

Pestizidexposition und Parkinson: BfR sieht Assoziation, aber keinen kausalen Zusammenhang

Stellungnahme Nr.033/2006 des BfR vom 27. Juni 2006

Parkinson ist eine langsam fortschreitende neurodegenerative Erkrankung, die vor allem im fortgeschrittenen Lebensalter auftritt. Sie ist durch das Absterben von Gehirnzellen, die den Botenstoff Dopamin herstellen, gekennzeichnet. Dieser wichtige Neurotransmitter leitet Impulse zwischen den Nerven weiter. Ist er nicht ausreichend vorhanden, kommt es zu den typischen Parkinsonsymptomen wie Muskelstarre, Muskelzittern oder Bewegungsarmut bis hin zur Bewegungslosigkeit. Die Ursachen für das idiopathische Parkinson-Syndrom (IPS) sind noch weitestgehend unbekannt. Diskutiert werden neben altersbedingten degenerativen Veränderungen und genetischen Faktoren vor allem Umwelt- und Ernährungseinflüsse. So könnten auch Pestizide einen Risikofaktor darstellen. Auf der Basis einer umfangreichen Literaturobwohlwertung nimmt das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) im Folgenden dazu Stellung, ob eine Exposition gegenüber Pestiziden die Krankheit begünstigen könnte.

Der Zusammenhang zwischen Parkinson und einer Pestizidexposition wurde dabei unter zwei Gesichtspunkten betrachtet. Zum einen wurden epidemiologische Studien ausgewertet: Aus dem Vergleich der Häufigkeiten des Auftretens der Krankheit in einer gegenüber Pestiziden exponierten Bevölkerungsgruppe und einer unbelasteten Vergleichsgruppe lassen sich Rückschlüsse auf mögliche Zusammenhänge ziehen. Zum anderen wurden die biologischen Wirkmechanismen einiger Pestizide analysiert, um die Frage zu beantworten, ob sie tatsächlich die für die Pathogenese von Parkinson verantwortlichen Reaktionen auslösen können. Dafür wurden die Wirkstoffe Paraquat, Maneb und Rotenon modellhaft untersucht. Auch MPTP, ein Nebenprodukt aus einem Heroinersatzstoff, welches bei Drogenabhängigen zu Parkinson ähnlichen Symptomen geführt hat, wurde unter diesem Aspekt betrachtet. MPTP hat exemplarisch gezeigt, dass Parkinson durch Chemikalien ausgelöst werden kann. Das BfR kommt zu folgendem Ergebnis:

Die ausgewerteten epidemiologischen Untersuchungen weisen auf einen Zusammenhang zwischen einer Exposition gegenüber Pestiziden und einer Parkinsonerkrankung hin. Jedoch konnte bisher weder ein einzelnes Pestizid noch eine Kombination verschiedener Pestizide als Auslöser identifiziert werden. Selbst wenn einzelne Pestizide den Dopaminhaushalt beeinflussen können, kann eine biologische Plausibilität experimentell nicht hinreichend abgeleitet werden, die das Entstehen von Parkinson erklären könnte. Ein kausaler Zusammenhang zwischen einer Pestizidaufnahme und dem Entstehen der Krankheit beim Menschen kann somit derzeit nicht belegt werden.

1 Gegenstand der Bewertung

Zum Thema „Pestizide und Parkinson“ wurde in den vergangenen Jahren in erheblichem Umfang wissenschaftliche Literatur veröffentlicht, auf die sich das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) bei seiner Bewertung eines möglichen Zusammenhangs stützt. Das Institut betrachtet dabei zusammenfassend nicht nur die mögliche epidemiologische Evidenz, sondern auch die biologische Plausibilität auf Basis experimenteller Untersuchungen. Insgesamt wurden rund 250 Publikationen ausgewertet.

2 Ergebnis

Das BfR kommt in Übereinstimmung mit dem Medical Research Council Institute for Environment and Health sowie dem National Center for Environmental Toxicology, beide UK

(Brown et al., 2006), zu folgender Einschätzung: Zwar besteht eine Assoziation zwischen einer Pestizidexposition und der Parkinsonerkrankung. Es liegt aber nur eine ungenügende Evidenz vor, um eine kausale Beziehung sicher belegen zu können. Eine konkrete kausale Beziehung besteht somit derzeit weder für ein einzelnes Pestizid noch für eine Kombination bestimmter Pestizide.

3 Begründung

3.1 Einleitung

Die Parkinson-Krankheit ist in Europa und Nordamerika die zweithäufigste degenerative Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS) mit einer Prävalenz von knapp 0,1 % in der Gesamtbevölkerung sowie etwas mehr als 1 % in der Population 60 Jahre und älter. Die Symptomatik tritt typischerweise als Trias Brady- bzw. Hypokinese, Rigor und Tremor in Erscheinung. Sie beruht auf einem Zellverlust von Transmittersystemen im ZNS. Hauptsächlich betroffen ist das dopaminerge nigrostriatale System, jedoch auch das noradrenerge System kann geschädigt werden. Die typische Parkinsonsymptomatik tritt ab einer Minderung der dopaminergen Funktion um etwa 70-80 % auf, d.h. wenn der größte Teil des nigrostriatalen Systems bereits irreversibel geschädigt ist. Der Krankheitsverlauf ist chronisch fortschreitend.

Das ohne erkennbare Ursachen entstandene (Idiopathische) Parkinson-Syndrom (IPS) tritt überwiegend im höheren Alter (Beginn 60-65 Jahre) auf. Die Ursache der Degeneration ist bis heute unklar. Eine Vielzahl von möglichen Risikofaktoren ist in der Diskussion. So werden Umwelt- und Ernährungseinflüsse wie z.B. eine Belastung mit Schwermetallen, altersbedingte degenerative Veränderungen und neuerdings auch genetisch bedingte Faktoren diskutiert. Als Hinweis auf eine mögliche genetische Disposition können die weltweit unterschiedlichen Prävalenzen des Parkinsonismus angesehen werden. Vielfach mehren sich die Hinweise, dass eine Interaktion von genetischer Disposition und Umwelteinflüssen eine Rolle spielt. Bei der Parkinsonerkrankung von jüngeren Personen (Beginn vor dem 50. Lebensjahr) kann aufgrund von Zwillingsuntersuchungen mit 100 % Konkordanz bei eineiigen Zwillingen von einer ausschließlich genetischen Basis der Erkrankung ausgegangen werden. Gegenwärtiger Kenntnisstand ist, dass möglicherweise beim überwiegenden Teil der Formen des Parkinsonsyndroms älterer Personen Umweltfaktoren, genetische Faktoren, Eigenschaften der betroffenen Gehirnareale und das Alter im Krankheitsprozess zusammenwirken könnten, so dass es sich wahrscheinlich um ein multifaktorielles Geschehen handelt.

Im Folgenden beurteilt das BfR die mögliche Bedeutung von Umweltfaktoren. Das Institut beschränkt sich dabei ausschließlich auf Pestizide und deren Wechselwirkung mit anderen pathogenen Faktoren der nigrostriatalen Degeneration.

3.2 Epidemiologische Evidenz

3.2.1 Studienauswahl

Zur Untersuchung einer epidemiologischen Evidenz wurde vom BfR eine Meta-Analyse publizierter epidemiologischer Studien in Auftrag gegeben. Zudem wurden Daten der so genannten „Geoparkinson-Studie“, die von der Europäischen Union finanziert wurde und an der mehrere Länder beteiligt waren, in die Meta-Analyse einbezogen. Die Studie ist noch nicht publiziert. Die Ergebnisse wurden dem BfR jedoch vorab für die vorliegende Bewertung zur Verfügung gestellt (Seaton et al., 2005).

Aus der Literaturrecherche wurden diejenigen Studien ausgewählt, die folgende Kriterien erfüllten: Die Studie

- 1) enthält Angaben zur Erfassung bzw. Definition der Pestizidexposition und zum Diagnoseverfahren bzw. zur Definition der Krankheit Parkinson.
- 2) ist eine Kohorten- oder Fall-Kontroll-Studie.
- 3) enthält Angaben zur Odds Ratio oder zum Relativen Risiko, dem dazugehörigen Konfidenzintervall und der Varianz der Odds Ratio, oder liefert genügend Informationen, um den Schätzer, das Konfidenzintervall und die Varianz des Schätzers zu berechnen.
- 4) wurde in deutscher oder englischer Sprache publiziert.

Es wurden insgesamt 62 Studien ausfindig gemacht, die Zusammenhänge zwischen umweltbedingten Risikofaktoren und dem Auftreten von Parkinson betrachten. 38 Studien genügten den Einschlusskriterien und wurden in die Analyse einbezogen. Die hauptsächliche Ursache für den Ausschluss der restlichen Arbeiten waren z.B. fehlende Odds Ratios bzw. fehlende Informationen zur Berechnung der Odds Ratios sowie zu geringe Fallzahlen. Eine zeitliche Einschränkung bezüglich der Veröffentlichung der Studien wurde nicht vorgenommen.

3.2.2 Beurteilung der Expositionserfassung

Die Erfassung der Pestizidexposition wurde in den einzelnen Studien auf unterschiedliche Weise durchgeführt. Differenzen existieren sowohl bezüglich der Definition der Exposition, der Expositionshöhe sowie des Zeitpunktes der Exposition im Verhältnis zum Symptombeginn und in der Art und Weise der Befragung der Probanden. So wurden die Probanden nach dem eigenen Gebrauch von Pestiziden oder dem Kontakt zu Pestiziden im Beruf, im Haushalt oder in der Freizeit befragt. Die Zuverlässigkeit der Antworten ist stark vom Erinnerungsvermögen der Probanden abhängig, wodurch die Studienergebnisse beeinflusst werden können. In vielen Studien wurden die Probanden ausschließlich nach ihrem beruflichen Umgang mit Pestiziden und dessen Häufigkeit befragt. Andere Studien erfassten hingegen den eigenen Gebrauch im beruflichen und im privaten Kontext oder befragten die Probanden nach dem Gebrauch verschiedener im Handel erhältlicher Produkte. Teilweise wurden auch Informationen des lokalen Landwirtschaftsamtes über den Verbrauch von Pestiziden in der Gegend insgesamt mit einbezogen. Andere Autoren entwickelten einen Score, der den Wohnort und die berufliche Tätigkeit sowie deren Dauer einbezieht, oder definierten die Pestizidexposition mit dem regelmäßigen Kontakt über einen zusammenhängenden Zeitraum von mindestens sechs Monaten. In einer Studie musste der Kontakt mindestens 20 Tage im Jahr über einen Zeitraum von mindestens fünf Jahren bestanden haben. Eine andere Studie wogte die Anzahl der Jahre mit der Kontakthäufigkeit, um eine Dosis-Wirkungsbeziehung herzustellen. Des Weiteren wurde nur unterschieden, ob eine Exposition für weniger oder mehr als 20 Jahre bestand. Diese Unterschiede bei der Erfassung und Bewertung der Pestizidexposition tragen mit dazu bei, dass die Studienergebnisse teilweise inkonsistent sind. Dies dürfte eine Erklärung für die große Heterogenität der Studienergebnisse sein und stellt die einheitliche Betrachtungsweise aller Studien in Frage.

3.2.3 Rolle des Confounding

Um mögliche Störgrößen bei der Auswertung im Rahmen einer Meta-Regression zu berücksichtigen, wurde bei der Datenextraktion untersucht, ob die jeweiligen Studien z.B. für das „Rauchen“ adjustiert wurden, da Rauchen als protektiver Faktor gegen Parkinson diskutiert wird. Diese Information war nicht für alle Studien gegeben. Bei der Durchführung der Meta-

Regression unter Berücksichtigung von Heterogenität verschwand der Effekt der Adjustierung des Rauchens. Bei der Auswertung wurde ebenfalls berücksichtigt, ob die entsprechenden Studien altersadjustiert waren, was in der Regel der Fall war.

Auch bei Betrachtung aller berücksichtigten Kovariaten in der Meta-Regression blieb eine deutliche Heterogenität zwischen den Studien bestehen. Diese kann als residuales Confounding gewertet werden, d.h. es gibt Kovariate, die nicht berücksichtigt wurden, das Ergebnis aber beeinflussen könnten. So wird die genetische Disposition nur in neueren Studien, wie z.B. bei Seaton et al. (2005), betrachtet. Dies könnte eine Ursache für residuales Confounding sein.

Bei der Bewertung der Rolle des Zufalls mit Hilfe bestimmter statistischer Modelle konnten bei der Betrachtung der Pestizidexposition statistisch signifikante Assoziationen mit den Befunden der Parkinson-Erkrankung aufgezeigt werden. Daraus kann gefolgert werden, dass diese Assoziationen eher nicht dem Zufall zuzuschreiben sind.

3.2.4. Assoziation oder kausale Beziehung

Um die Ergebnisse hinsichtlich einer kausalen Beziehung zu beurteilen, wurden die Kriterien von Hill (1965) angewendet. Diese tragen wesentlich zur Beurteilung komplexer Assoziationen zwischen Erkrankungen und möglichen Risikofaktoren bei.

Die quantitative Analyse erfolgte mit statistischen Verfahren, stratifiziert nach den Substanzgruppen Herbizide, Insektizide und Pestizide. Für Herbizide und Insektizide ergaben sich widersprüchliche Ergebnisse. Während ein Teil der Studien einen Zusammenhang zwischen Exposition und Parkinson aufzeigte, wiesen andere Studien auf einen protektiven Effekt hin. Auch bei Betrachtung einer spezifischen Substanz wie Paraquat, war eine konsistente Assoziation oft nicht vorhanden. Bei beruflich und privat exponierten Männern und Frauen zeigte sich zwar ebenfalls eine gewisse Heterogenität, jedoch war insgesamt eine positive Assoziation zwischen Pestizidexposition und Parkinsonismus zu verzeichnen. Bei der globalen Betrachtung von Pestiziden insgesamt findet sich somit eine relativ konsistente Assoziation.

Als weiteres Hill-Kriterium wurde der Mangel an alternativen Erklärungen herangezogen. In den Studien finden sich jedoch auch alternative Erklärungen. Die Exposition gegenüber Pestiziden ist nur ein potenzieller Risikofaktor. Die starke Heterogenität zwischen den Studien deutet ebenfalls auf das Vorhandensein nicht berücksichtigter Einflussgrößen hin.

Die Dosis-Wirkungsbeziehung wurde mit verschiedenen Operationalisierungen untersucht. Hierbei ließ sich eine Beziehung zwischen der Dosis und dem Odds Ratio nachweisen. Obwohl es sich bei den Operationalisierungen um grobe Vereinfachungen handelt, kann dennoch von einer Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Exposition und Parkinson ausgegangen werden.

Es müssen nicht alle Kriterien von Hill erfüllt sein, um eine kausale Beziehung abzuleiten. Ein unerlässliches Kriterium ist jedoch das Vorhandensein eines zeitlichen Zusammenhangs. Der zeitliche Zusammenhang zwischen einer Exposition und der Entstehung der Erkrankung kann in der Epidemiologie in der Regel nur über Kohortenstudien beurteilt werden. Bei einer separaten Betrachtung der Ergebnisse – es standen nur vier Kohortenstudien zur Verfügung – wurde unter Berücksichtigung der beobachteten Heterogenität keine Assoziation zwischen Pestiziden und dem Parkinsonismus festgestellt. Ein zeitlicher Zusammenhang zwischen einer berichteten Exposition und der Entstehung der Krankheit kann daher nicht eindeutig nachgewiesen werden.

Zusammenfassend ergibt sich, dass sich bei Betrachtung der Assoziation zwischen Pestizidexposition und Parkinsonismus sowohl schwache (Odds Ratio 1.3) als auch moderate Zusammenhänge (Odds Ratio 2.16) finden. Insbesondere bei Betrachtung einer Exposition gegenüber unspezifizierten Pestiziden im privaten und beruflichen Umfeld von Männern und Frauen wurde ein konsistent erhöhtes Odds Ratio beobachtet. Diese Betrachtungsweise hat jedoch den Nachteil, dass eine Vielzahl von Substanzklassen unter einer Bezeichnung subsummiert wird. Werden spezifische Assoziationen wie z.B. Insektizide, Herbizide allgemein oder gezielt das Herbizid Paraquat betrachtet, finden sich inkonsistente Ergebnisse. Die analysierten Studien zeigen eine deutliche Heterogenität. Bei einem Teil der Studien findet sich ein protektiver Effekt. Daher kann nur die Assoziation zwischen Pestiziden generell und dem Parkinsonismus als relativ konsistent bezeichnet werden.

3.3 Biologische Plausibilität

3.3.1 Mechanistische Ansätze

Die Ergebnisse aus der Epidemiologie deuten auf eine Assoziation zwischen einer Pestizidexposition und einer Parkinsonerkrankung hin. Damit eine Bewertung im Sinne einer kausalen Beziehung durchgeführt werden kann, müssen auch mechanistische Ansätze zur Begründung einer biologischen Plausibilität herangezogen werden. Neuere Erklärungsmodelle für die Entstehung von Parkinson versuchen daher, eine erste experimentelle Verständnisbasis zu schaffen. Bestimmte Ansätze aus der Biochemie, aber auch der molekularen Epidemiologie, sollen hierbei klären, ob die Entstehung einer Parkinsonerkrankung eine Pestizidexposition als alleinige oder wenigstens teilweise Ursache hat und wie hierbei das Zusammenspiel zwischen genetischen und Umweltfaktoren zu verstehen ist. Bis heute sind die biochemischen Mechanismen der Pathogenese der Parkinson-Krankheit nicht vollständig bekannt. Die bisher vorliegenden Ergebnisse können deshalb nur als Hinweise auf einen möglichen Kausalzusammenhang gewertet werden, die einer weiteren wissenschaftlichen Klärung bedürfen.

Für das biologische Verständnis ist wichtig, dass in einigen Tiermodellen die Schädigung dopaminergener Neuronen und eine Parkinson ähnliche Symptomatik durch die Gabe bestimmter Stoffe hervorgerufen werden können. In diesem Zusammenhang ist relevant, dass bestimmte Pestizide unter experimentellen Bedingungen zur Schädigung dopaminergener Neurone *in vivo* und *in vitro* beitragen und eine parkinsontypische Symptomatik sowie die IPS-typische Histopathologie teilweise reproduziert werden können. Die hierbei wirksamen molekularen Mechanismen sind vielfältig und greifen in grundlegende zelluläre Prozesse des Energie- und Transmitterstoffwechsels ein. Da einige dieser Mechanismen mittlerweile recht gut untersucht sind, werden diese dargestellt.

3.3.1.1 Lewy-Bodies

Auffälligste zelluläre Manifestation der nigrostriatalen Degeneration beim IPS und den meisten familiären Formen des Parkinsonsyndroms sind intrazelluläre Proteinaggregate, so genannte Lewy-Bodies (LB). Hauptbestandteil der LB sind pathologische Polymere von α -Synuclein, einem präsynaptischen, im gesamten ZNS vorkommenden Protein. Neben Polymeren von α -Synuclein finden sich in den LB u.a. Teile des Ubiquitin-Proteasom-Systems (UPS) sowie Heat-Shock-Proteine (HSP). Das UPS ist der bedeutendste Enzymkomplex für die Reparatur und den Abbau geschädigter zytoplasmatischer Proteine. HSP sind eine große Gruppe von Proteinen mit antioxidativer und stabilisierender Funktion, die bei erhöhtem Aufkommen geschädigter Proteine verstärkt exprimiert werden und die Aktivität des UPS unter-

stützen. Aufgrund ihrer Zusammensetzung und Lokalisation sind LB als Ausdruck eines gestörten Abbaus anormaler Proteine zu werten.

3.3.1.2 Ubiquitin-Proteasom-System (UPS)

Das UPS ist von zentraler Bedeutung für eine Reihe grundlegender zellulärer Prozesse, einschließlich Modifikation und Degradation von Proteinen. Störungen seiner Funktion scheinen sowohl Resultat als auch Ursache im Prozess der neuronalen Degeneration beim IPS und anderer degenerativer ZNS-Erkrankungen zu sein. Die Hemmung des UPS beim IPS könnte einerseits indirekt aus einer Veränderung der Struktur seines Substrats α -Synuclein resultieren, andererseits aus einer direkten Schädigung seiner 26S-Untereinheit durch Oxidantien. Zahlreiche Faktoren mit schädlicher Wirkung auf die Funktion des UPS in der Pathogenese des Parkinsonsyndroms sind in den vergangenen Jahren identifiziert worden, darunter Genmutationen und toxische Prozesse. Zu den Ursachen für das Versagen des UPS zählen insbesondere

- oxidativer Stress, begünstigt durch mitochondriale Dysfunktion und Einwirkung von bestimmten Stoffen,
- Eigenschaften der betroffenen Gewebe mit erhöhter intrinsischer Belastung durch oxidative Stoffwechselprozesse,
- durch oxidativen Stress bedingtes Aufkommen von geschädigten Proteinen mit veränderten Konformations- und Aggregationseigenschaften sowie
- Genmutationen – vor allem die Mutationen der Gene für α -Synuclein, Parkin und UCH-L1 mit veränderten Substrat- und Enzymeigenschaften.

Beim IPS kommt α -Synuclein wahrscheinlich eine zentrale Rolle im Versagen des UPS zu. So ist die UPS-Hemmung im IPS-Tiermodell in α -Synuclein knock-out Mäusen z.B. deutlich geringer ausgeprägt

3.3.1.3 Oxidativer/Nitrosativer Stress und Inhibition des Komplex-I im Mitochondrium

In der Pathobiochemie ist oxidativer Stress ein weiterer Faktorenkomplex für die nigrostriatale Degeneration. Er ist eng mit der Proteinaggregation verknüpft und wird durch eine erhöhte zelluläre Belastung durch instabile und hochreaktive Verbindungen wie vor allem Peroxynitrit und das Hydroxylradikal verursacht. Oxidativer Stress ist für eine Vielzahl von Erkrankungen von Bedeutung und nicht spezifisch für das IPS. Doch weist die beim IPS am schwersten betroffene Zellpopulation, dopaminerge Neurone der Substantia nigra pars compacta (SNc), eine erhöhte Disposition und Vulnerabilität für oxidativen Stress auf.

Die Ursachen für oxidativen Stress beim IPS sind trotz erheblichen Forschungsaufwandes über die vergangenen zwei Jahrzehnte bis heute nicht eindeutig geklärt. Teilweise kann das Phänomen durch Besonderheiten im Energiestoffwechsel dopaminerger Zellen und den chemischen Eigenschaften des von ihnen produzierten Neurotransmitters erklärt werden. Als ursächliche Faktoren für oxidativen Stress sind Schädigungen der mitochondrialen Elektronentransportkette, erhöhte Konzentrationen von Metallen und dabei insbesondere von Übergangsmetallen wie Eisen, Kupfer und Mangan in den betroffenen Gehirngebieten, der Dopaminstoffwechsel sowie unzureichende protektive Mechanismen bekannt.

Oxidativer Stress hemmt verschiedene Stoffwechselprozesse, darunter die mitochondriale Energiegewinnung und die Proteinmodifikation und -degradation durch das UPS. Diesbezüglich ist gezeigt worden, dass polymerisiertes α -Synuclein in LB und in den Einschlusskörperchen anderer degenerativer ZNS-Erkrankungen charakteristische Veränderungen in Form eines nitrierten Tyrosins aufweist, wie sie beispielsweise durch die Wirkung von Peroxynitrit

entstehen können. In Übereinstimmung mit dieser Beobachtung steht der Befund einer Oligomerisation von α -Synuclein über kovalente Bindungen in der Gegenwart von Peroxynitrit. Eine weitere Manifestation von oxidativem Stress ist die Schädigung von DNA und Lipiden.

3.3.1.4 Zelltod in der Nigrostriatalen Degeneration – Apoptose vs. Nekrose

Vermutlich ist der Zelltod im Rahmen der dopaminergen Degeneration sowohl apoptotisch als auch nekrotisch. Einerseits gibt es zahlreiche Befunde zur Apoptose und eher wenige Arbeiten zum nicht apoptotischen Zelltod. Andererseits ist zu bedenken, dass nekrotischer Zelltod weniger spezifisch durch Marker erfasst werden kann als Apoptose.

3.3.2 Die Rolle von Modellschubstanzen und Pestiziden in der nigrostriatalen Degeneration

Bestimmte Stoffe, auch bestimmte Pestizide, können offenbar in fast allen der oben genannten Prozesse der zellulären Schadenskaskade beim IPS direkt involviert sein. Sie können Konformationsänderungen von α -Synuclein bewirken und Fibrillenbildung begünstigen, Enzymkomplexe der Atmungskette hemmen und auf diesem Wege sowohl die Energiegewinnung behindern als auch zu einer erhöhten Produktion freier Radikale beitragen, zur Depolarisation des mitochondrialen Membranpotenzials führen und unter anderem auf diesem Wege Apoptose bewirken. Pestizide und vor allem Metalle können außerdem als redox-aktive Substanzen direkt zur Bildung von Radikalen und damit zur Peroxidation von Lipiden, DNA und Proteinen führen. Im Folgenden sollen die Wirkmechanismen von MPTP/MPP⁺ und einigen Pestiziden vorgestellt und diskutiert werden.

3.3.2.1 MPTP/MPP⁺

MPTP (1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin) war der erste chemische Stoff, für den eine selektive Schädigung der SNc des Menschen und weiterer Spezies gezeigt werden konnte. MPTP zeigt exemplarisch, dass eine Chemikalie ein Parkinsonsyndrom auslösen kann und dass IPS damit auch durch andere Umweltfaktoren verursacht werden könnte. Ferner sind an MPTP-Tiermodellen zahlreiche Erkenntnisse zur Biochemie der nigrostriatalen Degeneration und bedeutende Therapieansätze erzielt worden.

MPTP bewirkt im Primaten ein schweres und irreversibles Parkinsonsyndrom, das mit Ausnahme von Ruhetremor alle typischen Symptome der Parkinsonerkrankung des Menschen reproduziert. Pathomorphologisch bewirkt MPTP bei sporadischer Gabe eine selektive nigrostriatale Läsion und stellt damit den Goldstandard der Parkinsonmodelle dar. Die im Folgenden dargestellten Befunde stammen, soweit nicht anders erwähnt, aus Tiermodellen mit sporadischer Gabe von MPTP. Der Pathomorphologie des IPS beim Menschen kommt das MPTP-Modell mit kontinuierlicher MPTP-Applikation allerdings am nächsten, denn nur bei kontinuierlicher Gabe wird eine Schädigung monoaminerger Systeme über das dopaminerge System hinaus und die charakteristische zelluläre Pathologie mit Proteinaggregaten in Form von LB erzielt. Bei systemischer Gabe überwindet MPTP innerhalb von Minuten die Blut-Hirn-Schranke und wird in Glia und serotonergen Neuronen durch die Monoaminoxidase B (MAO-B) zu MPDP⁺ und MPP⁺ verstoffwechselt. MPP⁺ wird anschließend über monoaminerge Transporter in allen Typen monoaminerger Neurone aufgenommen. Dies resultiert in einer selektiven Toxizität für dopaminerge Neuronen, da beispielsweise in adrenergen Zellen der Nebennierenrinde bei vergleichsweise höheren Gewebekonzentrationen von MPP⁺ kaum toxische Wirkungen beobachtet werden. Im Neuron kann MPP⁺ an den vesikulären Monoamintransporter-2 binden, in Mitochondrien angereichert werden oder im Zytosol verbleiben und dort mit Enzymen interagieren. Am Bedeutendsten für den zytotoxischen Effekt auf dopaminerge Neuronen ist wahrscheinlich die Anreicherung im Mitochondrium mit

Inhibition des Komplex-I der Elektronentransportkette. Die Inhibition des Komplex-I durch MPP+ resultiert in einer Verminderung der ATP-Produktion und in einer gesteigerten Produktion freier Radikale. Beide Effekte könnten zur Degeneration dopaminerger Neuronen beitragen. Für die Bedeutung der verminderten Energieversorgung in der MPTP-induzierten nigrostriatalen Degeneration spricht, dass die Verminderung der ATP-Produktion nach Gabe von MPTP im Striatum und im ventralen Mittelhirn besonders stark ausgeprägt ist, und dass eine Steigerung der ATP-Produktion über Komplex-II durch Gabe eines Ketonkörpers die Degeneration in MPTP-behandelten Mäusen deutlich reduziert. Auch synaptische Mitochondrien scheinen im Hinblick auf eine Reduktion der ATP-Produktion durch Inhibition des Komplex-I besonders empfindlich zu sein.

Ein zweiter Effekt der Komplex-I Blockade durch MPP+ ist die erhöhte Produktion reaktiver Sauerstoffverbindungen. Hierzu ist eine dem Grad der Komplex-I-Hemmung proportionale Produktion von ROS (Reactive Oxygen Species) beschrieben. Für die Bedeutung erhöhter ROS-Produktion in der MPTP-induzierten nigrostriatalen Degeneration spricht außerdem, dass Modulationen antioxidativer Enzymsysteme, z.B. der Mangan-Superoxid-Dismutase, das Ausmaß MPTP-induzierter Neurotoxizität beeinflussen.

Der durch Inhibition des Komplex-I bewirkte Zelltod im MPTP-Tiermodell geschieht wahrscheinlich überwiegend auf dem Wege der Apoptose. Der Apoptoseweg führt dabei über eine p53-vermittelte Hochregulation von Bax, einer Translokation von Bax ins Mitochondrium, einer mitochondrialen Freisetzung von Cytochrom-c und einer Aktivierung der Caspasen 9 und 3. Bax kommt hierbei offenbar eine Schlüsselrolle zu, denn genveränderte Mäuse ohne Expression von Bax sind resistent gegen MPTP-Toxizität. Ferner führt MPTP zur Akkumulation und Nitrierung von α -Synuclein in dopaminergen Neuronen, einem Charakteristikum der nigrostriatalen Degeneration des IPS beim Menschen. Bei kontinuierlicher Gabe von MPTP kommt es darüber hinaus zur Bildung der IPS-typischen α -Synuclein- und ubiquitin-haltigen Einschlusskörper in dopaminergen und noradrenergen Neuronen.

Zusammenfassend führt MPTP/MPP+ durch selektive Inhibition des mitochondrialen Komplex-I mit verminderter ATP- und gesteigerter ROS-Produktion sowie Akkumulation und Aggregation von α -Synuclein zur beschriebenen Degeneration der SNc, vermutlich vorrangig über den apoptotischen Zelltod.

3.3.2.2 Paraquat

Das Bipyridyl Paraquat (PQ) steht aufgrund seiner strukturellen Ähnlichkeit mit dem hier diskutierten MPP+ seit der Entdeckung von MPTP im Verdacht, neurotoxisch zu wirken. Paraquat ist in der Europäischen Union (EU) für die Verwendung als Herbizid zugelassen. Dies trifft auch für eine weitere Substanz aus der Klasse der Bipyridyle – das Diquat – zu.

Die Evidenz für Neurotoxizität von PQ in experimentellen Untersuchungen spricht eine deutliche Sprache: PQ führt bei systemischer Zufuhr in vivo zur nigrostriatalen Degeneration mit selektivem Verlust dopaminerger Neurone im Tiermodell der Maus. PQ überwindet bei systemischer Gabe (d.h. intraperitonealer Injektion) die Blut-Hirn-Schranke und erreicht eine relativ gleichmäßige Verteilung über verschiedene Hirnareale, darunter Kortex, Striatum, Mittel- und Kleinhirn, wenn auch im Gehirn deutlich geringere PQ-Konzentrationen resultieren als in anderen Organen wie z.B. Lunge, Niere oder Herz. Die Aufnahme von PQ ins Gehirn geschieht vermutlich über LAT-1, einem Transporter für neutrale Aminosäuren. Dafür spricht, dass die gleichzeitige Verabreichung anderer LAT-1-Substrate die PQ-Konzentrationen im Gehirn reduzieren kann. Die zweimalige intraperitoneale Injektion von 10 mg/kg führt zum Verlust von etwa 30 % der dopaminergen Neuronen in der SNc der Maus.

Parallel zur Abnahme der Zelldichte wurde eine hochsignifikante Zunahme von Zellen mit Zeichen einer Lipid- und Proteinperoxidation beobachtet, was als Hinweis auf oxidativen Stress zu werten ist. Insbesondere wiesen die Proteine der geschädigten Zellen das Merkmal von Nitrotyrosinen auf. Dies ist ein Hinweis auf oxidative Schädigung durch Peroxynitrit, die auch in LB des Menschen bei α -Synucleinopathien, wie dem IPS, gefunden wird. In Übereinstimmung mit diesen Beobachtungen stehen Befunde einer PQ-induzierten Konformationsänderung von α -Synuclein mit Beschleunigung der α -Synuclein-Fibrillenbildung in vitro sowie einer PQ-induzierten Hochregulation von α -Synuclein mit dosisabhängiger Bildung von Amyloid-artigen Fibrillen in vivo.

Der Wirkmechanismus von PQ unterscheidet sich allerdings von dem des MPTP/MPP⁺. PQ wird wahrscheinlich nicht aktiv von Mitochondrien angereichert und bewirkt offenbar keine spezifische Inhibition des mitochondrialen Komplex-I. Dennoch sprechen die genannten Befunde dafür, dass oxidativer Stress bei der PQ-induzierten nigrostriatalen Degeneration eine wichtige Rolle spielt. Diese Annahme wird gestützt durch die Befunde einer protektiven Wirkung von

- Superoxid-Dismutase/Katalase-Mimetika in vitro und in vivo,
- einer Ferritin-Überexpression sowie
- Coenzym Q10.

Mit Blick auf die Wirkmechanismen der PQ-abhängigen ROS (Reaktive Sauerstoffspezies)-Produktion liegen folgende Erkenntnisse vor: Eine Reihe von Arbeiten hat gezeigt, dass PQ in der Gegenwart von Sauerstoff durch Redox-Cycling die Produktion verschiedener ROS bewirkt. Insbesondere bei erhöhten Konzentrationen an H₂O₂, die beispielsweise im Rahmen des Dopaminstoffwechsels oder in Gegenwart redoxaktiven Eisens möglich sind, bewirkt PQ zusätzlich die Bildung des Hydroxylradikals. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass der zytotoxische Effekt von PQ durch Inhibition der Dopaminaufnahme oder Hemmung der Nitroxid-Synthase (NOS) deutlich reduziert werden kann. Diese Beobachtungen könnten darauf hinweisen, dass im Rahmen des Dopaminstoffwechsels anfallendes H₂O₂ die PQ-vermittelte Produktion von ROS und insbesondere die Produktion des Hydroxylradikals verstärkt. Der PQ-induzierte Zelltod ist, wie bei den zuvor diskutierten Toxinen, wahrscheinlich apoptotisch. PQ führte über Stress-aktivierte Protein-Kinasen (SAPKs bzw. JNKs) zur Aktivierung der Caspase-3.

Zusammenfassend bewirkt PQ unter experimentellen Bedingungen bei systemischer Gabe eine Schädigung des nigrostriatalen dopaminergen Systems. Diese Wirkung von PQ resultiert dabei wahrscheinlich vorwiegend aus einer Produktion von ROS durch Redox-Cycling von PQ, wobei dieser Effekt in dopaminergen Neuronen durch Dopamin-Stoffwechselprodukte sowie redoxaktives Eisen im Vergleich zu anderen Neuronen besonders stark ausgeprägt sein könnte.

3.3.2.3 Maneb

Das in Europa zugelassene Fungizid Maneb (Mn-EBDC) gehört zur Klasse der Dithiocarbamate (DTC). Bezüglich der Toxizität für das nigrostriatale dopaminerge System sind als Wirkmechanismen von Mn-EBDC beschrieben: eine Inhibition mehrerer Komplexe der Atmungskette und insbesondere des Komplex-III, eine Hemmung der Proteasomaktivität sowie eine Veränderung des Transmitterhaushalts im Synaptosom mit Erhöhung der zellulären Konzentration an Dopamin, insbesondere bei gleichzeitiger Exposition gegenüber anderen Toxinen. Zahlreiche Studien zeigen, dass Mn-EBDC im Tiermodell synergistisch mit anderen Toxinen wirkt, z.B. mit PQ und MPTP. Diese Befunde weisen darauf hin, dass eine Anzahl verschiedener DTC die Kinetik anderer Toxine und den Stoffwechsel körpereigener Sub-

stanzen zugunsten einer erhöhten Neurotoxizität verändern könnten. Das in Mn-EBDC enthaltene Mangan könnte nach einer möglichen Dissoziation von Mn-EBDC zu Mangan und EBDC ebenfalls ein Parkinsonsyndrom bewirken. Die Bedeutung von Mangan in der Pathogenese des IPS erscheint allerdings eher fraglich.

3.3.2.4 Rotenon

Das Isoflavonoid Rotenon ist in der Bundesrepublik Deutschland als Pflanzenschutzmittel seit 1987 nicht mehr zugelassen. Zum Einsatz im nichtagrarischen Bereich liegen dem BfR keine Informationen vor. Es soll für den Ökolandbau empfohlen werden (FIBL, 2003). In anderen EU-Staaten könnten Rotenon-haltige Pflanzenschutzmittel noch zugelassen sein. Dies ist nach Informationen des BfR in Österreich und der Schweiz der Fall. Auch in den USA soll es als Insektizid Verwendung finden.

Seit einigen Jahren wird Rotenon in der Parkinsonforschung verwendet, da im Tiermodell mit Rotenon sowohl parkinsontypische Symptome als auch die histopathologischen Merkmale reproduzierbar sind. Ferner dient in Zellkulturen Rotenon durch seine Eigenschaft als hochaffiner Inhibitor des Komplex-I der Atmungskette als Mitochondriengift. Aufgrund seiner lipophilen Eigenschaften durchdringt Rotenon nach subkutaner und intraperitonealer Gabe leicht die Blut-Hirn-Schranke und bewirkt im gesamten ZNS eine Hemmung des mitochondrialen Komplex-I. Bei Ratten, die Rotenon intravenös über mehrere Wochen in einer Dosis von 2-3 mg pro kg Körpergewicht und Tag erhielten, wurde einige Tage nach der Behandlung eine selektive Degeneration dopaminerger Neurone der Substantia nigra und des Striatum festgestellt. Es fanden sich LB ähnliche fibrilläre zytoplasmatische Einschlüsse in den Neuronen der Substantia nigra, und die Tiere fielen durch Bewegungsstörungen wie Hypokinese, unsichere Bewegungen und gekrümmte Haltung auf. Einige zeigten Rigidität sowie ein Schütteln der Pfoten, das als Rest-Tremor in Rückbildung interpretiert wurde. Die beobachteten Veränderungen, insbesondere die Degeneration nigrostriataler dopaminerger Neurone, Bewegungsstörungen und zytoplasmatische Einschlüsse, ähneln denen, die bei Parkinson-Patienten beobachtet werden.

Die für Rotenon in frühen Arbeiten beschriebene selektive Degeneration dopaminerger Neurone und IPS-typische Zusammensetzung der Einschlusskörper in vivo erscheint nach neueren Erkenntnissen allerdings fraglich, da die Hemmung des mitochondrialen Komplex-I im gesamten ZNS ausgeprägt ist. Es wird vermutet, dass die vorwiegend nigrostriatale Degeneration eher auf eine erhöhte Vulnerabilität dopaminerger Neurone zurückgeführt werden kann. Wahrscheinlich beruht der Effekt von Rotenon auf einem synergistischen Effekt zytotoxischer Mechanismen. Hierzu zählen insbesondere die hochaffine Inhibition des mitochondrialen Komplex-I mit resultierender Minderung der ATP-Produktion sowie erhöhter ROS-Produktion und die direkte Interaktion von Rotenon mit α -Synuclein, Akkumulation von α -Synuclein und beschleunigter Fibrillenbildung. In Folge der Inhibition des Komplex-I tragen zum Zelltod dopaminerger Neuronen wahrscheinlich sowohl eine Verminderung der ATP-Produktion als auch eine gesteigerte Produktion von ROS bei. Mit Blick auf die gesteigerte Produktion von ROS ist auf die Bedeutung der Glia hingewiesen worden. Die durch Rotenon induzierte Bildung α -Synuclein-haltiger Einschlusskörper kann in Übereinstimmung mit in-vitro-Untersuchungen gesehen werden, bei denen eine Akkumulation von α -Synuclein mit Erhöhung der zytoplasmatischen Ubiquitin-Konzentration beschrieben wurde. Die Bildung von α -Synucleinfibrillen und Einschlusskörpern wird hierbei einerseits durch ROS begünstigt. Andererseits ist bei Untersuchungen in vitro gezeigt worden, dass Rotenon direkt mit α -Synuclein interagiert und so zu einer Konformationsänderung von α -Synuclein mit einer beschleunigten Fibrillenbildung führen könnte. Wie oben bereits angesprochen, ist mittlerweile umstritten, ob die durch Rotenon induzierte Zytopathologie tatsächlich IPS-typisch ist (d.h.

Synucleopathie-typisch) und nicht eher als Tauopathie-typisch eingeschätzt werden muss. Der Zelltod bei Rotenonexposition zeigt Merkmale einer Apoptose. Hierbei ist gezeigt worden, dass die Rotenon-vermittelte Erhöhung der H_2O_2 -Konzentration den Zusammenbruch der mitochondrialen Membran bewirkt und auf diesem Wege zur Freisetzung von Cytochrom-c und einer Aktivierung von Caspase-3 führen kann.

4 Pestizidexposition und Parkinson-Syndrom – Zusammenfassende Bewertung

Die Ergebnisse der Metaanalyse von 38 epidemiologischen Studien deuten auf eine relativ konsistente Assoziation zwischen einer Pestizidexposition und der Möglichkeit, an Morbus Parkinson zu erkranken, hin. Die Identifizierung eines speziellen Pestizids oder einer Pestizidkombination ergibt sich aus den epidemiologischen Studien jedoch nicht. Es kann außerdem kein zeitlicher Zusammenhang zwischen Exposition und dem Auftreten der Erkrankung und nur eine grob vereinfachte Dosis-Wirkungsbeziehung abgeleitet werden. Die Datenlage reicht nicht aus, um eine kausale Beziehung zwischen der Pestizidexposition und der Entstehung einer Parkinsonerkrankung zu konstatieren.

Zusätzlich zu diesen Ergebnissen aus den epidemiologischen Studien kann gezeigt werden, dass die typischen Symptome des IPS sowie die zugrunde liegenden Gewebeveränderungen im ZNS durch Applikation einiger Pestizide in experimentellen und mechanistischen Untersuchungen reproduziert werden können. Über eine wiederholte bzw. länger andauernde parenterale Applikation einiger geläufiger Pestizide kann in verschiedenen Tierexperimenten ein Dopaminmangel induziert werden. Die zeitliche und örtliche Dynamik der biochemischen Mechanismen und des resultierenden Verhaltens werden aber bisher nur rudimentär verstanden.

In der Vergangenheit hat MPTP (1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin) – ein Beiprodukt der Synthese eines Heroinersatzes – bei Drogenabhängigen zu Parkinsonismus geführt und die Aufmerksamkeit in der Parkinson-Ursachenforschung auf die Hypothese toxischer Einflüsse bei der Krankheitsentstehung gelenkt. Da MPTP eine Strukturähnlichkeit mit dem Herbizid Paraquat besitzt, wird insbesondere dieser Stoff als Risikofaktor der Parkinson-Krankheit diskutiert. Auch werden Parkinson-ähnliche Veränderungen in einem artifiziellen Modell bei Applikation von Rotenon beschrieben. Für andere Pestizide sind die vorliegenden Daten begrenzt.

Zusammenfassend sprechen die tierexperimentellen und mechanistischen Untersuchungen für eine zum Teil selektive Neurotoxizität von bestimmten Pestiziden auf nigrostriatale dopaminerge Neurone. Insbesondere für Rotenon und Paraquat existieren in-vivo- und in-vitro-Resultate, die eine Neurotoxizität belegen. Inwieweit diese Befunde auf den Menschen übertragen werden können, bleibt vorerst offen, da die Ergebnisse an Tiermodellen erhoben wurden. Aus diesen Studien zur biologischen Plausibilität ergeben sich gewisse Hinweise, dass bestimmte Pestizide Symptome auslösen und entsprechende histopathologische Veränderungen hervorrufen können. Diese Untersuchungen sind allerdings noch nicht ausreichend, um die Pathogenese zu verstehen, eine Schwierigkeit, die vor dem Hintergrund der unbekannteren Faktoren für die Auslösung der Erkrankung verständlich ist. Die Thematik erfordert weitere mechanistische, tierexperimentelle und epidemiologische Studien, ggf. auch in Verbindung mit genetischen Kopplungsanalysen, da vorstellbar ist, dass eine genetische Disposition z.B. im Sinne einer verminderten Fähigkeit zur Detoxifizierung eine erhöhte Umweltvulnerabilität nach sich ziehen könnte (Gasser, 2005).

5 Referenzen

5.1 Epidemiologie

- Allam et al. Parkinson's disease, tobacco and age: meta analysis. *Rev Neurol*, 36(6):510-3, 2003.
- Allam et al. Parkinson's disease risk factors: genetic, environmental, or both? *Neurol Res*, 27(2):206-8, 2005.
- Andersen. Paraquat and iron exposure as possible synergistic environmental risk factors in Parkinson's disease. *Neurotox Res*, 5(5):307-13, 2003.
- Baldereschi et al. Lifestyle-related risk factors for Parkinson's disease: a population-based study. *Acta Neurol Scand*, 108(4):239-44, 2003.
- Baldi et al. Chrysostome, J. Dartigues, and P. Brochard. Association between Parkinson's disease and exposure to pesticides in southwestern France. *Neuroepidemiology*, 22(5):305-10, 2003.
- Baldi et al. Neurodegenerative diseases and exposure to pesticides in the elderly. *Am J Epidemiol*, 157(5):409-14, 2003.
- Behari, et al. Risk factors of Parkinson's disease in Indian patients. *J Neurol Sci*, 190(1-2):49-55, 2001.
- Bhatt et al. Acute and reversible parkinsonism due to organophosphate pesticide intoxication: five cases. *Neurology*, 52(7):1467-71, 1999.
- Blettner & Schlattmann. *Handbook of Epidemiology*, chapter Meta-Analysis in Epidemiology, pages 829-858. Springer, Berlin, 2005. 40.
- Böhning et al. Recent developments in computer assisted mixture analysis. *Biometrics*, 54:283-303, 1998.
- Böhning et al. C.A.MAN- computer assisted analysis of mixtures: Statistical algorithms. *Biometrics*, 48:283-303, 1992.
- Brown et al. Neurodegenerative diseases: An overview of environmental risk factors. *Environmental Health Perspectives*, 113(9):1250-1256, SEP 2005.
- Butterfield et al. Environmental antecedents of young-onset Parkinson's disease. *Neurology*, 43(6):1150-8, 1993.
- Calne et al. Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and motoneurone disease: abiotrophic interaction between ageing and environment? *Lancet*, 2(8515):1067-70, 1986.
- Chan et al. Comparison of environmental and genetic factors for Parkinson's disease between Chinese and Caucasians. *Neuroepidemiology*, 23(1-2):13-22, 2004.
- Chan et al. Genetic and environmental risk factors for Parkinson's disease in a Chinese population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 65(5):781-4, 1998.
- Chaturvedi & Ostbye. Environmental exposures in elderly Canadians with Parkinson's disease. *Can J Neurol Sci*, (22):232-234, 1995.
- Checkoway & Nelson. Epidemiologic approaches to the study of Parkinson's disease etiology. *Epidemiology*, 10(3):327-36, 1999.
- Checkoway et al. Parkinson's disease risks associated with cigarette smoking, alcohol consumption, and caffeine intake. *Am J Epidemiol*, 155(8):732-8, 2002.

- Chrysostome et al. Epidemiology of multiple system atrophy: a prevalence and pilot risk factor study in Aquitaine, France. *Neuroepidemiology*, 23(4):201-8, 2004.
- de Palma & Mozzoni. Case-control study of interactions between genetic and environmental factors in Parkinson's disease. *Lancet*, (325):1986-1987, 1998.
- de Pedro-Cuesta. Parkinson's disease occurrence in Europe. *Acta Neurol Scand*, 84(4):357-65, 1991.
- Deng et al. Further evidence that interactions between CYP2D6 and pesticide exposure increase risk for Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 55(6):897-897, 2004.
- Duzcan et al. Familial influence on parkinsonism in a rural area of Turkey (Kizilcabuluk-Denizli): a community-based casecontrol study. *Mov Disord*, 18(7):799-804, 2003.
- Elbaz et al. CYP2D6 polymorphism, pesticide exposure, and Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 55(3):430-4, 2004.
- Elbaz et al. S18Y polymorphism in the UCH-L1 gene and Parkinson's disease: evidence for an age-dependent relationship. *Mov Disord*, 18(2):130-7, 2003.
- Engel et al. Parkinsonism and occupational exposure to pesticides. *Occup Environ Med*, 58(9):582-9, 2001.
- Etminan et al. Intake of vitamin E, vitamin C, and carotenoids and the risk of Parkinson's disease: a meta-analysis. *Lancet Neurol*, 4(6):362-5, 2005.
- Fall et al. Nutritional and occupational factors influencing the risk of Parkinson's disease: a casecontrol study in southeastern Sweden. *Mov Disord*, 14(1):28-37, 1999.
- Firestone et al. Pesticides and risk of Parkinson disease: a population-based case-control study. *Arch Neurol*, 62(1):91-5, 2005.
- Fong et al. Pesticides exposure and genetic polymorphism of paraoxonase in the susceptibility of Parkinson's disease. *Acta Neurol Taiwan*, 14(2):55-60, 2005.
- Fukuda. Neurotoxicity of MPTP. *Neuropathology*, 21(4):323-332, Dec 2001.
- Galanaud et al. Cigarette smoking and Parkinson's disease: a casecontrol study in a population characterized by a high prevalence of pesticide exposure. *Mov Disord*, 20(2):181-9, 2005.
- Gartner et al. Test-retest repeatability of self-reported environmental exposures in Parkinson's disease cases and healthy controls. *Parkinsonism Relat Disord*, 11(5):287-95, 2005.
- Gasparini et al. Parkinson's disease and pesticide exposure: Does a selective cognitive profile exist? *Movement Disorders*, 19:S411-S411, 2004.
- Gorell et al. The risk of Parkinson's disease with exposure to pesticides, farming, well water, and rural living. *Neurology*, 50(5):1346-50, 1998.
- Gorell et al. Multiple risk factors for Parkinson's disease. *J Neurol Sci*, 217(2):169-74, 2004.
- Herishanu et al. A casecontrol study of Parkinson's disease in urban population of southern Israel. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 28(2):144-147, 2001.
- Hertzman et al. A casecontrol study of Parkinson's disease in a horticultural region of British Columbia. *Mov Disord*, 9(1):69-75, 1994.
- Hill. The environment and disease: association or causation? *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 58:295-300, 1965.

- Ho et al. Epidemiologic study of Parkinson's disease in Hong Kong. *Neurology*, 39(10):1314-8, 1989.
- Hoppin et al. Chemical predictors of wheeze among farmer pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Am J Respir Crit Care Med*, 165(5):683-9, 2002.
- Hubble et al. Risk factors for Parkinson's disease. *Neurology*, 43(9):1693-7, 1993.
- Hubble et al. Gene-toxin interaction as a putative risk factor for Parkinson's disease with dementia. *Neuroepidemiology*, 17(2):96-104, 1998.
- Jimenez-Jimenez et al. Exposure to well water and pesticides in Parkinson's disease: a case-control study in the Madrid area. *Mov Disord*, 7(2):149-52, 1992.
- Korchounov et al. Differences in age at onset and familial aggregation between clinical types of idiopathic Parkinson's disease. *Mov Disord*, 19(9):1059-64, 2004.
- Kumar et al. Clustering of Parkinson disease: shared cause or coincidence? *Arch Neurol*, 61(7):1057-60, 2004.
- Kuopio et al. Environmental risk factors in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 14(6):928-39, 1999.
- Lai et al. Occupational and environmental risk factors for Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 8(5):297-309, 2002.
- Le Couteur et al. Ageenvironment and gene-environment interactions in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Rev Environ Health*, 17(1):51-64, 2002.
- Li et al. Evaluation of epidemiologic and animal data associating pesticides with Parkinson's disease. *J Occup Environ Med*, 47(10):1059-87, 2005.
- Liou et al. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a case-control study in Taiwan. *Neurology*, 48(6):1583-8, 1997.
- Lockwood. Pesticides and parkinsonism: is there an etiological link? *Curr Opin Neurol*, 13(6):687-90, 2000.
- Macaskill et al. A comparison of methods to detect publication bias in meta-analysis. *Statistics in Medicine*, 20:641-654, 2001.
- Martyn & Osmond. Parkinson's disease and the environment in early life. *J Neurol Sci*, 132(2):201-6, 1995.
- McCann et al. The epidemiology of Parkinson's disease in an Australian population. *Neuroepidemiology*, 17(6):310-7, 1998.
- Menegon et al. Parkinson's disease, pesticides, and glutathione transferase polymorphisms. *Lancet*, 352(9137):1344-6, 1998.
- Morano et al. Riskfactors for Parkinson's disease: case-control study in the province of Caceres, Spain. *Acta Neurol Scand*, 89(3):164-70, 1994.
- Nichols et al. Evaluation of the role of Nurr1 in a large sample of familial Parkinson's disease. *Mov Disord*, 19(6):649-55, 2004.
- Nuti et al. Environmental factors and Parkinson's disease: a case-control study in the Tuscany region of Italy. *Parkinsonism Relat Disord*, 10(8):481-5, 2004.
- Orth & Tabrizi. Models of Parkinson's disease. *Mov Disord*, 18(7):729-37, 2003.
- Pals et al. Case-control study of environmental risk factors for Parkinson's disease in Belgium. *European Journal of Epidemiology*, 18(12):1133-1142, DEC 2003.

- Paolini et al. Parkinson's disease, pesticides and individual vulnerability. *Trends Pharmacol Sci*, 25(3):124-9, 2004.
- Park et al. Occupations and Parkinson's disease: a multi-center case-control study in South Korea. *Neurotoxicology*, 26(1):99-105, 2005.
- Petrovitch et al. Plantation work and risk of Parkinson disease in a population-based longitudinal study. *Arch Neurol*, 59(11):1787-92, 2002.
- Pezzella et al. Prevalence and clinical features of hedonistic homeostatic dysregulation in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 20(1):77-81, 2005.
- Preux & Codet. Parkinson's disease and environmental factors. Matched case-control study in the Limousine region, France. *Neuroepidemiology*, (19):333-337, 2000.
- Priyadarshi et al. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a metaanalysis. *Environ Res*, 86(2):122-7, 2001.
- Ragonese et al. Risk of Parkinson disease in women: effect of reproductive characteristics. *Neurology*, 62(11):2010-4, 2004.
- Ragonese et al. A case-control study on cigarette, alcohol, and coffee consumption preceding Parkinson's disease. *Neuroepidemiology*, 22(5):297-304, 2003.
- Rumsby et al. Pesticides and Parkinson's disease - a critical review. *Toxicology*, 202(1-2):71-72, 2004.
- Schlattmann & Böhning. Computer packages C.A.MAN (computer assisted mixture analysis) and Dismap. *Stat Med*, 12(19-20):1965, 1993.
- Scott et al. Pesticide use and risk of Parkinson disease: A family-based case-control study. *Movement Disorders*, 19:196-196, 2004.
- Seaton et al. Parkinsonism and Parkinson's disease (Geoparkinson), 2005.
- Seidler et al. Possible environmental, occupational, and other etiologic factors for Parkinson's disease: a case-control study in Germany. *Neurology*, 46(5):1275-84, 1996.
- Semchuk et al. Parkinson's disease and exposure to agricultural work and pesticide chemicals. *Neurology*, 42(7):1328-35, 1992.
- Semchuk et al. Parkinson's disease: a test of the multifactorial etiologic hypothesis. *Neurology*, 43(6):1173-80, 1993. 46.
- Smargiassi et al. A case-control study of occupational and environmental risk factors for Parkinson's disease in the Emilia-Romagna region of Italy. *Neurotoxicology*, 19(4-5):709-12, 1998.
- Stern et al. The epidemiology of Parkinson's disease. A case-control study of young-onset and old-onset patients. *Arch Neurol*, 48(9):903-7, 1991.
- Taylor et al. Environmental, medical, and family history risk factors for Parkinson's disease: a New England-based case control study. *Am J Med Genet*, 88(6):742-9, 1999.
- van Howelingen et al. Advanced methods in meta-analysis: multivariate approach and meta-regression. *Statistics in Medicine*, 59:589-624, 2002.
- Veldman et al. Genetic and environmental risk factors in Parkinson's disease. *Clin Neurol Neurosurg*, 100(1):15-26, 1998.
- Viergge. Pesticide exposure and Parkinson's syndrome - the epidemiological and experimental evidence. *Nervenarzt*, 73(10):982-9, 2002.

von Campenhausen et al. Prevalence and incidence of Parkinson's disease in Europe. *Eur Neuropsychopharmacol*, 15(4):473-90, 2005.

Wirdefeldt et al. Risk and protective factors for Parkinson's disease: a study in Swedish twins. *Ann Neurol*, 57(1):27-33, 2005.

Wong et al. Environmental risk factors in siblings with Parkinson's disease. *Arch Neurol*, 48(3):287-9, 1991.

Zhang et al. The tau gene haplotype h1 confers a susceptibility to Parkinson's disease. *Eur Neurol*, 53(1):15-21, 2005.

Zhang & Roman. Worldwide occurrence of Parkinson's disease: an updated review. *Neuroepidemiology*, 12(4):195-208, 1993.

Zorzon et al. Familial and environmental risk factors in Parkinson's disease: a casecontrol study in north-east Italy. *ACTA Neurologica Scandinavica*, 105(2):77 – 82, Feb 2002.

5.2 Biologische Plausibilität

Alam et al. Oxidative DNA damage in the parkinsonian brain: an apparent selective increase in 8 hydroxyguanine levels in substantia nigra. *J Neurochem*, 69(3):1196-203, 1997.

Andreassen et al. Mice with a partial deficiency of manganese superoxide dismutase show increased vulnerability to the mitochondrial toxins malonate, 3-nitropropionic acid, and MPTP. *Exp Neurol*, 167(1):189-95, 2001.

Aschner. Manganese: brain transport and emerging research needs. *Environ Health Perspect*, 108(Suppl 3):429-32, Review, 2000.

Barlow et al. Increased synaptosomal dopamine content and brain concentration of paraquat produced by selective dithiocarbamates. *J Neurochem*, 85(4):1075-86, 2003.

Barrientes & Moraes. Titrating the effects of mitochondrial complex I impairment in the cell physiology. *J Biol Chem*, 274(23):16188-97, 1999.

Bence et al. Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science*, 292(5521):1552-5, 2001.

Ben-Shachar et al. Iron-melanin interaction and lipid peroxidation: implications for Parkinson's disease. *J Neurochem*, 57(5):1609-14, 1991.

Bergen. The in vitro effect of dieldrin on respiration of rat liver mitochondria. *Proc Soc Exp Biol Med*, 136(3):732-5, 1971.

Betarbet et al. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci*, 3(12):1301-6, 2000.

Brooks et al. Paraquat elicited neurobehavioral syndrome caused by dopaminergic neuron loss. *Brain Res*, 27(823):1-10, 1999.

Brown et al. Pesticides and Parkinson's Disease – Is there a link. *Environ. Health Perspect*, 114(2):156-164, 2006.

Brown & Borutaite V. Inhibition of mitochondrial respiratory complex I by nitric oxide, peroxynitrite and S-nitrosothiols. *Biochim Biophys Acta*, 1658(1-2):44-9, 2004.

Burns et al. A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 80(14):4546-50, 1983.

- Bus et al. Superoxide- and singlet oxygen-catalyzed lipid peroxidation as a possible mechanism for paraquat (methyl viologen) toxicity. *Biochem Biophys Res Commun*, 58(3):749-55, 1974.
- Bus et al. Paraquat toxicity: proposed mechanism of action involving lipid peroxidation. *Environ Health Perspect*, 16:139-46, 1976.
- Chan et al. Rapid ATP loss caused by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in mouse brain. *J Neurochem*, 57(1):348-51, 1991.
- Chui et al. Toxicokinetics and bioavailability of paraquat in rats following different routes of administration. *Toxicol Ind Health*, 4(2):203-19, 1988.
- Chung et al. The role of the ubiquitin-proteasomal pathway in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci*, 24(11 Suppl):7-14, Review, 2001a.
- Chung et al. Parkin ubiquitinates the alpha-synuclein-interacting protein, synphilin-1: implications for Lewy-body formation in Parkinson disease. *Nat Med*, 7(10):1144-50, 2001b.
- Cohen et al. Parkinson disease: a new link between monoamine oxidase and mitochondrial electron flow. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(10):4890-4, 1997.
- Connor et al. A quantitative analysis of isoferitins in select regions of aged, parkinsonian, and Alzheimer's diseased brains. *J Neurochem*, 65(2):717-24, 1995.
- Dauer & Przedborski. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*, 39(6):889-909, Review, 2003.
- Davey et al. Energy thresholds in brain mitochondria. Potential involvement in neurodegeneration. *J Biol Chem*, 273(21):12753-7, 1998.
- Dexter et al. Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson's disease. *J Neurochem*, 52(6):1830-6, 1989.
- Dexter et al. Alterations in the levels of iron, ferritin and other trace metals in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. *Brain*, 114(4):1953-75, 1991.
- Double et al. Structural characteristics of human substantia nigra neuromelanin and synthetic dopamine melanins. *J Neurochem*, 75(6):2583-9, 2000.
- Double et al. Influence of neuromelanin on oxidative pathways within the human substantia nigra. *Neurotoxicol Teratol*, 24(5):621-8, Review, 2002.
- Earle et al. Studies on Parkinson's disease including x-ray fluorescent spectroscopy of formalin fixed brain tissue. *J Neuropathol Exp Neurol*, 27(1):1-14, 1968.
- Fabre et al. Effect of MPTP on brain mitochondrial H₂O₂ and ATP production and on dopamine and DOPAC in the striatum. *J Physiol Biochem*, 55(4):325-31, 1999.
- Faucheux BA et al. Blood vessels change in the mesencephalon of patients with Parkinson's disease. *Lancet*, 353(9157):981-2, 1999.
- Faucheux et al. Lack of up-regulation of ferritin is associated with sustained iron regulatory protein-1 binding activity in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease. *J Neurochem*, 83(2):320-30, 2002.
- Faucheux et al. Neuromelanin associated redox-active iron is increased in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease. *J Neurochem*, 86(5):1142-8, 2003.
- Ferraz et al. Chronic exposure to the fungicide maneb may produce symptoms and signs of CNS manganese intoxication. *Neurology*, 38(4):550-3, 1988.

- FIBL, Forschungsinstitut für biologischen Landbau, Betriebsmittelliste 2003.
- Floor & Wetzel. Increased protein oxidation in human substantia nigra pars compacta in comparison with basal ganglia and prefrontal cortex measured with an improved dinitrophenylhydrazine assay. *J Neurochem*, 70(1):268-75, 1998.
- Fornai et al. Parkinson-like syndrome induced by continuous MPTP infusion: convergent roles of the ubiquitin-proteasome system and alpha-synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(9):3413-8, 2005.
- Gao et al. Distinct role for microglia in rotenone-induced degeneration of dopaminergic neurons. *J Neurosci*, 22(3):782-90, 2002.
- Gao et al. Critical role for microglial NADPH oxidase in rotenone-induced degeneration of dopaminergic neurons. *J Neurosci*. 23(15):6181-7. 2003.
- Gasser. Genetics of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol*. 18(4):363-9, Review, 2005.
- Gerlach, Reichmann, Riederer. *Die Parkinson-Krankheit*. Springer Verlag, 2003.
- Giasson & Lee, 2000. A new link between pesticides and Parkinson's disease. *Nat Neurosci*, 3(12):1227-8, 2000.
- Giasson et al. Oxidative damage linked to neurodegeneration by selective alpha-synuclein nitration in synucleinopathy lesions. *Science*, 290(5493):985-9, 2000.
- Gluck et al. Inhibition of brain mitochondrial respiration by dopamine and its metabolites: implications for Parkinson's disease and catecholamine-associated diseases. *J Neurochem*, 91(4):788-95, 2004.
- Good et al. Neuromelanin-containing neurons of the substantia nigra accumulate iron and aluminum in Parkinson's disease: a LAMMA study. *Brain Res*, 593(2):343-6, 1992.
- Gorell et al. Occupational metal exposures and the risk of Parkinson's disease. *Neuroepidemiology*;18(6) :303-8, Review, 1999.
- Greenamyre et al. Quantitative autoradiography of dihydrorotenone binding to complex I of the electron transport chain. *J Neurochem*, 59(2):746-9, 1992.
- Haas et al. Low platelet mitochondrial complex I and complex II/III activity in early untreated Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 37(6):714-22, 1995.
- Hara et al. Mechanism of paraquat-stimulated lipid peroxidation in mouse brain and pulmonary microsomes. *J Pharm Pharmacol*, 43(10):731-3, 1991a.
- Hara et al. Different effects of paraquat on microsomal lipid peroxidation in mouse brain, lung and liver. *Pharmacol Toxicol*, 68(4):260-5, 1991b.
- Hara et al. Effects of MPTP, MPP+, and paraquat on NADPH-dependent lipid peroxidation in mouse brain and lung microsomes. *Biochem Med Metab Biol*, 45(3):292-7, 1991c.
- Hara et al. NADPH-dependent reaction of paraquat in mouse brain microsomes. *Toxicol Lett*, 54(2-3):271-7, 1991d.
- Hartmann A et al. Caspase-3: A vulnerability factor and final effector in apoptotic death of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(6):2875-80, 2000.
- Hartmann et al. Caspase-8 is an effector in apoptotic death of dopaminergic neurons in Parkinson's disease, but pathway inhibition results in neuronal necrosis. *J Neurosci*, 21(7):2247-55, 2001.

- Hasegawa et al. 1-Methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺) induces NADH-dependent superoxide formation and enhances NADH-dependent lipid peroxidation in bovine heart submitochondrial particles. *Biochem Biophys Res Commun*, 170(3):1049-55, 1990.
- Hasegawa et al. A dual effect of 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺)-analogs on the respiratory chain of bovine heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys*, 337(1):69-74, 1997.
- Hassan. Exacerbation of superoxide radical formation by paraquat. *Methods Enzymol*, 105:523-32, 1984.
- Heikkila et al. Dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine in mice. *Science*, 224(4656):1451-3, 1984.
- Heinz et al. Dopamine and norepinephrine depletion in ring doves fed DDE, dieldrin, and Aroclor 1254. *Toxicol Appl Pharmacol*, 53(1):75-82, 1980.
- Hertzman et al. Parkinson's disease: a case-control study of occupational and environmental risk factors. *Am J Ind Med*, 17(3):349-55, 1990.
- Hoglinger et al. Dysfunction of mitochondrial complex I and the proteasome: interactions between two biochemical deficits in a cellular model of Parkinson's disease. *J Neurochem*, 86(5):1297-307, 2003.
- Hoglinger et al. The mitochondrial complex I inhibitor rotenone triggers a rebral tauopathy. *J Neurochem*, 95(4):930-9, 2005.
- Jellinger et al. Iron-melanin complex in substantia nigra of parkinsonian brains: an x-ray microanalysis. *J Neurochem*, 59(3):1168-71, 1992.
- Jenner P et al. Oxidative stress as a cause of nigral cell death in Parkinson's disease and incidental Lewy body disease. The Royal Kings and Queens Parkinson's Disease Research Group. *Ann Neurol*, 32 (Suppl):82-7, Review, 1992.
- Jenner. Understanding cell death in Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 44(3 Suppl 1):72-84, Review, 1998.
- Jenner. Oxidative stress in Parkinson's disease. *Ann Neurol.*, 53(Suppl 3):26-36, Review, 2003.
- Kanthasamy et al. Proteolytic activation of proapoptotic kinase PKCdelta is regulated by overexpression of Bcl-2: implications for oxidative stress and environmental factors in Parkinson's disease. *Ann N Y Acad Sci*, 1010:683-6, 2003.
- Kitazawa et al. Dieldrin-induced oxidative stress and neurochemical changes contribute to apoptotic cell death in dopaminergic cells. *Free Radic Biol Med*, 31(11):1473-85, 2001.
- Kitazawa et al., 2003. Dieldrin induces apoptosis by promoting caspase-3-dependent proteolytic cleavage of protein kinase Cdelta in dopaminergic cells: relevance to oxidative stress and dopaminergic degeneration. *Neuroscience*, 119(4):945-64, 2003.
- Klaidman et al. Redox cycling of MPP⁺: evidence for a new mechanism involving hydride transfer with xanthine oxidase, aldehyde dehydrogenase, and lipoamide dehydrogenase. *Free Radic Biol Med*, 15(2):169-79, 1993.
- Klivenyi et al. Manganese superoxide dismutase overexpression attenuates MPTP toxicity. *Neurobiol Dis*, 5(4):253-8, 1998.
- Kushnareva et al. Complex I-mediated reactive oxygen species generation: modulation by cytochrome c and NAD(P)⁺ oxidation-reduction state. *Biochem J*, 368(2):545-53, 2002.

- Kweon et al. Distinct mechanisms of neurodegeneration induced by chronic complex I inhibition in dopaminergic and non-dopaminergic cells. *J Biol Chem*, 279(50):51783-92, 2004.
- Langston et al. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine- analog synthesis. *Science*, 219(4587):979-80, 1983.
- Lee et al. Formation and removal of alpha-synuclein aggregates in cells exposed to mitochondrial inhibitors. *J Biol Chem*, 277(7):5411-7, 2002.
- Li et al. Mitochondrial complex I inhibitor rotenone induces apoptosis through enhancing mitochondrial reactive oxygen species production. *J Biol Chem*, 278(10):8516-25, 2003.
- Liochev & Fridovich. Lucigenin luminescence as a measure of intracellular superoxide dismutase activity in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(7):2891-6, 1997.
- Liou et al. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a case-control study in Taiwan. *Neurology*, 48(6):1583-8, 1997.
- Liu et al. Gene transfer of a reserpine-sensitive mechanism of resistance to N-methyl-4-phenylpyridinium. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89(19):9074-8, 1992.
- Mandir et al. Poly(ADP-ribose) polymerase activation mediates 1-methyl-4-phenyl-1, 2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(10):5774-9, 1999.
- Mandir et al. A novel in vivo post-translational modification of p53 by PARP-1 in MPTP-induced parkinsonism. *J Neurochem*, 83(1):186-92, 2002.
- Mann et al. Complex I, iron, and ferritin in Parkinson's disease substantia nigra. *Ann Neurol*, 36(6):876-81, 1994.
- Manning-Bog et al. The herbicide paraquat causes up-regulation and aggregation of alpha-synuclein in mice: paraquat and alpha-synuclein. *J Biol Chem*, 277(3):1641-4, 2002.
- Markey et al. Intraneuronal generation of a pyridinium metabolite may cause drug-induced parkinsonism. *Nature*, 311(5985):464-7, 1984.
- Martins et al. Oxidative stress induces activation of a cytosolic protein responsible for control of iron uptake. *Arch Biochem Biophys*, 316(1):128-34, 1995.
- McCarthy et al. Paraquat induces oxidative stress and neuronal cell death; neuroprotection by water-soluble Coenzyme Q10. *Toxicol Appl Pharmacol*, 201(1):21-31, 2004.
- McCormack & DiMonte. Effects of L-dopa and other amino acids against paraquat-induced nigrostriatal degeneration. *J Neurochem*, 85(1):82-6, 2003.
- McCormack et al. Environmental risk factors and Parkinson's disease: selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat. *Neurobiol Dis*, 10(2):119-27, 2002.
- McCormack et al. Role of oxidative stress in paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. *J Neurochem*, 93(4):1030-7, 2005.
- McGrew et al. Ethylenebisdithiocarbamate enhances MPTP-induced striatal dopamine depletion in mice. *Neurotoxicology*, 21(3):309-12, 2000.
- McNaught et al. Failure of the ubiquitin-proteasome system in Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci*, 2(8):589-94, 2001.
- McNaught et al. Aggresome-related biogenesis of Lewy bodies. *Eur J Neurosci*, 16(11):2136-48, 2002a.

- McNaught et al. Proteasome inhibition causes nigral degeneration with inclusion bodies in rats. *Neuroreport*, 13(11):1437-41, 2002b.
- Meco et al. Parkinsonism after chronic exposure to the fungicide maneb (manganese ethylene-bis-dithiocarbamate). *Scand J Work Environ Health*, 20(4):301-5, 1994.
- Mizuno et al. Deficiencies in complex I subunits of the respiratory chain in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun*, 163(3):1450-5, 1989.
- Moon et al. Mitochondrial membrane depolarization and the selective death of dopaminergic neurons by rotenone: protective effect of coenzyme Q10. *J Neurochem*, 93(5):1199-208, 2005.
- Moratalla et al. Differential vulnerability of primate caudate-putamen and striosome- matrix dopamine systems to the neurotoxic effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89(9):3859-63, 1992.
- Nicklas et al. Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4- phenylpyridine, a metabolite of the neurotoxin, 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6- tetrahydropyridine. *Life Sci*, 36(26):2503-8, 1985.
- Norris & Giasson. Role of oxidative damage in protein aggregation associated with Parkinson's disease and related disorders. *Antioxid Redox Signal*, 7(5-6):672-84, Review, 2005.
- Nunez et al. Iron-activated iron uptake: a positive feedback loop mediated by iron regulatory protein 1. *Biometals*, 16(1):83-90, 2003.
- Panov et al. Rotenone Model of Parkinson Disease: Multiple brain mitochondria dysfunctions after short term systemic rotenone intoxication. *J Biol Chem*, 280(51):42026-35, 2005.
- Parker et al. Abnormalities of the electron transport chain in idiopathic Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 26(6):719-23, 1989.
- Pearce et al. Alterations in the distribution of glutathione in the substantia nigra in Parkinson's disease. *J Neural Transm*, 104(6-7):661-77, 1997.
- Peng et al. The herbicide paraquat induces dopaminergic nigral apoptosis through sustained activation of the JNK pathway. *J Biol Chem*, 279(31):32626-32, 2004.
- Peng et al. Superoxide dismutase/catalase mimetics are neuroprotective against selective paraquat-mediated dopaminergic neuron death in the substantial nigra: implications for Parkinson disease. *J Biol Chem*, 280(32):29194-8, 2005.
- Przedborski et al. Oxidative post-translational modifications of alpha-synuclein in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) mouse model of Parkinson's disease. *J Neurochem*, 76(2):637-40, 2001.
- Przedborski & Vila. The 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model: a tool to explore the pathogenesis of Parkinson's disease. *Ann N Y Acad Sci*, 991:189-98, Review, 2003.
- Ramsay & Singer. Energy-dependent uptake of N-methyl-4-phenylpyridinium, the neurotoxic metabolite of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, by mitochondria. *J Biol Chem*, 261(17):7585-7, 1986.
- Reinhard et al. Subcellular compartmentalization of 1-methyl-4-phenylpyridinium with catecholamines in adrenal medullary chromaffin vesicles may explain the lack of toxicity to adrenal chromaffin cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84(22):8160-4, 1987.
- Reinheckel et al. Comparative resistance of the 20S and 26S proteasome to oxidative stress. *Biochem J*, 335 (Pt 3):637-42, 1998.

- Richardson JR et al. Paraquat neurotoxicity is distinct from that of MPTP and rotenone. *Toxicol Sci*, 88(1):193-201, 2005.
- Riederer et al. Distribution of iron in different brain regions and subcellular compartments in Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 32 Suppl:S101-4, Review, 1992.
- Ritz & Yu. Parkinson's disease mortality and pesticide exposure in California 1984-1994. *Int J Epidemiol*, 29(2):323-9, 2000.
- Sakka et al. Dopamine is involved in selectivity of dopaminergic neuronal death by rotenone. *Neuroreport*, 14(18):2425-8, 2003.
- Sanchez-Ramos et al. Toxicity of dieldrin for dopaminergic neurons in mesencephalic cultures. *Exp Neurol*, 150(2):263-71, 1998.
- Schapira et al. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet*, 1(8649):1269, 1989.
- Semchuk et al. Parkinson's disease and exposure to rural environmental factors: a population based case-control study. *Can J Neurol Sci*, 18(3):279-86, 1991.
- Sharma. Influence of dieldrin on serotonin turnover and 5-hydroxyindole acetic acid efflux in mouse brain. *Life Sci*, 19(4):537-41, 1976.
- Sherer et al. An in vitro model of Parkinson's disease: linking mitochondrial impairment to altered alpha-synuclein metabolism and oxidative damage. *J Neurosci*, 22(16):7006-15, 2002a.
- Sherer et al. Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease. *J Neurosci*, 23(34):10756-64, 2003a.
- Sherer et al. Subcutaneous rotenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and alpha-synuclein aggregation. *Exp Neurol*, 179(1):9-16, 2003b.
- Shimizu et al. Carrier-mediated processes in blood—brain barrier penetration and neural uptake of paraquat. *Brain Res*, 906(1-2):135-42, 2001.
- Shimizu et al. Paraquat leads to dopaminergic neural vulnerability in organotypic midbrain culture. *Neurosci Res*, 46(4):523-32, 2003.
- Shimura-Miura et al. Increased 8-oxo-dGTPase in the mitochondria of substantia nigral neurons in Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 46(6):920-4, 1999.
- Sian et al. Alterations in glutathione levels in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders affecting basal ganglia. *Ann Neurol*, 36(3):348-55, 1994.
- Smith . The response of the lung to foreign compounds that produce free radicals. *Annu Rev Physiol*, 48:681-92, Review, 1986.
- Smythies. On the functional of neuromelanin. *Proc Biol Sci*, 263(1369):487-9, 1996.
- Snyder et al. Aggregated and monomeric alpha-synuclein bind to the S6' proteasomal protein and inhibit proteasomal function. *J Biol Chem*, 278(14):11753-9, 2003.
- Sofic et al. Increased iron (III) and total iron content in post mortem substantia nigra of parkinsonian brain. *J Neural Transm*, 74(3):199-205, 1988.
- Souza et al. Dityrosine cross-linking promotes formation of stable alpha -synuclein polymers. Implication of nitrate and oxidative stress in the pathogenesis of neurodegenerative synucleinopathies. *J Biol Chem*, 275(24):18344-9, 2000.

- Speciale et al. The neurotoxin 1-methyl-4-phenylpyridinium is sequestered within neurons that contain the vesicular monoamine transporter. *Neuroscience*, 84(4):1177-85, 1998.
- Spillantini et al. alpha-Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with lewy bodies. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(11):6469-73, 1998.
- Stefanis et al. Expression of A53T mutant but not wild-type alpha-synuclein in PC12 cells induces alterations of the ubiquitin-dependent degradation system, loss of dopamine release, and autophagic cell death. *J Neurosci*, 21(24):9549-60, 2001.
- Sun et al. Dieldrin induces ubiquitin-proteasome dysfunction in alpha-synuclein overexpressing dopaminergic neuronal cells and enhances susceptibility to apoptotic cell death. *J Pharmacol Exp Ther*, 315(1):69-79, 2005.
- Swerdlow et al. Matrilineal inheritance of complex I dysfunction in a multigenerational Parkinson's disease family. *Ann Neurol*, 44(6):873-81, 1998.
- Tada-Oikawa et al. Mechanism for generation of hydrogen peroxide and change of mitochondrial membrane potential during rotenone-induced apoptosis. *Life Sci*, 73(25):3277-88, 2003.
- Takahashi et al. Maneb enhances MPTP neurotoxicity in mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 66(1):167-70, 1989.
- Tanaka et al. Inducible expression of mutant alpha-synuclein decreases proteasome activity and increases sensitivity to mitochondria-dependent apoptosis. *Hum Mol Genet*, 10(9):919-26, 2001.
- Tatton & Kish. In situ detection of apoptotic nuclei in the substantia nigra compacta of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated mice using terminal deoxynucleotidyl transferase labelling and acridine orange staining. *Neuroscience*, 77(4):1037-48, 1997.
- Tatton et al. A fluorescent double-labeling method to detect and confirm apoptotic nuclei in Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 44(3 Suppl 1):S142-8, 1998.
- Tatton et al. Apoptosis in Parkinson's disease: signals for neuronal degradation. *Ann Neurol*, 53(Suppl 3):61-70, 2003.
- Thiruchelvam et al. Potentiated and preferential effects of combined paraquat and maneb on nigrostriatal dopamine systems: environmental risk factors for Parkinson's disease? *Brain Res*, 873(2):225-34, 2000a.
- Thiruchelvam et al. The nigrostriatal dopaminergic system as a preferential target of repeated exposures to combined paraquat and maneb: implications for Parkinson's disease. *J Neurosci*, 20(24):9207-14, 2000b.
- Thiruchelvam et al. Age-related irreversible progressive nigrostriatal dopaminergic neurotoxicity in the paraquat and maneb model of the Parkinson's disease phenotype. *Eur J Neurosci*, 18(3):589-600, 2003.
- Tieu et al. D-beta-hydroxybutyrate rescues mitochondrial respiration and mitigates features of Parkinson disease. *J Clin Invest*, 112(6):892-901, 2003.
- Uversky et al. Why are "natively unfolded" proteins unstructured under physiologic conditions? *Proteins*, 41(3):415-27, 2000.
- Uversky et al. Pesticides directly accelerate the rate of alpha-synuclein fibril formation: a possible factor in Parkinson's disease. *FEBS Lett*, 500(3):105-8, 2001a.

- Uversky et 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*, 276(47):44284-96, 2001b.
- Varastet et al. Chronic MPTP treatment reproduces in baboons the differential vulnerability of mesencephalic dopaminergic neurons observed in Parkinson's disease. *Neuroscience*, 63(1):47-56, 1994.
- Vila et al. Bax ablation prevents dopaminergic neurodegeneration in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(5):2837-42, 2001.
- Viswanath et al. Caspase-9 activation results in downstream caspase-8 activation and bid cleavage in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinson's disease. *J Neurosci*, 21(24):9519-28, 2001.
- Wagner & Greene. Dieldrin-induced alterations in biogenic amine content of rat brain. *Toxicol Appl Pharmacol*, 43(1):45-55, 1978.
- Weidauer et al. Does the anaerobic formation of hydroxyl radicals by paraquat monocation radicals and hydrogen peroxide require the presence of transition metals? *Arch Toxicol*, 76(2):89-95, 2002.
- Winterbourn & Sutton. Hydroxyl radical production from hydrogen peroxide and enzymatically generated paraquat radicals: catalytic requirements and oxygen dependence. *Arch Biochem Biophys*, 235(1):116-26, 1984.
- Yamazaki et al. Kinetic studies on spin trapping of superoxide and hydroxyl radicals generated in NADPH-cytochrome P-450 reductase-paraquat systems. Effect of iron chelates. *J Biol Chem*, 265(2):652-9, 1990.
- Yoritaka et al. Immunohistochemical detection of 4-hydroxynonenal protein adducts in Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93(7):2696-701, 1996.
- Youdim et al. The enigma of neuromelanin in Parkinson's disease substantia nigra. *J Neural Transm Suppl*, 43:113-22, Review 1994.
- Zareba et al. The effect of a synthetic neuromelanin on yield of free hydroxyl radicals generated in model systems. *Biochim Biophys Acta*, 1271(2-3):343-8, 1995.
- Zhang et al. Manganese ethylene-bis-dithiocarbamate and selective dopaminergic neurodegeneration in rat: a link through mitochondrial dysfunction. *J Neurochem*, 84(2):336-46, 2003.
- Zhou et al. Proteasomal inhibition induced by manganese ethylene-bis-dithiocarbamate: relevance to Parkinson's disease. *Neuroscience*, 128(2):281-91, 2004.
- Zhuang et al. Protein kinase C inhibits singlet oxygen-induced apoptosis by decreasing caspase-8 activation. *Oncogene*, 20(46):6764-76, 2001.