

Neurotoxicidade do ferro na fisiopatologia da doença de Parkinson

Iana Bantim Felício Calou

Doutora em farmacologia; Professora adjunto I da Universidade Federal do Piauí. Rua Cícero Eduardo, S/N - Bairro Junco - Picos/PI.

Email: ianacalou@gmail.com

Gilberto dos Santos Cerqueira

Pós-doutorando em ciências morfológicas: professor adjunto A da Universidade Federal do Piauí, Laboratório de Anatomia. Picos- Pi.

Rafaelly Maria Pinheiro Siqueira

Doutoranda em Farmacologia; Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ce.

RESUMO

O ferro consiste em um metal de extrema importância para homeostasia cerebral. Não obstante, alterações em seu equilíbrio estão sendo apontadas como cruciais para o processo neurodegenerativo envolvido na doença de Parkinson. A substância negra, alvo da degeneração no Parkinson, é a região cerebral com maior concentração de ferro e este, aliado aos produtos do metabolismo oxidativo da dopamina, desencadeia uma série de reações que culminam com a morte celular como: o aumento do estresse oxidativo local, a neuroinflamação, a agregação de proteínas formando corpúsculos citoplasmáticos tóxicos além da perda da capacidade de quelação que a neuromelanina apresenta em condições fisiológicas diminuindo o dano oxidativo causado pelo ferro. Modelos experimentais confirmam o envolvimento do metal no processo neurodegenerativo e estratégias terapêuticas inovadoras estão sendo experimentalmente testadas, tendo como alvo principal a quelação do ferro para refinar a terapia farmacológica da doença e impedir ou diminuir a progressão, até então inexorável, da doença.

Palavras-chave: Doença de Parkinson, Ferro, Neurodegeneração.

ABSTRACT

Iron is an important metal in brain homeostasis. However, changes in equilibrium identified as being crucial for the neurodegenerative process involved in Parkinson's disease. The *Substantia Nigra*, target of degeneration in Parkinson's, is the brain region with the highest concentration of iron and this, combined with the products of oxidative metabolism of dopamine, triggers a series of reactions that culminate in cell death as: increased local oxidative stress, neuroinflammation, protein aggregation forming toxic cytoplasmic corpuscles and the loss of chelation capacity that neuromelanin shows under physiological conditions by reducing oxidative damage caused by iron. Experimental models confirm the involvement of the metal in the neurodegenerative process and innovative therapeutic strategies are being tested experimentally, with the main target iron chelation to refine the pharmacological therapy of the disease and prevent or slow down the disease progression, hitherto inexorable.

Key words: Parkinson's disease, Iron, Neurodegeneration

INTRODUÇÃO

Os estados de transição de valência, mais comumente entre +2 e +3, que ocorrem com mais frequência no Ferro que em outros metais, fazem desse um dos metais mais úteis na biologia oxidativa. No ambiente celular, mais da metade das enzimas são metaloproteínas, e uma parte delas estabelece complexos com Fe^{2+} ou Fe^{3+} (WALDRON et al. 2009). No contexto do metabolismo aeróbico, o ferro continuamente está alterando o seu estado de valência para produzir espécies reativas de oxigênio (EROs). Enquanto este metal estiver ligado à proteínas, tudo estará seguro, não obstante, quando desprotegido, o ferro produz muitas espécies reativas e danosas de radicais do O_2 , além de H_2O_2 através da reação de Fenton (WONG e DUCE 2014). As espécies reativas do metabolismo oxidativo lesionam o DNA, os lipídios e as proteínas e estão envolvidos na fisiopatologia da doença de Parkinson (CRICHTON e WAR 2014).

A despeito da origem da doença de Parkinson permanecer desconhecida, pesquisas têm voltado o interesse para o papel do Ferro na morte dos neurônios dopaminérgicos da substância negra (SN), ainda que o mecanismo pelo qual este processo neurodegenerativo se inicie ainda não esteja definido (MOCHIZUKI e YASUDA 2012).

O cérebro apresenta várias demandas para o ferro, pois o mesmo está envolvido na respiração mitocondrial, na síntese de DNA e de neurotransmissores e mielina (CRICHTON 2009). O comprometimento da homeostasia celular de metais pode iniciar o processo de neurodegeneração por vários mecanismos, onde o estresse oxidativo figura como o mais compreendido até o momento (DUSEK et al. 2014). Não obstante, outros mecanismos estão relacionados como a diminuição da produção de metaloproteínas (MORELLO et al. 2007), a ativação microglial, levando a neuroinflamação (ZANG et al. 2011) além da agregação e formação de emaranhados neurofibrilares de alpha-sinucleína (UVERSKY et al. 2001).

Estresse oxidativo (EO)

Os neurônios e as células da glia contêm uma rede de mitocôndrias espalhadas ao longo dos axônios neurais com uma densidade máxima na área perinuclear. A função das células eucariontes é inteiramente dependente de um suprimento de ATP abundante proveniente de mitocôndrias profícuas. Os neurônios são particularmente dependentes da fosforilação oxidativa devido ao seu processo dinâmico de remodelação sináptica. Defeitos mitocondriais provenientes de alterações no DNA mitocondrial, mutações de suas proteínas ou mesmo de insultos de agentes externos podem alterar o potencial de sua membrana e, se não controlados, levar à neurodegeneração (GORMAN e DOYLE 2008; MULLIN e SCHAPIRA 2013).

O ferro pode facilitar a formação de radicais hidroxila citotóxicos, ânions superóxidos e de peróxido de hidrogênio e o acúmulo deste metal na substância negra de pacientes com Parkinson pode estar envolvido na morte neuronal observada. Tendo o estresse oxidativo como um dos mecanismos de ação, a toxicidade do ferro não se restringe aos neurônios dopaminérgicos, mas estes são seus alvos preferencias devido exatamente ao conteúdo dopaminérgico. Quando oxidada pela monoamino oxidase (MAO), a dopamina libera peróxido de hidrogênio que, pela reação de Fenton (Figura 1), mediada pelo ferro, pode produzir mais radicais hidroxila tóxicos (HALLIWELL 1989).

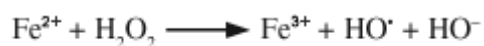


Figura 1. Reação de Fenton. Formação de radicais hidroxila

Outro importante fator contribuinte para o EO consiste na disfunção do Complexo I da cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria em cérebros de humanos com Doença de Parkinson - DP (observação *post-*

mortem) (SCHAPIRA et al. 1989). Modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* da doença foram desenvolvidos com a utilização de inibidores do complexo I como o MPTP, a rotenona e a 6-OHDA, que provocam uma diminuição de até 40% da atividade do complexo mitocondrial I (BETARBET et al. 2002).

O complexo I consiste em 8 grupamentos Ferro-Enxofre necessários para o transporte de elétrons. Na DP as anormalidades nas ações enzimáticas são encontradas apenas na parte compacta da substância negra (REICHMANN & JANETZKY; 2000). O estudo da atividade de enzimas que contém ferro é importante na DP devido à sobrecarga de ferro encontrada na substância negra dos pacientes (*post mortem*), particularmente de Fe³⁺ enquanto que o cérebro e a cadeia respiratória enzimática apresentam grandes quantidades da isoforma reduzida, Fe²⁺ (GRIFFITHS et al. 1999; SIAN-HÜLSMANN et al. 2011).

Neuromelanina

A neuromelanina (NM), responsável pela coloração característica da substância negra, consiste no maior reservatório de ferro dos neurônios dopaminérgicos (ZECCA et al. 2004 a, b) atuando como neuroprotetor por quelar o ferro e impossibilitar a formação de radicais livres a partir da reação de Fenton. Com o aumento do acúmulo de ferro na SN observada na DP, a capacidade quelante da neuromelanina é saturada e o processo de formação de grandes quantidades de radicais livres é iniciado (GERLACH et al. 2003).

Com a morte dos neurônios nigrais dopaminérgicos, a neuromelanina é lançada para o ambiente extra celular ativando uma cascata de neuroinflamação, via ativação de microglia, que culminará em aumento da degeneração neuronal (ZHANG et al. 2011).

A neuromelanina insolúvel contém quantidades elevadas de ferro reativo, que será liberado para o espaço extracelular onde iniciará o seu

processo oxidativo neurotóxico. Um estudo mostrou que a adição de NM em cultura de micróglia humana ativa a quimiotaxia e estimula a liberação de TNF- α , IL-5 e óxido Nítrico (NO). Esta reação envolve a ativação do fator de transcrição NF- κ B pela neuromelanina através da fosforilação/degradação do κ B e ativação da via de transcrição do mitógeno p38 (WILMS et al. 2003). Também foi demonstrado que a injeção de NM humana em ratos induz a ativação microglial e degeneração de neurônios dopaminérgicos (ZECCA et al. 2008).

α -sinucleína

A homeostase do ferro depende de proteínas envolvidas no seu controle, fluxo e armazenamento. Atualmente já está bem delimitado o papel das proteínas nas doenças neurodegenerativas (WONG e DUCE 2014). O marcador patognomônico da doença de Parkinson consiste nos corpúsculos de Lewy, que são inclusões citoplasmáticas neuronais cujo componente principal é a proteína α -sinucleína (α -sin). Já foi demonstrado que geradores de radicais livres, como a dopamina e o próprio ferro, estimulam a formação de agregados intracelulares que contem α -sinucleína e ubiquitina facilitando a formação dos corpúsculos de Lewy e a morte de células (OSTREROVA-GOLTS et al. 2000).

Os primeiros estudos sobre o papel fisiológico da α -sin mostraram que ela interage com os terminais pré-sinápticos controlando a fusão das vesículas às membranas pré-sinápticas e, por conseguinte, a reciclagem de neurotransmissores. De forma mais direta, ela inibe a exocitose das vesículas além de evitar a reutilização das mesmas, diminuindo o conteúdo de neurotransmissores disponível para liberação na fenda sináptica (LARSEN et al. 2006) e responsabilizando-se por diminuir a transmissão em períodos em que a atividade neuronal está muito elevada (SULZER 2010).

Não está completamente compreendido como uma proteína, inicialmente envolvida na homeostasia cerebral, após a sua agregação apresenta toxicidade mais direcionada à substância negra. Uma das teorias para esta maior vulnerabilidade é a maior concentração de ferro nesta região, o que aumenta a agregação de proteínas. O ferro se liga a região C-terminal da α -sinucleína e, sob condições de oxidação, desnatura a proteína que posteriormente sofrerá agregação (BHARATHI et al. 2007).

Estudos *in vitro* mostraram que as moléculas “Mutantes” de α -sinucleína interagem como moléculas de ferro aumentando sua toxicidade. Os corpos de Lewy apresentam pois uma união da forma reativa do ferro com proteínas e material lipídicos oxidados agregados (CASTELLANI et al. 2000).

Neuroinflamação

A neuroinflamação apresenta ações antagônicas podendo ser benéfica, uma vez que efetivamente permite a remoção de detritos patogênicos e facilita a liberação de moléculas imunomoduladoras como citocinas e quimiocinas que podem fornecer suporte para as células vizinhas após um insulto tóxico, ou apresentando potencial nocivo por meio de uma resposta descontrolada que pode ser elicitada após a ativação microglial (ZHANG et al. 2005 e 2007; KIM et al. 2007).

Várias evidências apontam para o envolvimento do processo neuroinflamatório no desenvolvimento e progressão da Doença de Parkinson. Os fatores imunogênicos liberados pelos neurônios dopaminérgicos lesionados tem potencial para desencadear respostas imunológicas nocivas, tanto inatas quanto adaptativas, além de conseguirem amplificar o processo patológico. Estes mecanismos não apenas sugerem uma complexa comunicação entre o sistema nervoso e o sistema imunológico periférico, mas a interação entre as células imune residentes do cérebro (isto

é, as micróglia) e outras células do parênquima cerebral como as células endoteliais, os astrócitos e os próprios neurônios (HIRSCH et al. 2013).

A perda de neurônios dopaminérgicos está associada a altos níveis de citocinas, espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico. As citocinas pró-inflamatórias expressas nos cérebros de pacientes com Parkinson altera de forma sensível a homeostase dos astrócitos e microglia, como o aumento da retenção do metal provocado pelo TNF- α (RATHORE et al. 2012).

O ferro apresenta um papel importante no processo inflamatório. O ferro ativa o NK- κ B e aumenta a expressão de citocinas nos macrófagos hepáticos de ratos e causa inflamação. Estudos mostraram que a injeção cerebroventricular de amônio ferroso induz a fosfolipase A₂. A geração de eicosanoides e do Fator de Ativação Plaquetária (PAF) intensifica o processo inflamatório na progressão da doença de Parkinson (ONG et al. 2005).

Modelos Animais

Estudos experimentais envolvendo modelos animais são úteis na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos das doenças. Algumas evidências experimentais autenticam a hipótese da neurotoxicidade do ferro. A infusão intranigral de ferro em ratos saudáveis provoca uma perda seletiva de neurônios dopaminérgicos (WESEMANN et al. 1994). A administração intraperitoneal de 10 mg de ferro dextrano três vezes por semana, durante três semanas em ratos Wistar jovens, produz o mesmo efeito (JIANG et al. 2007).

O modelo do 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) mostra que o tratamento unilateral com a neurotoxina pode induzir um aumento de até 100% do conteúdo de ferro da substância negra de ratos e primatas dentro de três a seis meses (MOCHIZUKI et al. 1994; TEMLETT et al. 1994).

Tais dados autenticam a estreita relação do ferro com a Doença de Parkinson e abrem uma janela a ser explorada para a pesquisa de novos fármacos para a doença que visem este metal como alvo afim de diminuir a progressão da doença através da quebra da cascata de eventos que levam à morte neuronal.

Perspectivas de tratamento

A importância do ferro no processo neurodegenerativo, não só na doença de Parkinson, abre perspectivas para estratégias terapêuticas que visem a quelação como coadjuvante na lentificação do processo neurodegenerativo. Esse alvo já foi testado na Doença de Alzheimer (DA) através do fármaco desferrioxamina. A administração intramuscular diária deste quelante durante vinte e quatro meses levaram a uma redução significativa (aproximadamente metade) da taxa de declínio de habilidades da vida diária em pacientes com DA (MCLACHLAN et al. 1991). Não obstante, a Desferrioxamina não atravessa a barreira hemato encefálica facilmente, e pode exercer o seu efeito através da redução geral dos níveis de ferro.

A propriedade de atravessar a barreira hemato encefálica é importantes em quelantes candidatos ao tratamento de desordens do sistema nervoso central, neste ínterim, vários quelantes lipossolúveis tem sido desenvolvidos e testados em modelos animais de neurodegeneração. Pode-se citar o VK-28 que protege contra a lesão estriatal dopaminérgica provocada pela 6-hidroxidopamina quando administrado diariamente aos animais (SHACHAR et al. 2004).

Considerando que a neuroinflamação facilita o transporte de ferro para o cérebro, uma abordagem de diminuir a disponibilidade cerebral de ferro é diminuir o processo inflamatório seja pelo consumo de antiinflamatórios não esteroidais ou mesmo pelo controle da hipercolesterolemia e por uma dieta com restrição calórica, afim de diminuir a síntese de mediadores CALOU, Iana Bantim Felício; CERQUEIRA, Gilberto dos Santos; SIQUEIRA, Rafaelly Maria Pinheiro. Neurotoxicidade do ferro na fisiopatologia da doença de Parkinson. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 45-57, fev. 2015.

inflamatórios. Estratégias naturais tem sido consideradas como a curcumina e as catequinas (HALLIWELL et al. 2005). Uma sugestão é que estes flavonoides possam exercer parte de seu efeito benéfico quelando metais no intestino e impedindo sua absorção ou uma vez absorvidos exerçam seu papel antiinflamatório (MANDEL et al. 2005).

CONCLUSÃO

Várias descobertas indicam o potencial envolvimento do acúmulo de ferro na morte neuronal observada na Substância negra – *pars compacta* que ocorre na Doença de Parkinson. No entanto, permanece controverso se este acúmulo consiste no evento primário ou se representa apenas mudanças secundárias à degeneração neuronal. Independente da origem, a pesquisa por fármacos que visem a diminuição da disponibilidade de ferro livre no cérebro é promissora uma vez que o mesmo está envolvido na maioria dos mecanismos fisiopatológicos da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Bharathi ISS, Rao KS. Copper- and iron-induced differential fibril formation in alpha-synuclein: TEM study. *Neurosci. Lett.* 2007; 424, 78–82.

Betarbet R, Sherer TB, Greenamyre JT. [Animal models of Parkinson's disease](#). *Bioessays.* 2002; 24(4):308-18.

Castellani RJ, Siedlak SL, Perry G, Smith MA. Sequestration of iron by Lewy bodies in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 2000;100(2):111–4.

Crichton RR. *Inorganic Biochemistry or Iron Metabolism from Molecular Mechanisms to Clinical Consequences*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd. 2009.

Crichton RR, Ward RJ. *Metal-based Neurodegeneration: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Strategies*. Chichester: John Wiley & Sons. 2014.

Dusek P, Roosc PM, Litwine T, Schneiderf SA, Flateng TP. The neurotoxicity of iron, copper and manganese in Parkinson's and Wilson's CALOU, Iana Bantim Felício; CERQUEIRA, Gilberto dos Santos; SIQUEIRA, Rafaelly Maria Pinheiro. Neurotoxicidade do ferro na fisiopatologia da doença de Parkinson. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 45-57, fev. 2015.

diseases. Jan Aaseth. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*; 2014.

Gerlach M, Double KL, Ben-Shachar D, Zecca L, Youdim MB, Riederer P. Neuromelanin and its interaction with iron as a potential risk factor for dopaminergic Neurodegeneration underlying Parkinson's disease. *Neurotox Res.* 2003; 5:35–44.

Gorman AM, Doyle KM. Considerations and recent advances in neuroscience. *Biochem Soc Trans.* 2009; 37(Pt 1):299-302.

Halliwell B. Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? *Acta Neurol Scand Suppl.* 1989; 126:23–33.

Halliwell B, Rafter J, Jenner A, Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am J Clin Nutr.* 2005; 81: .268S–276S.

[Hirsch EC](#), [Jenner P](#), [Przedborski S](#). Pathogenesis of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2013 Jan;28(1):24-30.

Jiang H, Song N, Wang J, Ren LY, Xie JX. Peripheral iron dextran induced degeneration of dopaminergic neurons in rat substantia nigra. *Neurochem Int* 2007;51(1):32–6.

Kim YS, Joo WS, Jin BK, Cho YH, Baik HH, Park CW. [Melatonin protects 6-OHDA-induced neuronal death of nigrostriatal dopaminergic system.](#) *Neuroreport.* 1998; 13;9(10):2387-90.

Larsen KE, Schmitz Y, Troyer M.; et al. Alpha-synuclein overexpression in PC12 and chromaffin cells impairs catecholamine release by interfering with a late step in exocytosis. *J Neurosci.* 2006; 26:11915–11922.

Mandel SA, Avramovich-Tirosh Y, Reznichenko L, Zheng H, Weinreb O, Amit T, Youdim MB. Multifunctional activities of green tea catechins in neuroprotection: Modulation of cell survival genes, iron-dependent oxidative stress and PKC signaling pathway. *Neurosignals.* 2005; 14: 46–60.

McLachlan DR, Dalton AJ, Kruck TP, Bell MY, Smith WL, Kalow W, Andrews DF Intramuscular desferrioxamine in patients with Alzheimer's disease, *Lancet.* 1991; 337: 1304–1308.

Mochizuki H, Imai H, Endo K, Yokomizo K, Murata Y, Hattori N, Mizuno Y. Iron accumulation in the substantia nigra of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-

tetrahydropyridine (MPTP) - induced hemiparkinsonian monkeys. *Neurosci Lett.*1994; 168:251–253.

Mochizuki H, Yasuda T. Iron accumulation in Parkinson's disease. *J Neural Transm* .2012; 119:1511–1514.

Morello M, Zatta P, Zambenedetti P, Martorana A, D'Angelo V, Melchiorri G, et al. Manganese intoxication decreases the expression of manganese proteins in the rat basal ganglia: an immunohistochemical study. *Brain Res Bull.* 2007;74(6):406–15.

Mullin S, Schapira A. α -Synuclein and Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease. *Mol Neurobiol.*2013; 47:587–597.

Ong WY, Ling SF, Yeo JF, Chiueh CC, Farooqui AA. Injury and recovery of neurons in the rat hippocampus after a single episode of oxidative stress induced by intracerebroventricular injection of ferrous ammonium citrate. *Rep Nutr Dev.* 2005; 45: 647–662.

Rathore KI, Redensek A, David S. Iron homeostasis in astrocytes and microglia is differentially regulated by TNF- α and TGF- β 1. *Glia.* 2012; 60:738–750.

Reichmann H, Janetzky B. [Mitochondrial dysfunction--a pathogenetic factor in Parkinson's disease.](#) *J Neurol.* 2000; 247(2):II63-8.

Schapira, AH, Cooper JM, Dexter D, Jenner P, Clark JB, Marsden CD. [Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease.](#) *Lancet.* 1989; 3;1(8649):1269.

Shachar DB, Kahana N, Kappel V, Warshawsky A, Youdim MB. Neuroprotection by a novel brain permeable iron chelator, VK-28, against 6-hydroxydopamine lesion in rats. *Neuropharmacology.* 2004; 46: 254–263.

Sian-Hülsmann J.; et al. The relevance of iron in the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2011; 118(6):939-57.

Sulzer D. Clues to How Alpha-Synuclein Damages Neurons in Parkinson's Disease. *Movement Disorders.* 2010; 25(1): S27–S31.

Temlett JA, Landsberg JP, Watt F, Grime GW (1994) Increased iron in the substantia nigra compacta of the MPTP-lesioned hemiparkinsonian African green monkey: evidence from proton microprobe elemental microanalysis. *J Neurochem.* 1994; 62:134–146.

Uversky VN, Li J, Fink AL. Metal-triggered structural transformations, aggregation, and fibrillation of human alpha-synuclein. A possible molecular link between Parkinson's disease and heavy metal exposure. *J Biol Chem.* 2001;276(47):44284–96.

Waldron KJ, Rutherford JC, Ford D, Robinson NJ. Metalloproteins and metal sensing. *Nature.* 2009; 460: 823–830.

Wesemann W, Blaschke S, Solbach M, Grote C, Clement HW, Riederer P. Intranigral injected iron progressively reduces striatal dopamine metabolism. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 1994;8(3):209–14.

Wilms H, Rosenstiel P, Sievers J, Deuschl G, Zecca L, Lucius R. Activation of microglia by human neuromelanin is NF-kappaB dependent and involves p38 mitogen-activated protein kinase: implications for Parkinson's disease. *FASEB J.* 2003; 17:500–502

Wong BX, Duce JA. The iron regulatory capability of the major protein participants in prevalent neurodegenerative disorders. *Front. Pharmacol.* 2014.

Zhang W, Phillips K, Wielgus AR, Liu J, Albertini A, Zucca FA, Faust R, Qian SY, Miller DS, Chignell CF, Wilson B, Jackson-Lewis V, Przedborski S, Joset D, Loike J, Hong JS, Sulzer D, Zecca L. Neuromelanin activates microglia and induces degeneration of dopaminergic neurons: implications for progression of Parkinson's disease. *Neurotox Res.* 2011; 19:63–72.

Zecca L, Youdim MBH, Riederer P, Connor JR, Crichton RR. Iron, brain ageing and neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci.* 2004; 5:863–873

Zecca L, Wilms H, Geick S, Claasen JH, Brandenburg LO, Holzknecht C, Panizza ML, Zucca FA, Deuschl G, Sievers J, Lucius R. Human neuromelanin induces neuroinflammation and neurodegeneration in the rat substantia nigra: implications for Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 2008; 116:47–55.

Zecca L, Stroppolo A, Gatti A, Tampellini D, Toscani M, Gallorini M, Giaveri G, Arosio P, Santambrogio P, Fariello RG, Karatekin E, Kleinman MH, Turro N, Hornykiewicz O, Zucca FA. The role of iron and copper molecules in the neuronal vulnerability of locus coeruleus and substantia nigra during aging. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014; 101:9843–9848.