UPPSALA
UNIVERSITET

Parakvat och Parkinsons sjukdom

Titus Carlsson

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2016
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Parakvat och Parkinsons sjukdom

Titus Carlsson

Självständigt arbete i biologi 2016

Sammandrag

Parkinsons sjukdom (PS) är en av de vanligaste neurodegerenativa sjukdomarna i världen. För majoriteten av de drabbade uppstår symptomen under den senare delen av livet med bland annat skakningar, stelhet och svaghet. Mycket forskning har gjorts för att förstå patologin bakom PS, där man har observerat att specifika neuroner i hjärnstrukturen substantia nigra pars compacta (SNc) degenereras under sjukdomsförloppet. Vid degenereringen av dessa neuroner skapas de välkända symptomen. Även andra områden i hjärnan såsom locus coeruleus (LC) och vagusnerven i medulla oblongata (MO) utsätts för neurodegeneration. Celldöden tros orsakas av en förhöjd oxidativ stress i de utsatta neuronerna, vilket är en konsekvens av neuronernas signaleringsrytm och svaga buffertkapacitet av kalciumjoner.

En annan viktig del av patologin är bildandet av lewykroppar, aggregat av proteinerna ubiquitin och α-synuclein. Lewykroppar tros orsakas av en konformationsförändring av α-synuclein som ökar dess benägenhet att aggregera. Lewykroppar antas ha en viktig roll i utvecklandet av PS, då dessa minskar signaleringen från SNc.

Det har länge spekulerats i att miljöfaktorer kan påverka risken att få PS. Ett ämne som uppkom vid olaglig drogproduktion, MPTP (1-metyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin), visade sig kunna orsaka symptom och skador som var lika det som kan förväntas av PS. Sedan dess har neurotoxiska egenskaper hos andra ämnen analyserats. En möjlig miljöfaktor som har identifierats är exponeringen för parakvat.

Parakvat är en mycket vanlig herbicid som används runt om i världen. Syftet med detta arbete var att jämföra parakvatförgiftning med PS. Resultatet visar att parakvat kan orsaka neurodegeneration samt bilda lewykroppar i SNc. Mekanismen kring parakvats neurologiska toxicitet i SNc är välundersökt. Inne i neuronens mitokondrier kan parakvat genom redox-cykling orsaka oxidativ stress som kan leda till stora skador i cellen och samtidigt inhibera elektrontransportkedjan (ETK). Exponering av parakvat under en längre period har föreslagits orsaka förgiftning hos dessa neuroner genom att binda in sig i neuromelanin, ett pigment som är vanligt i neuroner i SNc och LC. Parakvat kan leda till neurodegeneration i LC och kan också påverka area postrema i MO, ett område som styr ätbeteenden. Det är möjligt att de huvudsakliga motoriska symptomen vid PS kan orsakas genom parakvatexponering, men PS orsakar också skador i många andra områden i hjärnan som parakvat inte skadar, vilket tyder på att parakvatexponering inte kan vara orsaken till all den patologi som återfinns hos patienter med PS. Fler studier som undersöker parakvatsexponering under en längre tid behöver utföras för att undersöka hur skador inducerade av parakvat utvecklas.

Inledning

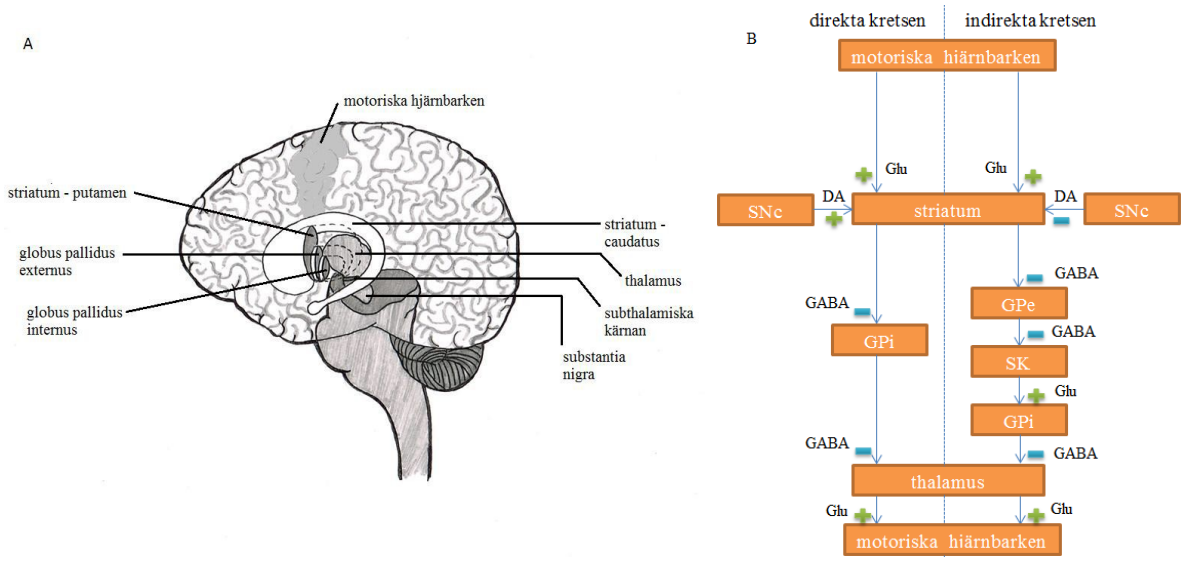
Parkinsons sjukdom (PS) beskrevs så tidigt som 1817 av James Parkinsons och är idag den näst vanligaste neurodegenerativa sjukdomen efter Alzheimers sjukdom. Sjukdomen startar ofta under senare delen av livet och blir gradvis värre med åldern. Symptomen blir ofta mycket besvärliga, med svårkontrollerade skakningar vid vila, långsamma rörelser, stelhet och dålig hållning (Dauer & Przedborski 2003). Effekter på motoriken är dock inte de enda symptomen. Ångest, depression och gastrointestinala problem är vanliga (Chaudhuri & Schapira 2009). Sjukdomen har med andra ord en mycket negativ effekt på livskvalitén hos den drabbade.

Parakvat (N, N'-dimetyl-4,4'-bipyridindiklorid) är en vattenlöslig herbicid som används i stor skala runt om i världen inom främst jordbruk. Parakvat bildar katjonen PQ^{2+} (N, N'-dimetyl-4,4'-bipyridin) i lösning och det är i denna form som ämnet normalt används. PQ^{2+} är mycket effektivt mot ogräs och sprutas direkt på oönskade växter. PQ^{2+} binder mycket kraftigt till jordpartiklar vilket hindrar ämnet från att tas upp av organismer och från att läcka ut i grundvatten. När PQ^{2+} väl har bundit till jorden stannar den där under många år och repeterad besprutning gör att det ackumuleras (Hance *et al.* 1980). Herbiciden bryts ner fotokemiskt om den befinner sig i soljus, vilket leder till att ämnet inte är tillgängligt på belysta blad- och markytor efter besprutning (Slade 1966, Roberts *et al.* 2002). På grund av dessa egenskaper har PQ^{2+} blivit en mycket populär herbicid.

Kopplingar mellan PQ^{2+} och PS har länge undersökts (Uversky 2004, Dinis-Oliveira *et al.* 2006). År 2007 slutade ämnet att användas inom EU, då flera länder ansåg att herbicidens neurotoxicitet inte var tillräckligt undersökt. Syftet med denna artikel att undersöka ifall PQ^{2+}- exponering kan orsaka PS. Detta gjordes genom att sammanfatta och jämföra resultat av studier rörande PS och PQ^{2+}-exponering

Basala gangliet och Parkinsons sjukdom

Det basala gangliet (BG) i hjärnan är ett område vars funktion är kraftigt påverkad i patienter med PS. BG är en samling strukturer som reglerar muskelrörelser. Det är funktionellt uppbyggt av substantia nigra (SN), striatum, globus pallidus (GP) samt subthalamiska kärnan (SK). Striatum är i sig uppbyggt av nucleus caudatus och nucleus putamen, medan globus pallidus består av globus pallidus externus (GPe) och globus pallidus internus (GPi) (Figur 1A). Substantia nigra delas in i två delar, pars compacta (SNc) och pars reticulata (SNr). Basala gangliet reglerar thalamus kommunikation med motoriska hjärnbarken. Regleringen av thalamus sker genom två olika kretsar i det basala gangliet, den direkta kretsen och den indirekta kretsen (Figur 1B). Den direkta kretsen reglerar frivilliga rörelser medan den indirekta kretsen hindrar ofrivilliga rörelser. Dessa två kretsar använder sig utav neurotransmittorerna glutamat (Glu, exciterande), GABA (inhiberande) och dopamin (DA, både exciterande och inhiberande beroende på bindningsplats) (Purves *et al*. 2012). Vid PS försämras funktionen hos dessa två kretsar, vilket leder till motoriska problem.



Figur 1. A) Basala gangliet med dess komponenter. Basala gangliet består funktionellt utav motoriska hjärnbarken, striatum, globus pallidus externus (GPe), globus pallidus internus (GPi), subthalamiska kärnan (SK), thalamus och substantia nigra pars compacta (SNc). B) Karta över den direkta och indirekta kretsen, med neurotransmittorerna dopamin (DA), glutamat (Glu) och GABA. Här syns hur (SNc) reglerar kommunikationen mellan thalamus och motoriska hjärnbarken.

Direkta kretsen – Stimulerar frivillig rörelseaktivitet

Den direkta kretsen aktiveras när en rörelse ska ske. Motoriska hjärnbarken skickar en exciterande signal till striatum. Denna signal ökar aktiviteten hos striatum som sedan ökar sin inhiberande signalering till GPi. GPi har som uppgift att inhibera thalamus för att hindra ofrivilliga rörelser. När GPi blir inhiberad så skickas färre inhibitoriska signaler till thalamus. Därigenom ökar aktiviteten hos thalamus som skickar fler signaler till motoriska hjärnbarken som sedan skickar signaler till de muskler som ska aktiveras. Den direkta kretsen har alltså som funktion att öka aktiviteten hos thalamus, för att stimulera dess signalering till motoriska hjärnbarken och öka muskelaktiviteten (Purves *et al*. 2012).

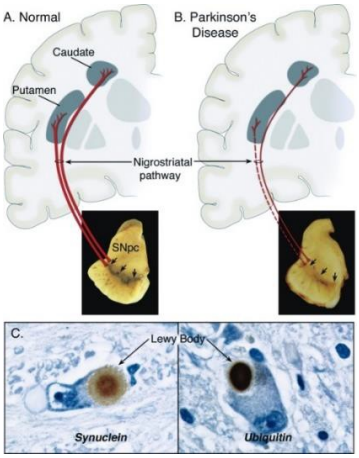
Indirekta kretsen– Inhiberar ofrivillig rörelseaktivitet

Den indirekta kretsen aktiveras när rörelseaktiviteten ska minska. Motoriska hjärnbarken skickar exciterande signaler till striatum som ökar sin inhiberande signalering mot GPe. GPe har som uppgift att inhibera SK och när detta inte sker så ökar aktiviteten hos SK. SK exciterar sedan GPi som därigenom inhiberar thalamus. Genom detta så kan den indirekta kretsen minska signaleringen från thalamus till motoriska hjärnbarken och sänka muskelaktiviteten (Purves *et al*. 2012).

Substantia nigra pars compacta
De två kretsarna regleras av SNc, det område vid basala gangliet som skadas vid PS. SNc består till stor del av dopaminerga neuroner (DA-neuroner) som är kopplade till nucleus putamen och nucleus caudatus. Dessa neuroner innehåller det mörka pigmentet neuromelanin, vilket också givit området dess namn (Dauer & Przedborski 2003). DA från SNc kan antingen excitera eller inhibera striatums aktivitet beroende på vilken receptor som DA binder till. I den direkta kretsen stimulerar SNc striatum så att striatum skickar en inhiberande signal till GPi varvid aktiviteten hos thalamus ökar. SNc kan genom detta stimulera aktiviteten hos thalamus för att öka muskelaktiviteten.

I den indirekta kretsen kan SNc inhibera striatum från att skicka inhiberade signaler till GPe, vilket leder till att SK inhiberas. När SK inhiberas minskar aktiviteten vid GPi och aktiviteten hos thalamus ökar. SNc kan därför minska den inhiberade effekten som den indirekta kretsen utsätter thalamus för, och höja muskelaktiviteten vid vila. SNc spelar därför en viktig roll i båda kretsarna genom att öka kommunikationen mellan thalamus och hjärnbarken och stimulera muskelaktivitet (Purves *et al*. 2012).

Vad händer när de två kretsarna inte längre kan regleras? Vid PS degenereras DA-neuroner i SNc vilket leder till en försämrad signalering från SNc till striatum (Dauer & Przedborski 2003). Minskningen av DA-neuroner kan också observeras genom en minskning av pigmentet neuromelanin i SNc (Figur 2) (Dauer & Przedborski 2003). Den försämrade kommunikationsförmågan mellan striatum och SNc leder till problem med att reglera signaleringen mellan motor cortex och thalamus, vilket kraftigt påverkar rörelsesystemets funktion (Gibb & Lees 1991, Chinta & Andersen 2005).



Figur 2. A/B) Vid PS dör många av DA-neuronerna i SNc. Detta leder till minskad signalering från SNc till striatum och därigenom en färsämrad reglering av basala gangliet. Detta kan observeras då området får en ljusare färg på grund av ett minskat antal pigmentrika DA-neuroner. C) Lewykroppar i celler. En lewykropp är en ansamling av huvudsakligen proteinet α-Synuclein och ubquitin. Dessa återfinns i flera typer av neuroner från olika delar av kroppen vid PS. Använd med tillåtelse från Elsevier (Dauer & Przedborski 2003)

Anledningen till minskningen av DA-neuroner i SNc är inte helt förstådd. En alltmer accepterad teori fokuserar på oxidativ stress genererad av kalciumjoner. DA-neuroner har en autonom signaleringsrytm för att uppehålla de extracellulära halter av dopamin som krävs för att det basala gangliet ska fungera normalt (Chan *et al.* 2007). Dessa neuroner använder en typ av kalciumkanaler ($Ca_v1.3$ L) som för in kalciumjoner in i cytoplasman. $Ca_v1.3$ är bra lämpade för att

uppehålla en signaleringsrytm, då dessa aktiveras vid en hyperpolariserad membranpotential (Xu & Lipscombe 2001). $Ca_v1.3$ öppnas därför när jonkoncentrationen i cytosolen är lägre än vid vilopotential och stänger vid depolariseringen som sedan inträffar. Cellen kan reglera jonkoncentrationen i cytosolen genom att föra in kalciumjonerna i endoplasmatiska retiklet (ER) eller aktivt pumpa ut dem över plasmamembranet. Detta gör att neuronen kan skapa en egen autonom signaleringsrytm genom att reglera jonkoncentrationen i cytosolen (Guzman *et al.* 2010). Kalciumjoner kan också föras in i mitokondrien via en uniporter eller en por i direkt koppling till ER (Surmeier *et al.* 2011). Väl i mitokondrien kan jonerna orsaka oxidativ stress men hur detta sker är ännu okänt (Brookes *et al.* 2004, Sanchez-Padilla *et al.* 2014). Den förhöjda kalciumkoncentrationen i cytoplasman tvingar mitokondrierna att öka produktionen av ATP, med en förhöjd oxidativ stress som följd (Chan *et al.* 2007, Guzman *et al.* 2010). Den ökade oxidativa stressen inom mitokondrien kan successivt skapa funktionsfel i elektrontransportkedjan, mutationer i mitokondriens DNA och leda till lipidperoxidering (nedbrytning av lipider genom oxidativ stress) (Bender *et al.* 2006, Guzman *et al.* 2010, Sanchez-Padilla *et al.* 2014). Detta betyder att DA-neuroner i SNc normalt behöver utstå en högre oxidativ stress än andra neuroner i hjärnan. Obduktioner av SNc hos diagnostiserade patienter har visat att komplex I i mitokondrierna, det första komplexet i elektrontransportkedjan, har en kraftigt minskad aktivitet (Schapira *et al*. 1990).

Parkinsons sjukdom och andra neuroner

Det är inte endast DA-neuroner som skadas vid PS. Neurodegenerering sker också i locus coeruleus (LC) i hjärnbryggan, ansvarig för en stor del av centrala nervsystemets syntes av noradrenalin. (Arima & Akashi 1990). Dessa neuroner använder sig också av $Ca_v1.3$ L-kanaler för att föra kalciumjoner in i cellen med en förhöjd mitokondriell oxidativ stress som följd (Sanchez-Padilla *et al.* 2014). Detsamma har påvisats hos neuroner kopplade till vagusnerven i medulla oblongata (MO) vilka använder acetylkolin (AK) som neurotransmittor. En studie visade att inhibering av $Ca_v1.3$ L-kanaler minskade den oxidativa stressen i dessa neuroner, vilket tyder på att inflödet av kalciumjoner skapar den förhöjda oxidativa stressen (Goldberg *et al.*2012) Dessa två samlingar neuroner har, precis som DA-neuroner i SNc, en autonom signaleringsrytm (Goldberg *et al.* 2012, Sanchez-Padilla *et al.* 2014). Neuronala skador som återfinns vid PS är därigenom inte begränsade till SNc. Skador på andra neuroner kan också förklara de symptom som inte är kopplade till basala gangliet. Exempelvis har gastrointestinala problem kopplats till skador på AK-neuroner i MO (Natale *et al.* 2008, Miller *et al.* 2009). En annan viktig egenskap hos dessa neuroner är att de har en relativt låg buffertkapacitet för kalciumjoner. Detta är troligen på grund av låga nivåer av calbindiner, kalciumbindande proteiner som kan binda upp jonerna i cellen. Utan dessa proteiner krävs mer energi för att ATP-drivna pumpar ska kunna upprätthålla homeostas. I neuroner med liknande autonom signaleringsrytm men som innehåller högre halter av kalciumbindande proteiner har en lägre nivå av oxidativ stress uppmätts. Ett exempel på detta är DA-neuroner i ventrala tegmentområdet, ett område precis bredvid SNc (Guzman *et al.* 2010, Goldberg *et al.* 2012).

Lewykroppar

Lewykroppar (LK) är ansamlingar av främst proteinet ubiquitin (ett protein som markerar andra protein för nedbrytning) och α-synuclein. LK återfinns hos PS-patienter och även hos en del människor drabbade av Alzheimers sjukdom (Gibb & Lees 1988, Hamilton 2000). LK syns som runda former i neuroner (Figur 3). Dessa återfinns i neuroner i olika delar av kroppen, såsom i hjärnan, hjärtat och tarmen (Spillantini *et al.* 1998, Li *et al*. 2008). I hjärnor hos PS-patienter har LK observerats i bland annat DA-neuroner i SNc, noradrenalin-neuroner i LC, serototin-neuroner i hjärnstammen samt i thalamus, amygdala, luktloben, basala framhjärnan och hypothalamus (Pollanen *et al.* 1993, Braak *et al.* 2003). Proteinet α-synuclein är känsligt för oxidativ stress, som möjligen kan orsaka en konformationsförändring hos proteinet vilket förenklar aggregering (Hashimoto *et al.* 1999). I en studie extraherades LK från en avliden PS-patient och injicerades SNc i både mus och apa (*Macaca Fascicularis*). Efter injektion skapades LK i SNc och i områden nära SNc hos organismerna. Neurodegeneration observerades också vid dopaminerga axonterminaler i striatum. Resultatet visar att α-synuclein från en PS-patient kan orsaka en konformationsförändring av α-synuclein i friska neuroner, vilket tyder på att α- synuclein spelar en stor roll i bildning och spridning av LK. Majoriteten av de observerade LK i SNc befann sig vid axonterminalerna (Recasens *et al.* 2014). En tidigare studie visade att överproduktion av α-synuclein kan försämra signalering från SNc, vilket gör LK till en mycket viktig del av PS (Lundblad *et al.* 2012).

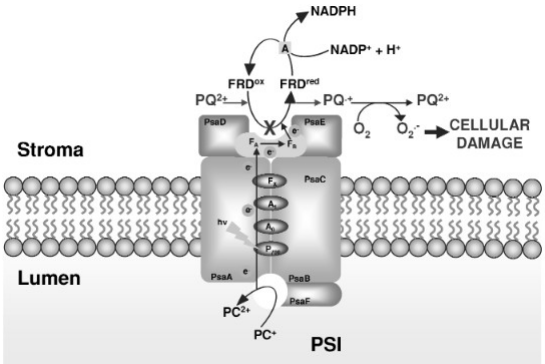
Neuromelanin

Neuromelanin är ett pigment som finns i både DA-neuroner i SNc och i NA-neuroner i LC (Sasaki *et al.* 2006). Neuromelaninets funktion är inte känd, men man har sett att olika toxiska ämnen, som PQ^{2+}, kan bindas in i det vilket tyder på att neuromelanin används som något sorts skydd (Lindquist *et al.* 1988, Zecca *et al.* 2008). Melaninet kan temporärt binda upp ämnet, men det bundna ämnet kan tillslut frigöras i cellen. Det har spekulerats att denna låsning kan skydda cellen genom att hålla koncentrationen av ämnet i cytosolen låg, men skulle också kunna orsaka en sorts kronisk förgiftning när små mänger av det toxiska ämnet gradvis frigörs (D'Amato *et al.* 1986, Larsson 1993). Observationer har visat att halten neuromelanin ökar i både SNc och LC med ökande ålder i friska individer men att mängden neuromelanin minskar avsevärt hos patienter med PS (Sasaki *et al.* 2006, Ohtsuka *et al.* 2013). Neuromelanin tros därför spela en viktig roll i vissa neuroners hantering av toxiska ämnen.

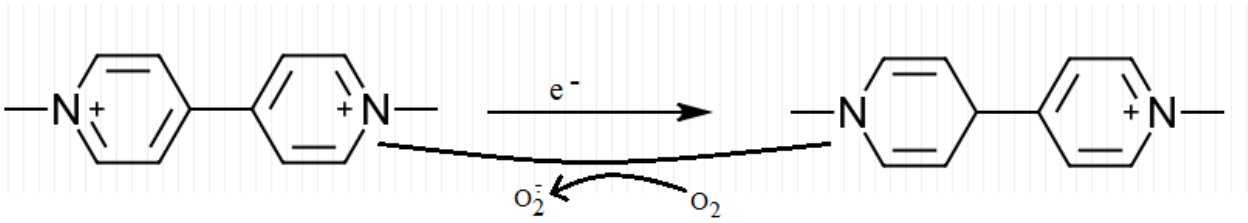
Neuromelanin har också en roll som antioxidant. Pigmentet har observerats minska oxidativ stress orsakat av järnjoner. Neuromelanin gör detta genom att binda upp järnjoner och hindra dessa från att generera hydroxylradikaler (Korytowski *et al.* 1995, Shamoto-Nagai *et al.* 2006). Förhöjda halter av järnjoner i SNc hos PS-patienter har föreslagits kunna leda till oxidativ stress i dessa neuroner (Faucheux *et al.* 2003, Dexter *et al.* 1989).

Parakvat

PQ^{2+} används som en herbicid för att döda oönskade växter. PQ^{2+} stör fotosyntesen vid fotosystem I där PQ^{2+} ersätter ferrodoxin och tar emot en elektron (Figur 3). PQ^{2+} reduceras då till PQ^{+}. Om syrgas finns tillgängligt så oxideras PQ^{+} och återgår till PQ^{2+}, vilket skapar superoxiden O2 samtidigt som fotosystem I kan reducera PQ igen. Denna kontinuerliga reducering och oxidering kallas för redoxcykling (Figur 4). De superoxider som skapas kan sedan genom kedjereaktioner skapa reaktiva syreföreningar som kan orsaka allvarliga skador på cellen och påverka funktionen hos komplex i kloroplasten (Dinis-Oliveira et al. 2008).



Figur 3. Toxisk mekanism för PQ^{2+}. PQ^{2+} blir reducerat till PQ^{+} av fotosystem I genom att ta ferrodoxins plats. PQ^{+} oxideras sedan av syrgas. Denna redox-cykel bildar superoxider som orsakar oxidativ stress i cellen. Använd med tillåtelse från Taylor & Francis (Dinis-Oliveira *et al.* 2008).



Figur 4. Redoxcykeln för PQ^{2+}. PQ^{2+} accepterar en elektron och reduceras till PQ^{+}. Syrgas kan sedan oxidera PQ^{+} tillbaka till PQ^{2+} samtidigt som superoxid skapas.

Parakvat och människan

Pesticider har i epidemiologiska studier visat sig öka risken att få PS. En studie undersökte riskfaktorer hos PS-patienter i Taiwan och fann att användning av pesticider och herbicider resulterade i en två gånger så hög risk att utveckla PS jämfört med kontrollgruppen. För den grupp som också hade varit i kontakt med PQ^{2+} i kombination med andra pesticider/herbicider var risken nästan femfaldigt högre (Liou *et al*. 1997). Även en studie i Kalifornien kom fram till att besprutning med PQ^{2+} och maneb (en fungicid) inom 500 meter ifrån bostaden ökade risken för PS 4 gånger jämfört i kontrollgruppen. De kom också fram till att exponeringen höjde risken att utveckla PS tidigare i livet (Costello *et al.* 2009). Vid akut toxicitet orsakar PQ^{2+} stora skador på bland annat njurar, lungor och hjärta (Dinis-Oliveira *et al.* 2008).

Exponeringsvägar
Exponering för PQ^{2+} sker främst vid besprutning och majoriteten som påverkas är de arbetare som använder besprutningsmedel innehållande PQ^{2+}. Exponering genom intag är vanligt för PQ^{2+}. Medvetet intag av besprutningsmedel är tyvärr en typisk metod för att begå självmord i flera länder och PQ^{2+} har i många fall använts för detta syfte (Hwang *et al.* 2002, Yoshioka *et al.* 1992). PQ^{2+} tas främst upp genom tunntarmen, men en stor del av intaget absorberas inte i tarmen och försvinner ut ur kroppen via avföringen (Daniel & Gage 1966). Det lilla som tas upp sprids till lungor, lever, njurar och muskler. Lungorna är det främsta organet som skadas och det är också lungorna som normalt leder till död efter intag. PQ^{2+} orsakar skador i lungorna som leder till ett försämrat gasutbyte. Dessa skador kan bli tillräckligt omfattande för att orsaka dödlig syrebrist hos den drabbade (Gawarammana & Buckley 2011).

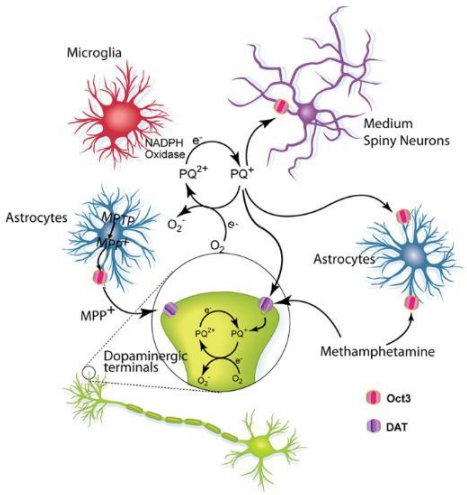
Hudexponering är också en möjlig exponeringsväg. En studie applicerade låga koncentrationer (8 ppm) av PQ^{2+} på huden av råttor varje vecka under 9 veckor. Exponerade råttor uppvisade skador på lungorna. En vingårdsarbetare som besprutade ogräs dog efter att PQ^{2+} läckte ut på axeln, där ett sår bildades. Arbetaren dog kort därefter på grund av syrebrist, troligen orsakad av exponeringen. Andra arbetare klagade på sår på benen, efter att ha burit byxor indränkta med bekämpningsmedel innehållande PQ^{2+}. Hos dessa arbetare upptäcktes också skador på lungor men det var däremot inte möjligt att utesluta andra faktorer såsom rökning. Båda dessa fall med exponerade arbetare kunde ha förhindrats genom korrekta besprutningsmetoder och användande av säkerhetskläder. Studien visade däremot att hudexponering av PQ^{2+} är möjlig och kan leda till lungskador (Levin *et al.* 1979).

Exponering genom intag och hud är välstuderade, medan exponering via inandning inte är tillräckligt undersökt. Det är också svårt att veta huruvida en patient har exponerats genom inandning eller intag, då patienten kan vilja dölja eventuellt medvetet intag av PQ^{2+}.

Hudexponering av PQ^{2+} är relativt enkelt att motverka med säkerhetsutrustning och korrekt användning. Det är däremot svårare att hindra användare från att dricka bekämpningsmedlet. Det är svårt för studier att observera eventuella neurologiska skador som kan uppstå av exponeringen eftersom dessa skador verkar ge upphov till symptom långt senare i livet och kan därför förbises vid behandling av förgiftade individer. Detta har troligen att göra med de allvarliga skador på andra organ i kroppen som prioriteras högre av vården. Vidare behöver nödvändigtvis inte exponerade individer uppvisa symptom och därför inte söka sig till vården. Detta kan leda till att exponerade människor inte undersöks, vilket leder till en svårighet med att identifiera källan till skador som uppstått efter en längre tid.

Parakvat och neuroner
Majoriteten av forskningen på PQ^{2+} har fokuserat på dess neurotoxicitet, på grund av de observerade skador på specifika neuroner i hjärnan. PQ^{2+} kan ta sig genom blod-hjärnbarriären (BHB), men det är ännu inte fastställt hur effektiv denna transport är. I en studie med exponerade råttor observerades PQ^{2+} i striatum och vidare tester tydde på att PQ^{2+} möjligen utnyttjade en aminosyratransportör för att föras över BHB (Shimizu et al. 2001). En annan studie exponerade apor (rhesus macaque) och fann att endast en liten del fördes in i hjärnan en timme efter exponering (Bartlett et al. 2009). Mycket tyder dock på att kronisk exponering över en längre tid leder till högre halter av PQ^{2+} i hjärnan (Ossowska et al. 2006, Kuter et al. 2007). Väl inne i hjärnan kan inte PQ^{2+} transporteras in i neuroner, utan måste reduceras till PQ^{+} som kan transporteras in igenom DA-

neuroners axonterminaler med hjälp av DA-kanaler (Rappold et al. 2011). Denna reduktion har man sett ske vid plasmamebranen hos mikroglia, gliaceller som agerar makrofager i hjärnan (Figur 5) (Rappold et al. 2011, Gomez Perdiguero et al. 2013). Reduktionen sker genom att NADHP-oxidas, ett membranbundet protein hos mikroglia, reducerar extracellulärt PQ^{2+} till PQ^{+} (Rappold et al. 2011).



Figur 5. Mikroglia kan reducera PQ^{2+} till PQ^{+} som sedan kan föras in i DA-neuroner och andra neuroner i SNc. Denna transport sker genom DA-kanaler in i DA-neuroner medan katjonkanalen OCT3 transporterar PQ^{+} in och ut ur andra neuroner. Använd med tillåtelse från PNAS (Rappold *et al.* 2011).

PQ^{+} har också observerats i andra neuroner i SNc som inte använder dopamin som neurotransmittor (Rappold *et al.* 2011). Transporten in till dessa neuroner sker dock inte genom DA-kanaler, utan genom OCT3, en katjonkanal. OCT3 gör det möjligt för PQ^{+} att röra sig in och ut ur cellen, vilket gör att flödet av PQ^{+} följer sin gradient. Det har föreslagits att dessa flöden från cellerna med tiden kan släppa ut PQ^{+} till närliggande DA-neuroner (Cui *et al.* 2009, Rappold *et al.* 2011).

Neurotoxikologi

Det är debatterat på vilket sätt PQ^{2+} orsakar toxicitet i neuroner, men mycket tyder på att det huvudsakligen uppstår i mitokondrier. Studier har visat att komplex I i elektrontransportkedjan (ETK) inhiberas av redoxcykeln för PQ^{2+}. Vid komplex I donerar NADH elektroner och oxideras till $NADP^{+}$. Om PQ^{2+} finns tillgängligt reduceras PQ^{2+} av NADH istället, vilket leder till en inhibering av komplex I. Eftersom syrgas finns tillgängligt oxideras PQ^{+} i mitokondriernas matrix och leder till en redoxcykel som fortsätter inhibera komplex I och skapa superoxider (Fukushima *et al.* 1993). Dessa superoxider kan orsaka skador på mDNA, skador på komplex i mitokondrier och leda till lipidperoxidering (Tawara *et al.* 1996, Tawara *et al.* 1996, McCord & Fridovich 1969, Kehrer 2000, Cochemé & Murphy 2008). Mitokondrierna ser ut att vara den främsta platsen för reducering av PQ^{2+}, men även enzymer i cytosolen och i mikrosomer har påvisats reducera PQ^{2+} (Montgomery 1976, Castello *et al.* 2007).

Trots att komplex I verkar spela en viktig roll för toxiciteten hos PQ^{2+}, fann en studie att komplex I inte behövde inhiberas för att orsaka mitokondriell toxicitet. Under detta experimentet

exponerades möss med en minskad komplex I-aktivitet. Den minskade aktiviteten hos komplex I skyddade inte mössen och DA-neuronerna i SNc, vilket det borde ha gjort om komplex I var källan till toxiciteten. Författarna var dock öppna för att komplex I, trots avaktivering, möjligen kunde överföra elektroner (Choi *et al.* 2008). Det finns också tecken på att komplex 3 i ETK kan spela en roll i PQ^{2+} -toxicitet, men hur detta skulle ske är okänt (Castello *et al.* 2007).

PQ^{2+} har visats orsaka degeneration av DA-neuroner. McCormack (2002) injicerade möss vid olika åldrar med PQ^{2+} under tre veckor och fann en minskning i mängden DA-neuroner i SNc efter behandlingen. Denna studie visade också att halterna DA inte förändrades märkvärt trots celldöden, vilket författarna kopplade till en sorts kompensationsproduktion av dopamin hos de överlevande neuronerna. En annan studie exponerade råttor och observerade deras hjärnor från noll till tre timmar efter exponering. De såg att lipidperoxidering ökade samtidigt som aktiviteten för komplex I i ETK minskade (Tawara *et al.* 1996). Hos exponerade bananflugor, *Drosophila melanogaster*, ökade koncentrationerna av superoxid och reaktiva kväveföreningar i hjärnan i takt med att exponeringshalten ökade. Man såg också att lipidperoxidering skedde i högre grad vid högre koncentrationer PQ^{2+} och att antalet DA-neuroner minskade med ca 57% samtidigt som dopaminhalten i hjärnan minskade med ungefär 54% (Shukla *et al.* 2014).

PQ^{2+} kan också påverka area postrema, ett område i medulla oblongata som styr ätbeteende. Exponering för PQ^{2+} har observerats minska födointag hos möss. (Edmonds & Edwards 1995, Dey *et al,* 1987) Hur exponering för PQ^{2+} orsakar detta är ännu inte förstått. Exponering av PQ^{2+} kan också orsaka neurodegeneration i LC hos möss, men hur detta sker är också okänt (Fernagut *et al.* 2007).

Parakvat och neuromelanin

PQ^{2+} kan binda till neuromelanin, vilket troligen är en av anledningarna till att just de melaninrika DA-neuronerna i SNc skadas vid exponering (Larsson 1993). Eftersom neuromelanin gradvis frigör bundna ämnen så finns det en möjlighet att exponering för PQ^{2+} kan orsaka förgiftning under en längre tid. PQ^{2+} kan ackumuleras i melaninet för att sedan sakta frigöras (D'Amato *et al.* 1986, Lindquist *et al.* 1988, Larsson 1993). Lindquist (1988) visade att halten PQ^{2+} i SNc hos möss var konstant i sig fyra dagar efter exponering. En studie observerade att 1-metyl-4-fenylpyridinium (MPP^{+}), ett ämne mycket likt PQ^{+} och som också kan binda in i neuromelanin, kunde orsaka skada på DA-neuroner i SNc flera år efter exponering (Langston *et al.* 1999). Neurodegeneration har också påvisats i ventrala tegmentområdet efter exponering, trots att dessa DA-neuroner har en normalt högre buffertkapacitet mot kalciumjoner (Ossowska *et al.* 2006, Goldberg *et al.* 2012). Därmed finns det mycket som tyder på att neuromelanin spelar en viktig toxikologisk roll vid exponering av PQ^{2+} och att PQ^{2+} möjligen kan orsaka skador en tid efter exponering.

Parakvat och lewykroppar

LK har påvisats i DA-neuroner i SNc hos exponerade möss (Manning-Bog et al. 2002). Experiment har visat att PQ^{2+} konformerar α-synuclein till ett veckat protein och inducerar aggregeringen av proteinet, vilket till slut bildar LK (Uversky et al. 2001, Manning-Bog et al. 2002). Det är ännu inte klarlagt varför parakvat skulle inducera bildningen av LK. Den oxidativa stress som skapas vid PQ^{2+}-toxicitet kan möjligen orsaka skador på funktioner i cellen som sköter nedbrytningen av α-

synuclein, vilket skulle leda till högre halter av felveckade protein i cytoplasman och som därmed kan skapa aggregat (Manning-Bog et al. 2002, Recasens et al. 2014). Eftersom α-synuclein är känslig för oxidativ stress så kan bildningen av superoxider möjligen leda till felveckning av proteinet (Hashimoto et al. 1999). PQ^{2+} kan också minska aktiviteten av proteasomer, komplex som har som uppgift att bryta ner märkta protein, i cellen. Den lägre aktiviteten kan leda till aggregat av ubiquinerade protein (Chinta et al. 2008, Maharjan et al. 2014). Detta betyder att PQ^{2+} kan orsaka LK och samtidigt hindra celler från att bryta ner felaktiga protein.

Diskussion

PQ^{2+} kan orsaka skador i DA-neuroner i SNc som liknar de som syns hos patienter med PS. PQ^{2+} orsakar också LK i dessa neuroner. PQ^{2+} verkar främst skada DA- neuroner, både i SNc och ventrala tegmentområdet, troligen på grund av dessa neuroners användning av dopaminkanaler som PQ^{2+} kan transporteras genom. PQ^{2+} leder till förhöjd oxidativ stress som startar i mitokondrier och leder till skador på komplex i ETK samt skador på mDNA (Bus *et al.* 1976, Zhang *et al.* 2016). Många studier har fokuserat på PQ^{2+} och dess toxicitet i SNc. PQ^{2+} kan påverka MO i möss och orsaka neurodegeneration i LC men det är inte klarlagt hur detta sker. Även forskningen kring LK hos parakvatexponerade djur borde fortsätta. Vid PS återfinns LK i flera platser i hjärnan och i kroppen, medan LK bara har observerats i SNc vid PQ^{2+}-exponering.

Nuvarande studier tyder på att PQ^{2+} kan orsaka flera av de symptom som återfinns vid PS. Det är däremot mycket svårt att dra slutsatsen att exponering för PQ^{2+} kan leda till den fullständiga patologin och de symptom som uppvisas hos patienter med PS. PS är en komplex sjukdom som påverkar många områden i hjärnan och kroppen. Symptomen vid sjukdomen är inte endast motoriska symptom. De motoriska symptomen är däremot mycket lika varandra vid både PS och PQ^{2+}-exponering, eftersom samma DA-neuroner i SNc degenereras. Patologin och symptomen som uppstår efter PQ^{2+}-exponering överlappar till en viss del de skador och symptom som återfinns hos patienter med PS, men de är inte identiska. Däremot är de motoriska symptomen och degenerationen i SNc mycket lika varandra. Skulle en person ha fått skador i SNc på grund av exponering för PQ^{2+}, kan det vara väldigt svårt för en utomstående att veta hur symptomen uppstått. Det kan därför finnas en chans att man diagnostiseras med PS efter skador orsakade av PQ^{2+}-exponering eftersom patologin och symptomen till viss del liknar varandra.

Exponering av en kombination av pesticider, herbicider och/eller fungicider i yngre ålder ser ut att kunna höja risken för PS senare i livet (Costello *et al.* 2009). PQ är till strukturen mycket likt 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine (MPTP), ett ämne som länge använts för forskning kring PS. MPTP bryts ner till metaboliten MPP^{+} i hjärnan som kan leda till skada på DA-neuroner i SNc flera år efter exponering (Langston *et al.* 1999). Lindquist (1988) visade att halten PQ^{2+} i DA-neuroner i SNc håller sig på höga nivåer dagar efter exponering, men det är nödvändigt att studera effekter av exponering över en ännu längre tid, precis som i studien med MPTP. Dessa studier behövs också för att undersöka hur PQ^{2+}-inducerade skador utvecklas och ifall dessa skador på något sätt kan inducera patogenesen av PS. Det är också viktigt att utföra toxikologiska tester med kombinationer av kemikalier eftersom detta ger en mer realistisk bild av exponeringen som människor utsätts för.

PQ^{2+} är en viktig miljöfaktor för PS och exponering av PQ^{2+} ser ut att kunna öka risken att få sjukdomen. PQ^{2+} kan orsaka skada på DA-neuroner i SNc, noradrenalin-neuroner i LC och påverka area postrama i MO. Alla dessa tre områden blir skadade vid PS. Det finns en möjlig koppling mellan PQ^{2+} och de motoriska symptom som återfinns hos PS-patienter, men många områden som blir skadade vid PS skadas inte av PQ^{2+}. Europeiska unionen valde att avbryta användningen av PQ^{2+} i takt med att de neuotoxiska aspekterna av PQ^{2+} uppdagades. För många andra länder som fortfarande använder herbiciden är det nu än mer viktigt att vidta nödvändiga säkerhetsåtgärder för att minimera exponering.

Tack

Tack till Simone Wanderoy, Anna Engzell, Rebecca Holm, Amalia Gren, Maria Jönsson och Per Sjödin för er fantastiska hjälp med detta arbete. Jag vill också tacka Siri Pettersson för hjälp med illustrationer. Jag vill också tacka Elsevier, Taylor & Francis samt PNAS för att ha gett tillåtelse att använda figurer ifrån deras artiklar.

Referenser

Arima K, Akashi T. 1990. Involvement of the locus coeruleus in Pick's disease with or without Pick body formation. Acta Neuropathologica **79**: 629–633.

Bartlett RM, Holden JE, Nickles RJ, Murali D, Barbee DL, Barnhart TE, Christian BT, DeJesus OT. 2009. Paraquat is excluded by the blood brain barrier in rhesus macaque: An in vivo pet study. Brain Research **1259**: 74–79.

Bender A, Krishnan KJ, Morris CM, Taylor GA, Reeve AK, Perry RH, Jaros E, Hersheson JS, Betts J, Klopstock T, Taylor RW, Turnbull DM. 2006. High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. Nature Genetics **38**: 515–517.

Braak H, Tredici KD, Rüb U, de Vos RA., Jansen Steur EN., Braak E. 2003. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. Neurobiology of Aging **24**: 197–211.

Brookes PS, Yoon Y, Robotham JL, Anders MW, Sheu S-S. 2004. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. American Journal of Physiology - Cell Physiology **287**: C817– C833.

Bus JS, Aust SD, Gibson JE. 1976. Paraquat Toxicity: Proposed Mechanism of Action Involving Lipid Peroxidation. Environmental Health Perspectives **16**: 139–146.

Bus JS, Gibson JE. 1984. Paraquat: Model for Oxidant-Initiated Toxicity. Environmental Health Perspectives **55**: 37–46.

Castello PR, Drechsel DA, Patel M. 2007. Mitochondria Are a Major Source of Paraquat-induced Reactive Oxygen Species Production in the Brain. The Journal of biological chemistry **282**: 14186–14193.

Chan CS, Guzman JN, Ilijic E, Mercer JN, Rick C, Tkatch T, Meredith GE, Surmeier DJ. 2007. 'Rejuvenation" protects neurons in mouse models of Parkinson"s disease. Nature **447**: 1081–1086.

Chaudhuri KR, Schapira AH. 2009. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: dopaminergic pathophysiology and treatment. The Lancet Neurology **8**: 464–474.

Chinta SJ, Andersen JK. 2005. Dopaminergic neurons. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology **37**: 942–946.

Chinta SJ, Rane A, Poksay KS, Bredesen DE, Andersen JK, Rao RV. 2008. Coupling Endoplasmic Reticulum Stress to the Cell Death Program in Dopaminergic Cells: Effect of Paraquat. NeuroMolecular Medicine **10**: 333–342.

Choi W-S, Kruse SE, Palmiter RD, Xia Z. 2008. Mitochondrial complex I inhibition is not required for dopaminergic neuron death induced by rotenone, MPP+, or paraquat. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **105**:15136–15141.

Cochemé HM, Murphy MP. 2008. Complex I Is the Major Site of Mitochondrial Superoxide Production by Paraquat. Journal of Biological Chemistry **283**: 1786–1798.

Costello S, Cockburn M, Bronstein J, Zhang X, Ritz B. 2009. Parkinson's Disease and Residential Exposure to Maneb and Paraquat From Agricultural Applications in the Central Valley of California. American Journal of Epidemiology **169**: 919–926.

Cui M, Aras R, Christian WV, Rappold PM, Hatwar M, Panza J, Jackson-Lewis V, Javitch JA, Ballatori N, Przedborski S, Tieu K. 2009. The organic cation transporter-3 is a pivotal modulator of neurodegeneration in the nigrostriatal dopaminergic pathway. Proceedings of the National Academy of Sciences **106**: 8043–8048.

D'Amato RJ, Lipman ZP, Snyder SH. 1986. Selectivity of the parkinsonian neurotoxin MPTP: toxic metabolite MPP+ binds to neuromelanin. Science **231**: 987–989.

Daniel JW, Gage JC. 1966. Absorption and Excretion of Diquat and Paraquat in Rats. British Journal of Industrial Medicine **23**: 133–136.

Dauer W, Przedborski S. 2003. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. Neuron **39**: 889-909

Dexter DT, Wells FR, Lee AJ, Agid F, Agid Y, Jenner P, Marsden CD. 1989. Increased Nigral Iron Content and Alterations in Other Metal Ions Occurring in Brain in Parkinson's Disease. Journal of Neurochemistry **52**: 1830–1836.

Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, Sánchez-Navarro A, Remião F, Bastos ML, Carvalho F. 2008. Paraquat Poisonings: Mechanisms of Lung Toxicity, Clinical Features, and Treatment. Critical Reviews in Toxicology **38**: 13–71.

Dinis-Oliveira RJ, Remião F, Carmo H, Duarte JA, Navarro AS, Bastos ML, Carvalho F. 2006. Paraquat exposure as an etiological factor of Parkinson's disease. NeuroToxicology **27**: 1110–1122.

Faucheux BA, Martin ME, Beaumont C, Hauw JJ, Agid Y, Hirsch EC. 2003. Neuromelanin associated redox-active iron is increased in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease. Journal of Neurochemistry **86**: 1142–1148.

Fernagut PO, Hutson CB, Fleming SM, Tetreaut NA, Salcedo J, Masliah E, Chesselet MF. 2007. Behavioral and Histopathological Consequences of Paraquat Intoxication in Mice: Effects of α- Synuclein Over-Expression. Synapse (New York, NY) **61**: 991–1001.

Fukushima T, Yamada K, Isobe A, Shiwaku K, Yamane Y. 1993. Mechanism of cytotoxicity of paraquat. I. NADH oxidation and paraquat radical formation via complex I. Experimental and Toxicologic Pathology: Official Journal of the Gesellschaft Fur Toxikologische Pathologie **45**: 345–349.

Gawarammana, Buckley NA. 2011. Medical management of paraquat ingestion. British Journal of Clinical Pharmacology **72**: 745–757.

Gibb WR, Lees AJ. 1988. The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry **51**: 745–752

Gibb WR, Lees AJ. 1991. Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal subpopulations of the substantia nigra, and differential cell death in Parkinson's disease. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry **54**: 388–396.

Goldberg JA, Guzman JN, Estep CM, Ilijic E, Kondapalli J, Sanchez-Padilla J, Surmeier DJ. 2012. Calcium entry induces mitochondrial oxidant stress in vagal neurons at risk in Parkinson's disease. Nature Neuroscience **15**: 1414–1421.

Gomez Perdiguero E, Schulz C, Geissmann F. 2013. Development and homeostasis of "resident" myeloid cells: The case of the microglia. Glia **61**: 112–120.

Guzman JN, Sanchez-Padilla J, Wokosin D, Kondapalli J, Ilijic E, Schumacker PT, Surmeier DJ. 2010. Oxidant stress evoked by pacemaking in dopaminergic neurons is attenuated by DJ-1. Nature**468**: 696–700.

Hamilton RL. 2000. Lewy Bodies in Alzheimer's Disease: A Neuropathological Review of 145 Cases Using α-Synuclein Immunohistochemistry. Brain Pathology **10**: 378–384.

Hance RJ, Byast TH, Smith PD. 1980. Apparent decomposition of paraquat in soil. Soil Biology and Biochemistry **12**: 447–448.

Hashimoto M, Hsu LJ, Xia Y, Takeda A, Sisk A, Sundsmo M, Masliah E. 1999. Oxidative stress induces amyloid-like aggregate formation of NACP/alpha-synuclein in vitro. Neuroreport **10**: 717–721.

Hwang, Lee E-Y, Hong S-Y. 2002. Paraquat Intoxication in Korea. Archives of Environmental Health: An International Journal **57**: 162–166.

Kehrer JP. 2000. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. Toxicology **149**: 43–50.

Korytowski W, Sarna T, Zareba M. 1995. Antioxidant action of neuromelanin: the mechanism of inhibitory effect on lipid peroxidation. archives of biochemistry and biophysics **319**: 142–148.

Kuter K, Śmiałowska M, Wierońska J, Zięba B, Wardas J, Pietraszek M, Nowak P, Biedka I, Roczniak W, Konieczny J, Wolfarth S, Ossowska K. 2007. Toxic influence of subchronic paraquat administration on dopaminergic neurons in rats. Brain Research **1155**: 196–207.

Langston JW, Forno LS, Tetrud J, Reeves AG, Kaplan JA, Karluk D. 1999. Evidence of active nerve cell degeneration in the substantia nigra of humans years after 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6- tetrahydropyridine exposure. Annals of Neurology **46**: 598–605.

Larsson BS. 1993. Interaction between chemicals and melanin. Pigment Cell Research **6**: 127–133.

Levin, Klaff LJ, Rose AG, Ferguson AD. 1979. Pulmonary effects of contact exposure to paraquat: a clinical and experimental study. Thorax 34: 150–160.

Li J-Y, Englund E, Holton JL, Soulet D, Hagell P, Lees AJ, Lashley T, Quinn NP, Rehncrona S, Björklund A, Widner H, Revesz T, Lindvall O, Brundin P. 2008. Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. Nature Medicine **14**: 501–503.

Lindquist NG, Larsson BS, Lydén-Sokolowski A. 1988. Autoradiography of [14C] paraquat or [14C] diquat in frogs and mice: Accumulation in neuromelanin. Neuroscience Letters **93**:1–6.

Liou HH, Tsai MC, Chen CJ, Jeng JS, Chang YC, Chen SY, Chen RC. 1997. Environmental risk factors and Parkinson's disease A case-control study in Taiwan. Neurology **48**: 1583–1588.

Lundblad M, Decressac M, Mattsson B, Bjorklund A. 2012. Impaired neurotransmission caused by overexpression of alpha-synuclein in nigral dopamine neurons. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **109**: 3213–3219.

Maharjan S, Oku M, Tsuda M, Hoseki J, Sakai Y. 2014. Mitochondrial impairment triggers cytosolic oxidative stress and cell death following proteasome inhibition. Scientific Reports **4**: 5896.

Manning-Bog AB, McCormack AL, Li J, Uversky VN, Fink AL, Monte DAD. 2002. The Herbicide Paraquat Causes Up-regulation and Aggregation of α-Synuclein in Mice paraquat and α- synuclein. Journal of Biological Chemistry **277**: 1641–1644.

McCord JM, Fridovich I. 1969. The Utility of Superoxide Dismutase in Studying Free Radical Reactions I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. Journal of Biological Chemistry **244**: 6056–6063

McCormack AL, Thiruchelvam M, Manning-Bog AB, Thiffault C, Langston JW, Cory-Slechta DA, Di Monte DA. 2002. Environmental Risk Factors and Parkinson's Disease: Selective Degeneration of Nigral Dopaminergic Neurons Caused by the Herbicide Paraquat. Neurobiology of Disease **10**: 119–127.

Miller VM, Kenny RA, Oakley AE, Hall R, Kalaria RN, Allan LM. 2009. Dorsal motor nucleus of vagus protein aggregates in Lewy body disease with autonomic dysfunction. Brain Research **1286**: 165– 173.

Montgomery MR. 1976. Interaction of paraquat with the pulmonary microsomal fatty acid desaturase system. Toxicology and Applied Pharmacology **36**: 543–554.

Natale G, Pasquali L, Ruggieri S, Paparelli A, Fornai F. 2008. Parkinson's disease and the gut: a well-known clinical association in need of an effective cure and explanation. Neurogastroenterology & Motility **20**: 741–749.

Ohtsuka C, Sasaki M, Konno K, Koide M, Kato K, Takahashi J, Takahashi S, Kudo K, Yamashita F, Terayama Y. 2013. Changes in substantia nigra and locus coeruleus in patients with early-stage Parkinson's disease using neuromelanin-sensitive MR imaging. Neuroscience Letters **541**: 93–98.

Ossowska K, Śmiałowska M, Kuter K, Wierońska J, Zięba B, Wardas J, Nowak P, Dąbrowska J, Bortel A, Biedka I, Schulze G, Rommelspacher H. 2006. Degeneration of dopaminergic mesocortical neurons and activation of compensatory processes induced by a long-term paraquat administration in rats: Implications for Parkinson's disease. Neuroscience **141**: 2155–2165.

Pollanen M, Dickson D, Bergeron C. 1993. Pathology and Biology of the Lewy Body. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology **52**: 183–191.

Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, LaMantia AS, White LE. Modulation of movement by the basal ganglia. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, LaMantia AS, White LE, Mooney RD, Platt ML. Neuroscience 5th, SS 405-407. Sinauer Associates, inc. Sunderland, Massachusetts.

Rappold PM, Cui M, Chesser AS, Tibbett J, Grima JC, Duan L, Sen N, Javitch JA, Tieu K. 2011. Paraquat neurotoxicity is mediated by the dopamine transporter and organic cation transporter-3. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **108**: 20766– 20771.

Recasens A, Dehay B, Bové J, Carballo-Carbajal I, Dovero S, Pérez-Villalba A, Fernagut P-O, Blesa J, Parent A, Perier C, Fariñas I, Obeso JA, Bezard E, Vila M. 2014. Lewy body extracts from Parkinson disease brains trigger α-synuclein pathology and neurodegeneration in mice and monkeys. Annals of Neurology **75**: 351–362.

Roberts TR, Dyson JS, Lane MCG. 2002. Deactivation of the Biological Activity of Paraquat in the Soil Environment: a Review of Long-Term Environmental Fate. Journal of Agricultural and Food Chemistry **50**: 3623–3631.

Sanchez-Padilla J, Guzman JN, Ilijic E, Kondapalli J, Galtieri DJ, Yang B, Schieber S, Oertel W, Wokosin D, Schumacker PT, Surmeier DJ. 2014. Mitochondrial oxidant stress in locus coeruleus is regulated by activity and nitric oxide synthase. Nature Neuroscience **17**: 832–840.

Sasaki M, Shibata E, Tohyama K, Takahashi J, Otsuka K, Tsuchiya K, Takahashi S, Ehara S, Terayama Y, Sakai A. 2006. Neuromelanin magnetic resonance imaging of locus ceruleus and substantia nigra in Parkinson??s disease: NeuroReport **17**: 1215–1218.

Schapira AHV, Cooper JM, Dexter D, Clark JB, Jenner P, Marsden CD. 1990. Mitochondrial Complex I Deficiency in Parkinson's Disease. Journal of Neurochemistry **54**: 823–827.

Seok S-J, Gil H-W, Jeong D-S, Yang J-O, Lee E-Y, Hong S-Y. 2009. Paraquat Intoxication in Subjects Who Attempt Suicide: Why They Chose Paraquat. The Korean Journal of Internal Medicine **24**: 247–251.

Shamoto-Nagai M, Maruyama W, Yi H, Akao Y, Tribl F, Gerlach M, Osawa T, Riederer P, Naoi M.2006. Neuromelanin induces oxidative stress in mitochondria through release of iron: mechanism behind the inhibition of 26S proteasome. Journal of Neural Transmission **113**: 633–644.

Shimizu K, Ohtaki K, Matsubara K, Aoyama K, Uezono T, Saito O, Suno M, Ogawa K, Hayase N, Kimura K, Shiono H. 2001. Carrier-mediated processes in blood–brain barrier penetration and neural uptake of paraquat. Brain Research **906**: 135–142.

Shukla AK, Ratnasekhar C, Pragya P, Chaouhan HS, Patel DK, Chowdhuri DK, Mudiam MKR. 2014. Metabolomic Analysis Provides Insights on Paraquat-Induced Parkinson-Like Symptoms in Drosophila melanogaster. Molecular Neurobiology **53**: 254–269.

Sian J, Youdim MBH, Riederer P, Gerlach M. 1999. MPTP-Induced Parkinsonian Syndrome.

Slade P. 1966. The Fate of Paraquat Applied to Plants. Weed Research **6**: 158–167.

Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, Hasegawa M, Goedert M. 1998. α-Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. Proceedings of the National Academy of Sciences **95**: 6469–6473.

Surmeier DJ, Guzman JN, Sanchez-Padilla J, Goldberg JA. 2011. The Origins of Oxidant Stress in Parkinson's Disease and Therapeutic Strategies. Antioxidants & Redox Signaling **14**: 1289–1301.

Tawara T, Fukushima T, Hojo N, Isobe A, Shiwaku K, Setogawa T, Yamane Y. 1996. Effects of paraquat on mitochondrial electron transport system and catecholamine contents in rat brain. Archives of Toxicology **70**: 585–589.

Uversky VN, Li J, Fink AL. 2001. Pesticides directly accelerate the rate of α-synuclein fibril formation: a possible factor in Parkinson's disease. FEBS Letters **500**: 105–108.

Uversky VN. 2004. Neurotoxicant-induced animal models of Parkinson's disease: understanding the role of rotenone, maneb and paraquat in neurodegeneration. Cell and Tissue Research **318**: 225–241.

Xu W, Lipscombe D. 2001. Neuronal CaV1.3α1 L-Type Channels Activate at Relatively Hyperpolarized Membrane Potentials and Are Incompletely Inhibited by Dihydropyridines. Journal of Neuroscience **21**: 5944–5951.

Yoshioka, Sugimoto T, Kinoshita N, Shimazu T, Hiraide A, Kuwagata Y. 1992. Effects of Concentration Reduction and Partial Replacement of Paraquat by Diquat on Human Toxicity: A Clinical Survey. Human & Experimental Toxicology **11**: 241–245.

Zecca L, Casella L, Albertini A, Bellei C, Zucca FA, Engelen M, Zadlo A, Szewczyk G, Zareba M, Sarna T. 2008. Neuromelanin can protect against iron-mediated oxidative damage in system modeling iron overload of brain aging and Parkinson's disease. Journal of Neurochemistry **106**:1866–1875.

Zhang X, Thompson M, Xu Y. 2016. Multifactorial theory applied to the neurotoxicity of paraquat and paraquat-induced mechanisms of developing Parkinson's disease. Laboratory Investigation **96**:496–507.

[Parakvat och Parkinsons sjukdom]: Etisk bilaga

Titus Carlsson

Självständigt arbete i biologi 2016

Att tillåta användning av en skadlig pesticid

Parakvat har länge använts inom jordbruket, trots att en del av forskarvärlden har presenterat resultat som tyder på att parakvat kan vara neurotoxisk. Ämnet säljs av företaget Syngenta. År 2007 bestämde Europeiska unionen att parakvat inte längre skulle få användas inom EU, med hänvisning till den bristande kunskapen om parakvats neurotoxicitet. Trots detta fortsätts parakvat att användas i många länder runt om i världen såsom USA, Kanada, Brasilien och Indien. Är det etiskt rätt att sälja en produkt vars hälsovådliga effekter aktivt debatteras i forskningsvärlden?

Det är mycket tveksamt huruvida det är rätt för en konsument att bli såld en produkt med debatterad toxicitet utan att konsumenten är informerad om detta. Konsumenten borde ha rätt till att veta vilka effekter produkten kan ha på deras hälsa. På Syngentas egna hemsida för parakvat står det mycket tydligt att parakvat inte skadar orsakar neuroner hos människor, med hänvisningar till vetenskapliga studier (Syngenta). Precis som Syngenta skriver på sin webbplats, så finns det mycket få studier som direkt kan bevisa att parakvat är neurotoxiskt hos människor. De studier som Syngenta presenterar behöver inte nödvändigtvis vara felaktiva, men det finns flera andra studier som påpekar parakvats neurotoxicitet hos andra organismer (Dinis-Oliveira *et al.* 2006, Purisai *et al.* 2007, Shukla *et al.* 2014). När en sådan tveksamhet i resultat finns för ett ämne som jordbrukare i sin vardag normalt exponeras för borde produkten inte längre få säljas till dess att frågorna är besvarade. För Syngenta är den vetenskapliga debatten mycket riskfylld eftersom den riskerar att drabba företagets försäljning negativt, ifall konsumenterna anser att risken överstiger nyttan. Möjligen blir det mycket information för en konsument att ta in, men det är nödvändig information som behövs förmedlas. Frågan är vem det är som ska ha ansvaret att informera om de hälsoeffekter som en produkt har. I sverige har exempelvis livsmedelsverket och kemikalieinspektionen dessa funktioner. Jag tycker dock att ett företag som säljer en debatterad produkt borde vara mycket tydlig gentemot konsumenterna med detta och inte avsäga sig sitt ansvar.

Jag anser inte att Syngenta ger en korrekt helhetsbild på sin informationshemsida och därmed riskerar att förleda konsumenter. Istället borde konsumenten presenteras med den nuvarande vetenskapliga debatten för att själva få dra en slutsats. Producenten borde ha ett ansvar inför konsumenten att även hänvisa till motsägande studier, trots att dessa inte passar deras ekonomiska intressen och mål.

Forskningsetik

Det arbete jag har skrivit har använt sig av kursböcker och vetenskapliga artiklar från välkända journaler. Jag har redovisat fakta på ett sätt som jag anser är så neutralt som möjligt. Jag har angett källor till den fakta som presenteras och jag upplever att det är tydligt vad som är mina egna slutsatser och vad som presenteras från vetenskapliga artiklar.

Referenser

Dinis-Oliveira RJ, Remião F, Carmo H, Duarte JA, Navarro AS, Bastos ML, Carvalho F. 2006. Paraquat exposure as an etiological factor of Parkinson's disease. NeuroToxicology 27: 1110–1122.

McCormack AL, Thiruchelvam M, Manning-Bog AB, Thiffault C, Langston JW, Cory-Slechta DA, Di monte DA. 2001. Environmental Risk Factors and Parkinsons Disease: Selective Degeneration of Nigral Dopaminergic Neurons Caused by the Herbicide Paraquat. Neurobiology of Disease 10: 1119-127

Purisai MG, McCormack AL, Cumine S, Li J, Isla MZ, Di Monte DA. 2007. Microglial activation as a priming event leading to paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. Neurobiology of Disease 25: 392–400.

Shukla AK, Ratnasekhar C, Pragya P, Chaouhan HS, Patel DK, Chowdhuri DK, Mudiam MKR. 2014.Metabolomic Analysis Provides Insights on Paraquat-Induced Parkinson-Like Symptoms in Drosophila melanogaster. Molecular Neurobiology 53: 254–269.

Syngenta. Safety to humans.WWW-dokument: http://www.paraquat.com/knowledge-bank/health-safety- and-stewardship/safety-to-humans. Hämtad 2016-11-24.