérgica. Por ejemplo, el quelante del hierro desferoxamina y la vitamina E protegen a las neuronas dopaminérgicas de la neurodegeneración inducida por 6-hidroxdopamina (6-OHDA)³². Por otro lado, la infusión de hierro directamente en la SN de roedores produce una degeneración neuronal similar a la producida por 6-OHDA³³. En este mismo modelo, la administración intraventricular de N-actil-cisteína, precursor de glutathion, reduce la neurotoxicidad inducida por 6-OHDA y la conducta

rotatoria contralateral en respuesta a agonistas dopaminérgicos³⁴ y el pretratamiento con el inhibidor de la gammaglutamilcisteína 1-butionina sulfoximina (BSO), que reduce las cifras de glutatión, potencia la neurotoxicidad inducida por MPTP, MPP⁺ y 6-OHDA³⁵⁻³⁷. Sin embargo, su administración a animales intactos no produce neurodegeneración dopaminérgica³⁸.

Aunque la muerte neuronal inducida por MPTP parece estar ligada a una inhibición directa del complejo I mitocondrial por su metabolito tóxico MPP⁺³⁹, algunos autores han demostrado que la neurotoxicidad producida por MPTP puede deberse en parte a un incremento del estrés oxidativo. Chiueh et al⁴⁰ han demostrado que el efecto tóxico inducido por MPTP se halla relacionado con un exceso de producción de radicales libres secundario a la liberación de DA inducida por la administración del tóxico. Por otro lado, Adams et al⁴¹ han descrito que la interacción de MPP⁺ con NADH deshidrogenasa mitocondrial induce un incremento de peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo. Otros autores han descrito que la coadministración de MPP⁺ y desferoxamina reduce la depleción de DA estriatal producida por la administración de la neurotoxina⁴². Sin embargo, cuando se cuantifica el número de neuronas (TH) (+) en la SN homolateral a la inyección de MPP⁺, los animales tratados con desferoxamina presentan igual densidad de células TH (+) en la SN que los que recibieron salino⁴³.

La importancia del estrés oxidativo en la muerte neuronal dopaminérgica cobra una relevancia capital al analizar el posible efecto tóxico que el tratamiento farmacológico con L-DOPA puede tener sobre las neuronas dopaminérgicas. La DA, y en general las aminas, son la fuente más importante de radicales libres del organismo⁴⁴. Por tanto, en la EP, en la que existe un aumento del recambio de DA, el tratamiento adicional con L-DOPA aumentaría la producción de radicales libres hipotéticamente tóxicos. En cultivos de células dopaminérgicas la L-DOPA ha demostrado ejercer una acción neurotóxica⁴⁵, efecto que es reducido por agonistas dopaminérgicos como 2-amino-4,5,6,7-tetrahidro-6-propil-amino-benziatol-dihidrocloruro (pramipexol)⁴⁶ y antioxidantes como la vitamina C. Sin embargo, los resultados in vivo sobre su posible acción neurotóxica son contradictorios^{47,48}. En un modelo animal de EP presintomática (lesión parcial nigrostriada) la administración de 150 mg/kg de L-DOPA durante 8 semanas reduce de forma significativa el número de neuronas TH (+) en la SN⁴⁹. Estos resultados no demuestran que el estrés oxidativo sea la causa de la muerte neuronal dopaminérgica, pero sugieren que en la EP las neuronas dopaminérgicas de la SN pueden experimentar un daño adicional en presencia de un exceso de formación de radicales libres.

Sin embargo, la posible acción neurotóxica de la L-DOPA debe replantearse a la vista de trabajos recientes que indican que el efecto tóxico de la misma en cultivos primarios de células dopaminérgicas se reduce si el medio de cultivo contiene células gliales⁵⁰.

ESTRÉS OXIDATIVO Y MUERTE CELULAR MEDIADA POR REACCIONES INMUNES

Las células gliales y los macrófagos pueden inducir estrés oxidativo y ser neurotóxicos para las neuronas. No se conoce el mecanismo por el cual los macrófagos y la microglía producen una inhibición metabólica y finalmente la muerte neuronal, pero parece que se halla relacionado con la liberación de sustancias endógenas, como citocinas y ácido araquidónico^{51, 52}. Recientemente, se ha postulado que la síntesis de óxido nítrico (NO) por parte de estas células puede contribuir e iniciar los efectos neurotóxicos e incluso la

muerte neuronal⁵³. La síntesis de NO se produce a través de la oxidación de L-arginina por NADH, catalizada por una monooxigenasa denominada sintasa de óxido nítrico (NOS)⁵⁴. La NOS no está localizada exclusivamente en los macrófagos y células de la microglía, sino que existe una gran variedad de células, incluyendo neuronas, que contienen NOS⁵⁵. En ratas y primates no humanos, las técnicas de inmunocitoquímica han localizado neuronas NOS (+) en poblaciones neuronales específicas, tales como células granulares del cerebelo, neuronas del núcleo pedunculopontino, neuronas espinosas grandes y medianas del estriado y córtex cerebral. A nivel de la sustancia negra, la densidad de neuronas NOS (+) es muy baja⁵⁶.

No está aclarado el mecanismo de toxicidad ligado al NO (fig. 2). Por un lado, la acción neurotóxica puede estar ligada al propio NO, ya que en cultivos celulares se ha demostrado que el NO inhibe directamente varias enzimas que contienen un complejo catalítico activo hierro-azufre, e incluyen los complejos I, II y IV de la cadena transportadora de electrones, la enzima del ciclo del ácido cítrico aconitasa y la enzima limitante de la replicación de ADN, ribonucleótido reductasa⁵⁷⁻⁵⁹. La capacidad de los macrófagos activados de inhibir los complejos hierro-azufre de estas enzimas, así como de sintetizar NO y la formación de complejos hierro-nitrosil en macrófagos citotóxicos activados, ha llevado a Lancaster et al a sugerir una interacción directa entre hierro y NO en los procesos de toxicidad ligados al NO⁶⁰.

Por otro lado, el NO como radical libre *per se*, es una molécula altamente reactiva que reacciona con oxígeno molecular y el anión superóxido⁶¹. Esta última reacción induce la formación del anión peroxinitrito ($\bullet\text{ONOO}^-$), molécula extremadamente reactiva con propiedades oxidantes potentes. El anión peroxinitrito se descompone, a su vez, en radical hidroxilo y dióxido de nitrógeno, los cuales son potentes activadores de la peroxidación lipídica⁶². Sin embargo, recientes observaciones en leucocitos humanos indican que el NO puede actuar neutralizando el radical superóxido y creando de esta manera una barrera química a los radicales libres citotóxicos⁶³. Así mismo, experimentos en ratones transgénicos con expresión elevada de SOD han llevado a la conclusión de que SOD aumenta la toxicidad del oxígeno en el SNC al inhibir la inactivación del NO mediada por el anión superóxido.

Por último, recientemente la implicación del NO en los procesos de neurodegeneración dopaminérgica ha cobrado especial interés ya que inhibidores selectivos de la sintasa de óxido nítrico 7-nitroimidazol (7NI) reducen de forma significativa la neurotoxicidad inducida por MPTP en primates⁶⁴, y ratones *knock-out* para esta enzima son resistentes al MPTP⁶⁵.

EXCITOTOXICIDAD

El concepto de muerte neuronal por excitotoxicidad fue acuñado por Olney⁶⁶ e implica dos formas paradójicas de acción de los aminoácidos excitatorios en el SNC. Por un lado, actúan como neurotransmisores excitatorios en un número importante de sinapsis y al mismo tiempo pueden ejercer una acción neurotóxica.

El término excitotoxicidad apunta la posibilidad de que neurotransmisores endógenos, como el glutamato, o neurotoxinas exógenas, caso de la P-N-oxalilamino-L-alanina (BOAA) puedan inducir un daño neuronal⁶⁷. Los dos tipos de receptores de los aminoácidos excitatorios implicados en el proceso de toxicidad son los NMDA y AMPA. La estimulación excesiva de receptores NMDA por glutamato o agonistas NMDA induce una entrada masiva de Ca^{2+} al interior de la célula y la activación de enzimas específicas dependientes de calcio que producen la muerte celular.

Por ejemplo, la activación de calpaína I y II induce alteraciones del citoesqueleto; la activación de proteincinasa C y NOS conlleva la formación de radicales libres tóxicos, y la activación de fosfolipasa A_2 produce la rotura de los fosfolípidos de membrana. Los ácidos grasos liberados en este proceso, caso del ácido araquidónico, alcanzan el espacio extracelular y son transformados a su vez en radicales libres, manteniéndose de esta manera un círculo vicioso de daño celular⁶⁷⁻⁷⁰ (fig. 3).

Por último, en un artículo reciente, White et al⁷¹ han demostrado en cultivos celulares de hipocampo que la disfunción mitocondrial es el primer paso en el mecanismo de excitotoxicidad.

La activación de los receptores NMDA facilita además la entrada de iones Na^+ al interior de la célula; éstos inducen una despolarización de la membrana celular que favorece la apertura de canales de calcio voltaje-dependientes de tipo L, aumentando de este modo el flujo de calcio al interior de la célula⁷².

La excitotoxicidad se ha postulado como uno de los mecanismos responsables de la muerte neuronal en diferentes enfermedades degenerativas del SNC como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington y la EP⁶⁰.

La implicación de los aminoácidos excitatorios en la muerte neuronal dopaminérgica, es sustentada fundamentalmente por los hallazgos obtenidos en modelos experimentales de EP. En 1989 Heikkila et al⁷³ describieron que el MK-801, antagonista no competitivo NMDA, bloqueaba la neurotoxicidad inducida por metanfetamina, pero no protegía a las neuronas dopaminérgicas de la neurotoxicidad por MPTP. Posteriormente, diversos autores demostraron que los antagonistas NMDA podían prevenir la muerte neuronal dopaminérgica inducida por la administración de MPP directamente en la SN⁷⁴. Sin embargo, otros autores no han podido replicar estos resultados administrando MPTP por vía sistémica o al inyectar MPP^+ directamente en el estriado⁷⁵. Aunque los resultados obtenidos en roedores son contradictorios, los hallazgos publicados en primates sugieren una participación directa de los aminoácidos excitatorios en la toxicidad dopaminérgica inducida por MPTP. Fornai et al⁷⁶ han demostrado recientemente en primates *cynomolgus* que MK-801 y el antagonista competitivo NMDA ácido 3 -[(+)-2-carboxipiperazin-4-il]-propil-fosfónico (CPP) reducen la depleción dopaminérgica estriatal inducida por MPTP, disminuyen la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la SN y el desarrollo de síntomas parkinsonianos. Por otro lado, se ha postulado que en la EP la hiperactividad del núcleo subtalámico (NST) podría ejercer una acción excitotóxica en los núcleos a los que proyecta, ya que utiliza como neurotransmisor ácido glutámico. Los principales núcleos de proyección del NST son el globus pálido, en su porción lateral y medial, el núcleo pedunculopontino, la SNr y en menor grado la SNc. De este modo, la hiperfunción del NST podría hipotéticamente inducir un daño por excitotoxicidad en la SN. Recientemente, Piallat et al⁷⁷ han demostrado en roedores que la lesión del NST previene la degeneración neuronal dopaminérgica inducida por inyección estriatal de 6-OHDA. Sin embargo, en el modelo de parkinsonismo inducido

por MPTP en primates, la lesión previa del NST no reduce la pérdida neuronal dopaminérgica inducida por la administración crónica de MPTP⁷⁸. En este grupo de animales, la densidad de neuronas TH (+) en la SN homolateral a la lesión del NST no mostró diferencias significativas al compararla con el lado contralateral, aunque los animales desarrollaron un parkinsonismo asimétrico, con menor sintomatología parkinsoniana en el lado homolateral a la subtalamotomía.

Aunque la teoría de la excitotoxicidad resulta muy atractiva, no hay evidencia en humanos que sugiera una implicación directa de los aminoácidos excitatorios en la degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la SN. Novelli et al⁷⁹ demostraron que un compromiso energético celular previo hace a éstas más sensibles a la acción de los aminoácidos excitatorios. Si tenemos en cuenta que en la EP se ha descrito una disfunción del complejo I de la cadena transportadora de electrones, valores fisiológicos de glutamato podrían resultar tóxicos para las neuronas dopaminérgicas sin que exista una hiperfunción de la neurotransmisión glutamatérgica.

ALTERACIONES MITOCONDRIALES

La cadena transportadora de electrones es esencial para la producción de ATP. Es un hecho conocido que el MPTP inhibe la NADH-ubiquinona reductasa (complejo I) de la cadena transportadora de electrones mitocondrial⁸⁰. Diversos trabajos han descrito alteraciones similares del complejo I mitocondrial en la SN y plaquetas de pacientes parkinsonianos^{81, 82}. Aunque esta alteración no es específica de la EP, algunos autores han postulado que pueda ser un marcador para individuos con alto riesgo de presentar la enfermedad⁸³.

Una deficiencia en el complejo I comprometería la síntesis de ATP y disminuiría las fuentes de energía celular para diversos procesos metabólicos como la síntesis de glutatión (fig. 4). Este mismo déficit se ha descrito en la EP y en animales intoxicados con MPTP, sugiriendo la posibilidad de que la deficiencia en el complejo I sea la causa común subyacente a la neurodegeneración en la EP. Por otro lado, estos hallazgos oscurecen el posible origen genético de esta enfermedad. El complejo I mitocondrial está compuesto por 25 polipéptidos, de los cuales siete se hallan codificados por el ADN mitocondrial. El ADN mitocondrial es heredado por vía materna y no sigue un patrón de herencia mendeliano, sino que es distribuido de forma aleatoria en el momento de la división celular. De este modo, un número desproporcionado de ADN mitocondrial “enfermo” podría ser asignado de forma individual a las células en el momento de su división. Por otro lado, el ADN mitocondrial experimenta un número de mutaciones 10 veces superior a las del ADN nuclear y es particularmente vulnerable a toxinas exógenas o de producción endógena. Todo ello apunta la posibilidad de que el daño mitocondrial con posterior alteración de la síntesis de APT pueda ser el mecanismo común que conduzca a la muerte neuronal en la EP a través de diferentes procesos: producción de radicales libres, toxinas exógenas o de producción endógena o factores genéticos^{84, 85}.

APOPTOSIS

La apoptosis (muerte celular programada) es un proceso activo, genéticamente controlado, de suicidio o autodestrucción celular. Cuando este sistema se activa, se

producen una serie de episodios característicos que incluyen: retracción celular y pérdida de contacto con células vecinas, condensación y fragmentación de la cromatina y abombamiento de la membrana celular⁸⁵. Posteriormente, las células son degradadas a unas partículas rodeadas de membrana (cuerpos apoptóticos) que contienen fragmentos nucleares, orgánulos citoplasmáticos y citoplasma residual. Los cuerpos apoptóticos son rápidamente fagocitados por los macrófagos, evitando así una reacción inflamatoria⁸⁶.

Este modelo de muerte celular fue descrito por primera vez por Wyllie en timocitos, y posteriormente se ha observado en otros tipos celulares, incluyendo neuronas⁸⁷. La apoptosis desempeña un papel muy importante en el desarrollo del sistema nervioso central. Sin embargo, es posible teóricamente que una activación anormal de este programa de muerte celular pueda estar implicado en la patogénesis de diferentes enfermedades degenerativas de inicio en la edad adulta como la EP.

Wick et al⁸⁸ demostraron que la L-DOPA y la DA tienen una acción anticancerosa y tóxica sobre células de melanoma *in vitro* e *in vivo*. Este efecto fue atribuido a una acción genotóxica. De este modo, la DA, probablemente a través de metabolitos oxidativos, produce un daño sustancial en el ADN que se manifiesta por rotura de sus cadenas y modificaciones de sus bases. Además su genotoxicidad está incrementada por la actividad inhibitoria sobre otras vías enzimáticas responsables de los procesos de reparación de ADN, como ADN polimerasa, ribonucleótido reductasa y timidilato sintasa. De esta forma, la L-DOPA puede producir directamente daño en el ADN e interferir en los procesos de reparación.

La aparición de fragmentación apoptótica de ADN en la muerte neuronal inducida por diversos agentes apunta la posibilidad de que ésta sea meramente una consecuencia de los mecanismos anteriores que inducen a las células a morir o, por el contrario, que sea la causa responsable directa de la muerte celular. Aunque este punto no ha sido resuelto, hay evidencia que implica a la apoptosis como causa primaria de muerte neuronal. En primer lugar, se ha detectado fragmentación intranucleosómica de ADN en cultivos de células PC12 y neuronas simpáticas⁸⁹. Por otro lado, el ácido aurintricarboxílico, inhibidor de la endonucleasa, previene la fragmentación apoptótica de ADN e inhibe la muerte celular inducida por la deprivación de NGF en células PC12 y la producida por glutamato en células corticales⁹⁰.

Si consideramos la posibilidad de que la fragmentación apoptótica de ADN por la endonucleasa es la causa primaria de la muerte celular, resulta de gran interés conocer los mecanismos de regulación de la actividad de la endonucleasa en diferentes condiciones que conducen a la muerte neuronal. A este respecto, se han sugerido varias hipótesis. En primer lugar, es posible que las diferentes condiciones que provocan la muerte celular induzcan la síntesis de endonucleasas, las cuales, al expresarse, darían lugar a la fragmentación de ADN y posterior muerte celular⁹¹. Otra posibilidad es que las endonucleasas se expresen de forma constitutiva en las células, pero que éstas se activen únicamente en condiciones permisivas⁹². Por ejemplo, determinadas endonucleasas son activadas por calcio⁹³; por tanto, situaciones que comprometan el normal funcionamiento mitocondrial, como el estrés oxidativo o mecanismos de excitotoxicidad que originan un incremento de la concentración intracelular de calcio, podrían inducir una activación de endonucleasas y, en consecuencia, muerte celular por apoptosis. Por último, es posible que los mecanismos de regulación de muerte celular apoptótica no sean dependientes de la activación de endonucleasas, sino que el ADN de determinadas células tenga una mayor susceptibilidad a la fragmentación por las mismas.

Aunque en cultivos celulares hay amplia evidencia de que determinadas toxinas o agresiones externas pueden inducir una muerte celular apoptótica⁹⁴⁻⁹⁷, no significa necesariamente que éste sea el único mecanismo implicado en la degeneración neuronal que ocurre en enfermedades como la EP o la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, podría plantearse la hipótesis de que, en determinadas circunstancias, la exposición temprana a una determinada toxina o alteraciones del funcionamiento mitocondrial, como las descritas en la EP, activen el programa de muerte celular apoptótica y contribuya de esta manera a la progresión de la enfermedad.

Diversos autores han investigado, utilizando la técnica de TUNEL, la presencia o no de cuerpos apoptóticos en la SN de cerebros parkinsonianos. Mochizuki et al⁹⁸ describieron la presencia de neuronas pigmentadas y glía que se teñían positivamente con la técnica de TUNEL. Sin embargo, no pudieron demostrar en estas células los cambios morfológicos típicos de la apoptosis como la condensación de la cromatina. Posteriormente, otros autores⁹⁹⁻¹⁰² han demostrado la presencia de apoptosis en las células pigmentadas de la SN de pacientes con EP y en pacientes con enfermedad difusa de cuerpos de Lewy. Sin embargo, ninguno de los estudios han podido demostrar que las células teñidas con la técnica de TUNEL presenten las características morfológicas de la apoptosis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agid Y, Javoy-Agid F, Ruberg M. Biochemistry of neurotransmitters in Parkinson's disease. En: Marsden CD, Fahn S, eds. Movement disorders. Londres: Butterworth and Co Publishers 1987; 166-230.
2. Duvoisin RC. Etiology of Parkinson's disease: current concepts. Clin Neuropharmacol 1986; 9 (Supl 1): 3-11.
3. Parker WD, Boyson SJ, Parks JK. Abnormalities of the electron transport chain in idiopathic Parkinson's disease. Ann Neurol 1989; 26: 719-723.
4. 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.
5. Olanow WC. A radical hypothesis for neurodegeneration. TINS 1993; 16: 439-444.
6. Kish SJ, Shajnak K, Hornykiewicz O. Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of the patients with Parkinson's disease. N Eng J Med 1988; 318: 876-880.
7. Dexter DT, Carter CJ, Wells FR, Javoy-Agid Y, Lees A, Jenner P et al. Basal lipid peroxydation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. J Neurochem 1989; 52: 381-389.
8. Götz ME, König G, Riederer P, Youdim MBH. Oxidative stress: free radical production in neural degeneration. Pharmac Ther 1994; 63: 37-122.
9. Sofic E, Riederer P, Heinsen H, Beckmann H, Reynolds GP, Hebenstreit G. Increased iron (III) and total iron content in post mortem substantia nigra of parkinsonian brain. J Neural Transm 1988; 74: 199-205.
10. Fahn S, Cohen G. The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease Evidence supporting it. Ann Neurol 1992; 32: 804-812.
11. Lange KW, Youdim MBH, Riederer P. Neurotoxicity and neuroprotection in Parkinson's disease. J Neural Transm (Supl) 1992; 38: 27-44.
12. Jenner P. Oxidative stress as a cause of Parkinson's disease. Acta Neurol Scand (Supl 1) 1991; 136: 6-15.

13. Ceballos I, Lafon M, Javoy-Agid F, Hirsch E, Nicole A, Sinet PM et al. Superoxide dismutase and Parkinson's disease. *Lancet* 1990; 1:035-1.036.
14. 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*. Oxford: Pergamon 1996; 89-100.
15. 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.
16. Marttila RJ, Lorentz H, Rinne UK. Oxygen toxicity protecting enzymes in Parkinson's disease. *J Neuro Sci* 1988; 86: 321-333.
17. Perry TL, Young WW. Idiopathic Parkinson's disease progressive supranuclear palsy and glutathion metabolism in the substantia nigra of patients. *Neurosci Letters* 1986; 67: 269-274.
18. Saggi H, Cooksey J, Dexter D, Wells FR, Lees A, Jenner P et al. A selective increase in particulate superoxide dismutase activity in parkinsonian substantia nigra. *J Neurochem* 1989; 53: 692-697.
19. Ambani LM, Van Voert MH, Murphy S. Brain peroxidase and catalase in Parkinson's disease. *Arch Neurol* 1975; 32: 114-118.
20. Dexter DT, Sian J, Rose S, Hindmarsch JG, Mann VM, Cooper JM et al. Indices of oxidative stress and mitochondrial function in individuals with incidental Lewy body disease. *Ann Neurol* 1994; 35: 38-44.
21. Damier P, Hirsch EC, Zhang P, Agid Y, Javoy-Agid F. Glutathione peroxidase, glial cells and Parkinson's disease. *Neuroscience* 1993; 52: 1-6.
22. Pearce RKB, Owen A, Daniel S, Jenner P, Marsden CD. Alterations in the distribution of glutathione in the substantia nigra in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 1997; 104: 661-667.
23. Molina JA, De Bustos F, Jiménez-Jiménez FJ, Benito-León J, Ortí-Pareja M, Gasalla T et al. Cerebrospinal fluid levels of alpha-tocopherol (vitamin E) in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 1997; 104: 1.287-1.293.
24. Scheinberg IH, Sternlieb Y, Wilson's disease. Philadelphia: W.B. Saunders, 1984.
25. Birchall J, Chappell JS. Aluminium, chemical physiology and Alzheimer's disease. *Lancet* 1988; 2: 1.008-1.010.
26. Barbeau A. Manganese and extrapyramidal disorders. (A critical review and tribute to Dr. Georges C. Cotzias). *Neurotoxicology* 1984; 5: 13-36.
27. 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.
28. Korytowsky W, Sarna T, Zarba M. Antioxidant action of neuromelanin: the mechanism of inhibitory effect on lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 1995; 319: 142-148.
29. Bomford AB, Munro HN. Transferrin and its receptors: their roles in cell function. *Hepatology* 1985; 5: 870-875.
30. Dexter DT, Carayon A, Javoy-Agid F, Agid Y, Wells FR, Daniel SE et al. Alterations in the levels of iron, ferritine and other tracer metals in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. *Brain* 1991; 114: 1.953-1.975.
31. Hirsch EC, Brandel JP, Galleg P, Javoy-Agid F, Agid Y. Iron and aluminum increase in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease: an X-ray microanalysis. *J Neurochem* 1991; 56: 446-451.
32. Ben-Chachar D, Eshel G, Finberg JPM, Youdim MBH. The iron chelator desferoxamine (desferal) retards 6-hydroxydopamine-induced degeneration of nigrostriatal neurons. *J Neurochem* 1991; 56: 1.441-1.444.
33. Ben-Shachar D, Youdim MB. Intranigral iron injection induces behavioral and biochemical "parkinsonism" in rats. *J Neurochem* 1991; 57: 2.133-2.135.

34. Luquin MR, Domínguez J, Del Río L, Zbarsky V, Guillén J, Vázquez C. N-acetyl-cysteine reduces dopaminergic neuronal death induced by 6-OHDA. *Mov Disord* 1996; 11 (Supl 1): 144.
35. Griffith OW. Mechanism of action, metabolism and toxicity of buthionine sulphoximine and its higher homologues, potent inhibitors of glutathione synthesis. *J Biol Chem* 1985; 257: 13.704-13.712.
36. Wüllner U, Löchmann PA, Schulz JB, Schmid A, Dringen R, Eblen F et al. Glutathione depletion potentiates MPTP and MPP⁺ toxicity in nigral dopaminergic neurones. *Neuro Report* 1996; 7: 921-923.
37. Pileblad E, Magnusson T. Intracerebroventricular administration of L-buthionine sulphoximine potentiates the dopaminergic-depleting action of 6-hydroxydopamine in rat striatum. *J Neurochem* 1989; 52: 978-980.
38. Toffa S, Kunikowska GM, Zeng BY, Jenner P, Marsden CD. Glutathione depletion in rat brain does not cause nigrostriatal pathway degeneration. *J Neural Transm* 1997; 104: 67-75.
39. Gerlach M, Riederer P, Przuntek H, Youdim MBH. MPTP mechanisms of neurotoxicity and their implications for Parkinson's disease. *Eur J Pharmacol* 1991; 208: 273-286.
40. Chiueh 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, Yanagisawa N, Mizuno Y, eds. *Advances in neurology*. Vol. 60, Parkinson's disease: from basic research to treatment. Nueva York: Raven Press, 1993; 251-258.
41. Adams JD, Klaidman LK, Leung AC. MPP⁺ and MPDP⁺ induced oxygen radical formation with mitochondrial enzymes. *Free Rad Biol Med* 1993; 15: 181-186.
42. Santiago M, Matarredona ER, Granero L, Cano J, Macahado A. Neuroprotective effect of the iron chelator desferoxamine against MPP⁺ toxicity on striatal dopaminergic terminals. *J Neurochem* 1997; 68: 732-738.
43. Luquin MR, Zbarsky V, Del Río L, Domínguez J, Vázquez C, Guillén J. Desferoxamine does not protect against MPP⁺-induced toxicity in rats. *Mov Disord* 1996; 11 (Supl 1): 144.
44. Spencer TS, Parker WD, Bennet J. L-Dopa increase nigral production of hydroxyl radicals in vivo: potential L-dopa toxicity? *Neuro Report* 1994; 5: 1.009-1.011.
45. 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.
46. Carvey PM, Pieri S, Ling ZD. Attenuation of levodopa-induced toxicity in mesencephalic cultures by pramipexole. *J Neural Transm* 1997; 104: 209-228.
47. 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.
48. Perry TL, Yong VW, Ito M, Foulks JG, Wall RA, Godin DV et al. Nigrostriatal dopaminergic neurons remain undamaged in rats given high doses of levodopa+carbidopa chronically. *J Neurochem* 1984; 43: 990-993.
49. Del Río L, Huici M, Saldise L, Domínguez J, Guillén J, Luquin MR. Evidence for neurotoxicity of L-dopa in vivo. *XIIth Mov Disord* 1997; 12 (Supl 1): 5.
50. Mena MA, Casajeros MJ, Carazo A, Paño CL, García de Yébenes J. Glial, protect fetal midbrain dopamine neurons in culture from L-DOPA toxicity through multiple mechanism. *J Neural Transm* 1997; 104: 317-328.
51. Giulian ME, Vaca K, Noonan CA. Secretion of neurotoxins by mononuclear phagocytes infected with HIV-1. *Science* 1990; 250: 1.593-1.596.

52. Thery C, Chamak B, Mallat M. Cytotoxic effect of brain macrophages on developing neurons. *Eur J Neurosci* 1991; 3: 1.155-1.164.
53. Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain: The free radical, nitric oxide. *Ann Neurol* 1992; 32: 297-311.
54. McCall T, Vallance P. Nitric oxide takes center stage with newly defined roles. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 13: 1-6.
55. Bredt DS, Hwang PM, Snyder SH. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature* 1990; 347: 768-769.
56. Satoh K, Arai R, Ikemoto K, Narita M, Nagai T, Ohshima H et al. Distribution of nitric oxide synthase in the central nervous system of *Macaca fuscata*: subcortical regions. *Neuroscience* 1995; 66: 685-696.
57. Cleeter MW, Copper JM, Darleyusmar VM, Monada S, Schapira AH. Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide-implications for neurodegenerative diseases. *FEBS Lett* 1994; 345: 50-54.
58. Granger DL, Lehinger AL. Sites of inhibition of mitochondrial electron transport in macrophage-injured neoplastic cells. *J Cell Biol* 1982; 95: 527-535.
59. Drapier JC, Hibbs JB Jr. Differentiation of murine macrophages to express nonspecific cytotoxicity for tumor cells results in L-arginine-dependent inhibition of mitochondrial iron-sulfur enzymes in the macrophage effector cells. *J Immunol* 1988; 40: 2.829-2.838.
60. Lancaster JR, Hibbs JB Jr. Demonstration of iron-nitrosyl complex by cytotoxic activated macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1.223-1.227.
61. Oury TD, Ho YS, Piantadosi CA, Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase, nitric oxide and central nervous system O₂ toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9.715-9.719.
62. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1.620-1.624.
63. Rubanyi GM, Ho EH, Cantor EH, Lumma WC, Botelho LH. Cytoprotective function of nitric oxide: Inactivation of superoxide radicals produced by human leukocytes. *Biochem Biophys Res Commu* 1991; 181: 1.392-1.397.
64. Hantraye P, Brouillet E, Ferrante R, Palfi S, Dolan R, Matthews RT et al. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase prevents MPTP-induced parkinsonism in baboons. *Nat Med* 1996; 2: 1.017-1.021.
65. Matthews RT, Beal FM, Fallon J, Fedorchak K, Huang PL, Fishman MC et al. MPP⁺ induced substantia nigra degeneration is attenuated in nNOS knockout mice. *Neurobiology of Disease* 1997; 4: 114-121.
66. Olney JW. Neurotoxicity of excitatory amino acids. En: McGeer. EG, Olney JW, eds. *Kainic acid as a tool in neurobiology*. Nueva York: Raven Press, 1978; 95-121.
67. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders. *Science* 1993; 262: 689-695.
68. Olney JW. Excitatory amino acids and neuropsychiatric disorders. *Biol Psychiatry* 1989; 26: 505-525.
69. Stella N, Tence M, Glowinski J, Premont D. Glutamate-evoked release of arachidonic acid from mouse brain astrocytes. *J Neurosci* 1994; 14: 568-575.
70. Luquin MR, Jiménez-Jiménez FJ, Martínez-Vila, Molina JA, Bermejo F, Coria F. Muerte neuronal: la cascada de procesos y sus interrelaciones. *Neurología* 1996; 11 (Supl 3): 71-78.

71. White RJ, Reynolds IJ. Mitochondrial depolarization in glutamate-stimulated neurons: An early signal specific to excitotoxin exposure. *J Neurosci* 1996; 16: 5.688-5.697.
72. Mayer ML, Miller RI. Excitatory amino acids receptors, second messengers and regulation of intracellular Ca^{2+} in mammalian neurons. En: Lodge D, Collingridge G, eds. *The pharmacology of excitatory amino acids: a TIPS Special Report*. Cambridge: Elsevier, 1990; 36-42.
73. Sonsalla PK, Nicklas WJ, Heikkila RE. Role of excitatory amino acids in methamphetamine-induced nigrostriatal dopaminergic toxicity. *Science* 1989; 243: 398-400.
74. Turski L, Bressler K, Retting KJ, Löschnann PA, Wachtel H. Protection of substantia nigra from MPP* neurotoxicity by N-methyl-D-aspartate antagonists. *Nature* 1991; 349: 414-418.
75. Sonsalla PK, Zeevalk GD, Manzino L, Giovanni A, Nicklas WJ. MK-801 fails to protect against the dopaminergic neuropathology produced by systemic 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in mice or intranigral 1-methyl-4-phenylpyridinium in rats. *J Neurochem* 1992; 58: 1.979-1.982.
76. Fornai F, Vaglini F, Maggio R, Bonuccelli U, Corsini G. Excitatory amino acids and MPTP toxicity. En: Battistin L, Scarlato T, Caraceni T, Ruggeri S, eds. *Advances in neurology*. Vol. 69. Nueva York: Raven Press 1996; 167-173.
77. Piallat B, Benazzouz A, Benabid AL. Subthalamic nucleus lesions in rats prevents dopaminergic nigral neuron degeneration after striatal 6-OHDA injection: behavioural and immunohistochemical studies. *Eur J Neurosci* 1996; 8: 1.408-1.414.
78. Saldise L, Del Río L, Alegre M, Gastón I, Domínguez J, Guillén J et al. Subthalamic nucleus lesion does not prevent dopaminergic neuronal death induced by MPTP in primates. *Mov Disord* 1997; 12 (Supl 1): 19.
79. Novelli A, Reilly JA, Lusko PG, Henneberry RC. Glutamate becomes neurotoxic via the N-methyl-D-aspartate receptor when intracellular energy levels are reduced. *Brain Res* 1988; 51: 205-212.
80. Nicklas WJ, Vyas Y, Heikkila RE. Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Life Sci* 1985; 36: 2.503-2.508.
81. Schapira AH, Cooper JM, Dexter D, Jenner P, Clark JB, Marsden CD. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet* 1989; 1: 1.269.
82. Parker WD, Boyson SJ, Parks JK. Abnormalities of the transport chain in idiopathic Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1989; 26: 719-723.
83. Olanow CW. Mechanisms of cell death in Parkinson's disease with special reference to free radicals. En: Agid Y, ed. *Current trends in the treatment of Parkinson's disease*. Londres: John Libbey, 1991; 29-36.
84. Richter C, Park JW, Ames BN. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6.465-6.467.
85. Steller H. Mechanism and genes of cellular suicide. *Science* 1995; 267: 1.445-1.448.
86. Raff MC, Barres BA, Burne FJ, Coles HS, Ishizaki YI, Jacobson MD. Programmed cell death and the control of cell survival: lesson from the nervous system. *Science* 1993; 262: 695-700.
87. Wyllie AH. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980; 284: 555-557.
88. Wick MM. Levodopa/dopamine analogs as inhibitors of DNA synthesis in human melanoma cells. *J Invest Dermatol* 1989; 92: 329S-331S.

89. Edwards SN, Buckmaster AE, Tolkovsky AM. The death program in cultured sympathetic neurons can be suppressed at the level of posttranslational level by nerve growth factor, cyclic AMP and depolarization. *J Neurochem* 1991; 57: 2.140-2.143.
90. Batistatou A, Greene LA. Aurintricarboxylic acid rescue PC12 cells and sympathetic neurons from cell death caused by nerve growth factor deprivation, correlation with suppression of endonuclease activity. *J Cell Biol* 1991; 115: 461-471.
91. Kure S, Tominaga T, Yoshimoto T, Tada K, Narisawa K. Glutamate triggers internucleosomal DNA clavage in neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 179: 39-45.
92. Greene LA. Intracellular mechanisms underlying the causes and prevention of neuronal cell death. En: Collins RC, ed. *Neurochemistry of cell death*. Nueva York: American Academy of Neurology 1993; 146-179.
93. McConkey DJ, Harzell P, Nicotera P, Orrenius S. Calcium-activated DNA fragmentation kills immature thymocytes. *FASEB J* 1989; 3: 1.843-1.849.
94. Mochizuki H, Nakamura N, Nishi K, Mizuno Y. Apoptosis is induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridinium ion (MPP⁺) in ventral-mesencephalic-striatal co-culture in rat. *Neurosci Lett* 1994; 170: 191-194.
95. Evan GI, Wyllie AH, Gilbert CS. Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein. *Cell* 1992; 69: 119-128.
96. Loo TD, Copani A, Pike CJ, Whittemore ER, Walencewicz AJ, Cotman CW. Apoptosis is induced by β -amyloid in cultured central nervous system neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7.951-7.955.
97. Walkinshaw G, Waters CM. Neurotoxin-induced cell death in neuronal PC12 cells is mediated by induction of apoptosis. *Neuroscience* 1994; 63: 975-987.
98. Hartley A, Stone JM, Heron C, Cooper JM, Shapira AH. Complex I inhibitors induced dose-dependent apoptosis in PC12 cells: relevance for Parkinson's disease.
99. Mochizuki H, Goto K, Mori H, Mizuno Y. Histochemical detection of apoptosis in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 1996; 137: 120-123.
100. Kosel S, Egensperger R, Von Eitzen U, Mehraein P, Graeber MB. On the question of apoptosis in the parkinsonism substantia nigra. *Acta Neuropath* 1997; 93: 105-108.
101. Tompkins MM, Basgall EJ, Zamrini E, Hill WD. Apoptotic-like changes in Lewy-body-associated disorders and normal aging in substantia nigra neurons. *Am J Pathol* 1997; 12: 25-31.
102. Mogi M, Harada M, Kondo T, Mizuno Y, Narabayashi H, Riederer P et al. Bcl-2 protein is increased in the brain from parkinsonian patients. *Neurosci Lett* 1996; 215: 137-139.

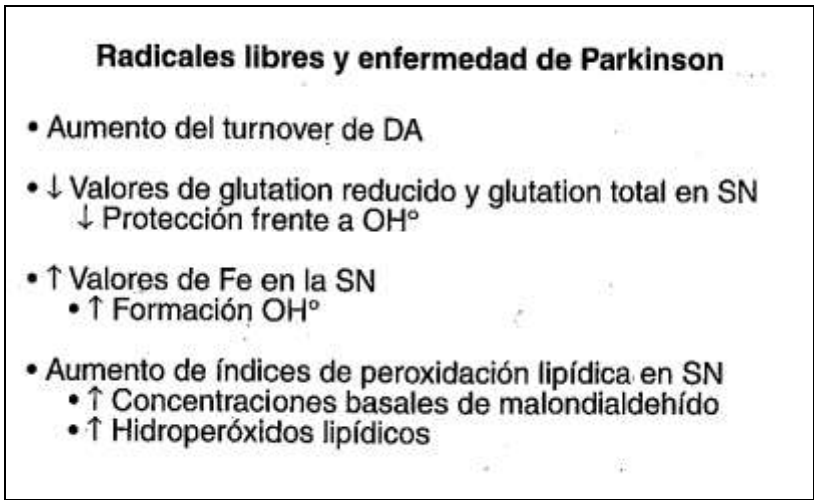


Figura 1. Principales hallazgos que implican al estrés oxidativo en la muerte neuronal dopaminérgica.

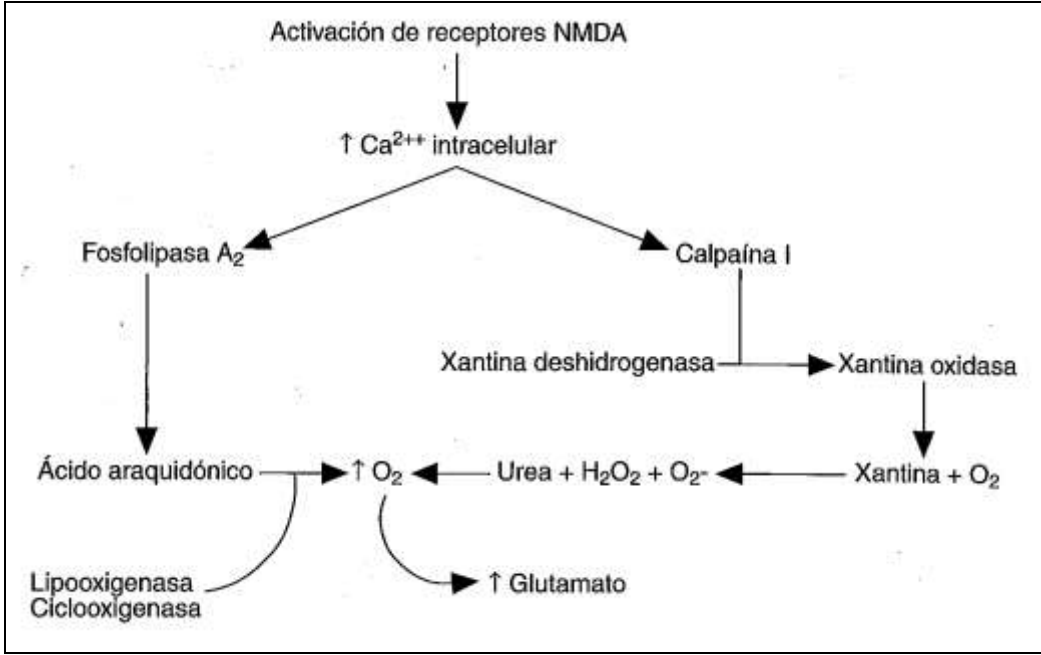


Figura 2. Representación esquemática de los eventos producidos tras la activación de receptores NMDA.

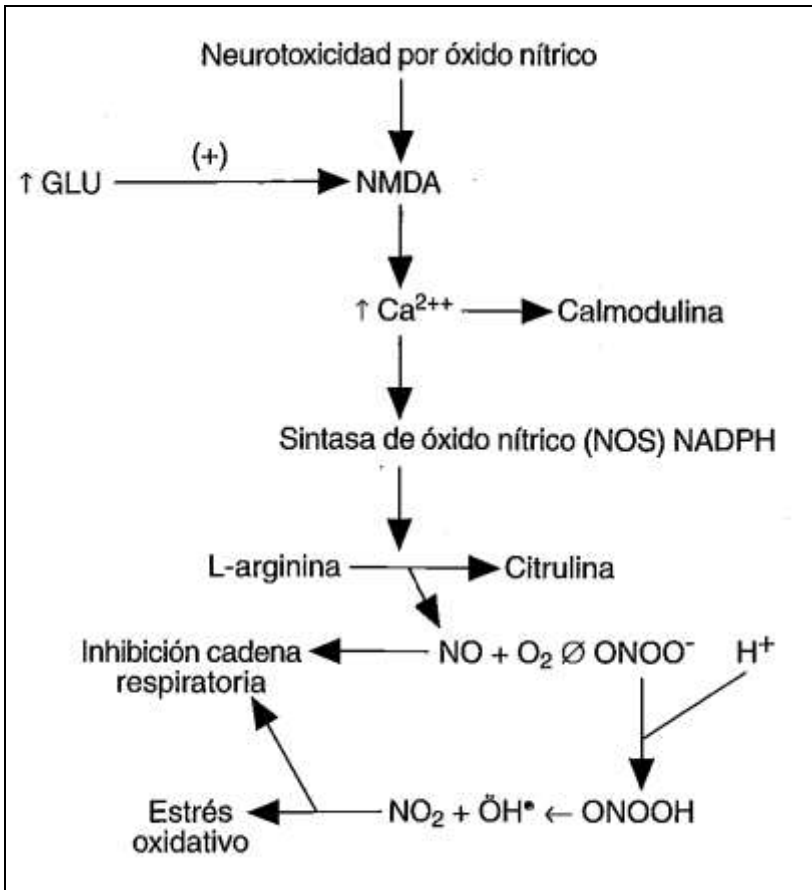


Figura 3. Representación esquemática del mecanismo de toxicidad ligado al óxido nítrico. Glu: ácido glutámico; NMDA: N-metil-D-aspartato; NO: óxido nítrico; ONOO: peroxinitrito; OH^{*}: radical hidroxilo; O₂⁻: radical superóxido y NO₂: dióxido de nitrógeno.

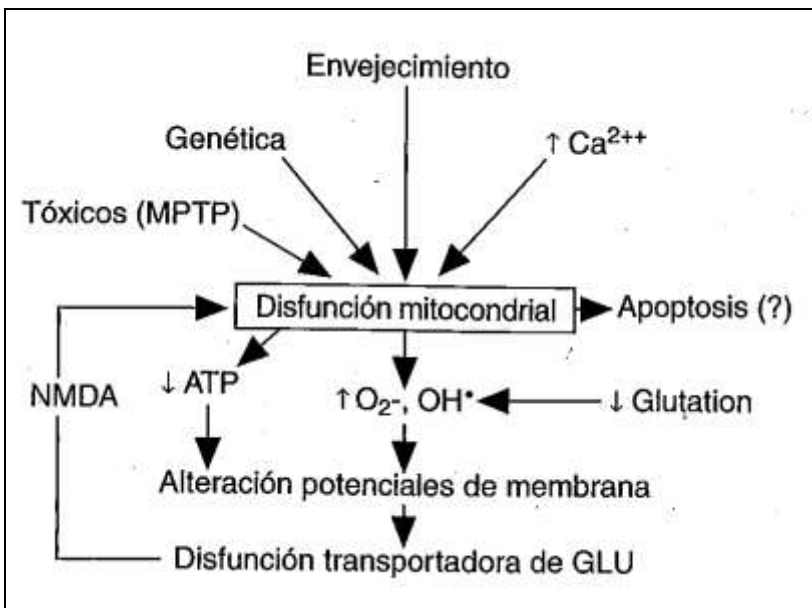


Figura 4. Representación esquemática de los diferentes factores que pueden contribuir a una disfunción mitocondrial y mecanismos por los que produce la muerte neuronal.