

JOLANTA GAŁĄZKA-FRIEDMAN¹, ANDRZEJ FRIEDMAN²

¹*Wydział Fizyki*

Politechnika Warszawska

Koszykowa 75, 00-662 Warszawa

²*Klinika Neurologii*

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kondratowicza 8, 03-242 Warszawa

E-mail: jgfrie@if.pw.edu.pl

andrzej.friedman@wum.edu.pl

ŻELAZO W NEURODEGENERACJI

WSTĘP

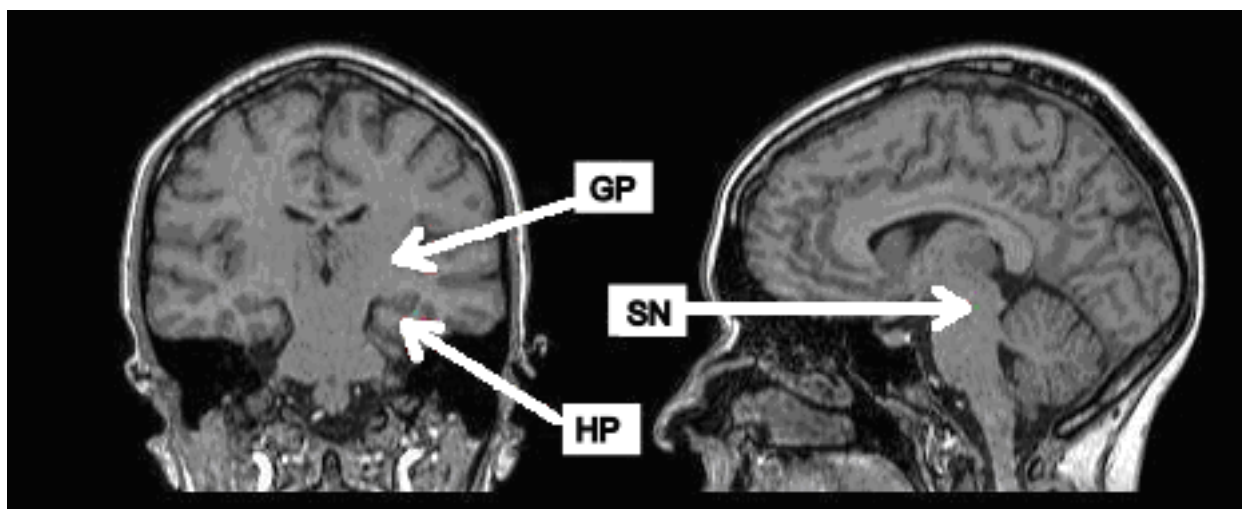
Choroby neurodegeneracyjne powstają w następstwie umierania komórek nerwowych w ośrodkowym układzie nerwowym. Typowymi chorobami neurodegeneracyjnymi ludzi są: choroba Alzheimera (AD), choroba Parkinsona (PD) i inne, tzw. atypowe parkinsonizmy, w tym postępujące porażenie nadjądrowe (ang. progressive supranuclear palsy, PSP). Choroby neurodegeneracyjne są dość częste w populacji ludzkiej, przy czym ich częstość występowania znacząco wzrasta wraz z wiekiem badanej populacji. Wiadomo, że na otępienie alzheimerowskie choruje do 25% populacji w wieku powyżej 85 roku życia, a na chorobę Parkinsona ok. 2,5% populacji starszej niż 65 lat. Nie jest do końca poznana przyczyna chorób neurodegeneracyjnych. Wiadomo, że pewną rolę odgrywać może genetyka, jak również oddziaływania środowiskowe. W obydwu przypadkach, za umieranie komórek mogą odpowiadać różne mechanizmy, takie jak przetrwały stan zapalny, toksyczne uszkodzenie i stres oksydacyjny. W naszych badaniach zajęliśmy się mechanizmami prowadzącymi do stresu oksydacyjnego, w którym istotną rolę odgrywa żelazo poprzez reakcję Fentona. W reakcji tej dochodzi do powstawania wolnych rodników, których nadmiar wywołuje stres oksydacyjny:



W związku z możliwą rolą żelaza w neurodegeneracji, badania żelaza w mózgu prowadzone są od wielu lat w licznych ośrodkach na świecie (GAŁĄZKA-FRIEDMAN i współaut. 2013).

Żelazo w mózgu jest nierównomiernie rozłożone. Jest intrygującym, że największe jego stężenie stwierdza się w tych strukturach, które związane są z chorobami neurodegeneracyjnymi. Dotyczy to istoty czarnej śródmózgowia (SN), która ulega zniszczeniu w chorobie Parkinsona, gałki bladej (GP), która podlega destrukcji w PSP, oraz kory hipokampa (HP), gdzie toczy się proces neurodegeneracyjny w chorobie Alzheimera. Wymienione struktury zostały pokazane na Ryc. 1.

Pierwsze, porównawcze badania żelaza w kontrolnej i parkinsonowskiej istocie czarnej zostały opublikowane w 1968 r. (EARLE 1968). Autor zastosował metodę XRF do badania tkanki mózgowej przechowywanej w formalinie. Tkanka kontrolna była przechowywana w formalinie znacznie dłużej niż tkanka patologiczna (około 70 lat). Pomiarzy zostały wykonane bez kalibracji i z tego powodu nie można było wyznaczyć bezwzględnej zawartości żelaza w badanej tkance. W pracy tej stwierdzono 2-krotny wzrost koncentracji żelaza w parkinsonowskiej istocie czarnej, w porównaniu z kon-



Ryc. 1. MRI prawidłowego ludzkiego mózgu. Strzałki wskazują wymienione struktury: GP – gałka biała, HP – hipokamp (strona lewa) i SN – istota czarna (strona prawa).

trzną istotą czarną. W pracy wykonanej 20 lat później (SOFIC i współaut. 1988), przy pomocy spektrofotometrii stwierdzono również znaczny wzrost koncentracji żelaza w tkance patologicznej, w stosunku do kontrolnej ($1,77 \pm 0,37$). W pracy tej oprócz koncentracji żelaza całkowitego, wyznaczono stosunek żelaza dwuwartościowego do trójwartościowego. Należy podkreślić bardzo duży procent żelaza dwuwartościowego znalezionej metodą w tkance kontrolnej (około 75%) oraz w tkance patologicznej (około 50%). W kolejnych badaniach opublikowanych w latach 1993–1994 zaobserwowano także duży wzrost koncentracji żelaza w tkance patologicznej w stosunku do kontroli. W pracy wykonanej z zastosowaniem absorpcji atomowej (GRIFFITHS i CROSSMAN 1993) wyniósł on $2,01 \pm 0,24$, a w pracy wykonanej metodą ICP (MANN i współaut. 1994) był on równy $1,56 \pm 0,89$. W pracy Manna i współpracowników niepewność wyniku końcowego jest tak duża, że trudno właściwie mówić o wzroście koncentracji żelaza.

Nasze własne badania mössbauerowskie rozpoczęliśmy w celu zidentyfikowania związku wiążącego żelazo w istocie czarnej, znalezienia stosunku żelaza dwuwartościowego do trójwartościowego oraz oceny koncentracji żelaza w istocie czarnej. Pierwsze wyniki zostały opublikowane w pracy BAUMINGER i współaut. (1994) i były dość zaskakujące. Ferrytyna okazała się związkiem, który wiąże 95% żelaza obecnego w istocie czarnej. Było to w sprzeczności z wynikami pracy JELLINGE-

RA i współaut. (1992), którzy udowodniali, że żelazo w istocie czarnej związane jest głównie z neuromelaniną. Nie znaleźliśmy również sygnału pochodzącego od żelaza dwuwartościowego. Koncentracja żelaza w tkance kontrolnej i parkinsonowskiej była porównywalna. Pomiary wykonano dla tkanek przechowywanych w formalinie oraz dla tkanek świeżych przechowywanych w niskiej temperaturze (-70°C). Dla tkanek przechowywanych w formalinie oprócz sygnału pochodzącego od ferrytyny zaobserwowano również sygnał pochodzący od żelaza pozaferrytynowego. Jego wielkość była proporcjonalna do czasu przechowywania próbek w formalinie. Obserwacja ta potwierdziła nasze przypuszczenia, że w trakcie przechowywania tkanek mózgowych w formalinie może dojść do wypływu żelaza z ferrytyny i ponownego związania go ze związkami obecnymi w formalinie.

W 1995 r. zostały opublikowane badania porównawcze istot czarnych parkinsonowskich i kontrolnych wykonane metodą kolorymetryczną (LOEFFLER i współaut. 1995). W tej pracy zaobserwowano z kolei zmniejszenie koncentracji żelaza w tkance patologicznej w porównaniu kontrolną ($0,82 \pm 0,08$).

Ten krótki przegląd wyników pomiarów żelaza w tkance mózgowej pokazuje, jak bardzo wyniki otrzymane w różnych laboratoriach różnią się między sobą. W celu wyjaśnienia tych kontrowersji podjęliśmy systematyczne badania mössbauerowskie tkanek mózgowych przechowywanych w niskich temperaturach, bez kontaktu z formaliną.

Badania większej liczby istot czarnych parkinsonowskich ($n = 6$) i istot czarnych kontrolnych ($n = 8$) przechowywanych w temperaturze -70°C , opublikowane przez GALAZKĘ-FRIEDMAN i współaut. (1996), potwierdziły wcześniej opublikowane wyniki. W tkankach patologicznych i kontrolnych nie zaobserwowano dużej koncentracji żelaza dwuwartościowego (górną granicą $\leq 5\%$), stwierdzono głównie obecność żelaza ferrytyno-podobnego (około 95%) oraz nie zaobserwowano wzrostu koncentracji żelaza całkowitego w tkance patologicznej w porównaniu z kontrolną (159 ± 13 ng/mg vs 163 ± 17 ng/mg).

Różnice między naszymi wynikami pomiarów mössbauerowskich a wynikami pomiarów wykonanych przy pomocy spektrofotometrii, fluorescencji rentgenowskiej, atomowej absorpcji i innych metod fizycznych zostały przedyskutowane w pracy GALAZKI-FRIEDMAN i FRIEDMANA (1997). Poniżej podamy najważniejsze konkluzje.

Dwukrotny wzrost koncentracji żelaza całkowitego otrzymany w pracy Earle'go przy użyciu fluorescencji rentgenowskiej jest zapewne artefaktem wynikającym z badania tkanek mózgowych przechowywanych w formalinie. Tkanki kontrolne przechowywane były znacznie dłużej niż tkanki parkinsonowskie. Mogło to spowodować znacznie intensywniejszy wpływ żelaza. Można domniemywać, iż w tym eksperymencie zaobserwowano

raczej dwukrotne zmniejszenie koncentracji żelaza w próbkach kontrolnych niż dwukrotny wzrost koncentracji żelaza w próbkach patologicznych.

Eksperyment wykonany przy użyciu metody spektrofotometrycznej i opisany w pracy SOFIC i współaut. (1988) jest zapewne również obarczony artefaktem. Bardzo duża zawartość żelaza dwuwartościowego zaobserwowana w tym eksperymencie nie była opisywana w żadnej z prac. Przyczyną tej kontrowersji może być sposób przygotowywania próbek do pomiarów. Polegał on na homogenizacji tkanki w obecności kwasu solnego i witaminy C. Taka procedura mogła doprowadzić do redukcji żelaza trójwartościowego do dwuwartościowego. Różnice w koncentracji żelaza całkowitego mogą być związane z innym tempem wypływu żelaza z ferrytyny.

Inne przyczyny różnic w oszacowaniu koncentracji żelaza w próbkach patologicznych mogą być związane z pobieraniem do badań zbyt małej ilości materiału, co przy nierównomiernym rozkładzie żelaza w istocie czarnej prowadzi do dużej fluktuacji wyników.

Na zakończenie należy zauważyć, że do badań mössbauerowskich pobierano całą istotę czarną wyznaczając koncentrację żelaza na podstawie pomiaru całej struktury mózgowej. Technika spektroskopii mössbauerowskiej nie wymaga również żadnego przygotowywania próbek.

ŻELAZO I FERRYTYNA W CHOROBIE PARKINSONA

Kolejne pomiary koncentracji żelaza całkowitego w istotach czarnych parkinsonowskich i kontrolnych wykonano na większej liczbie próbek (liczba próbek patologicznych = 17 i liczba próbek kontrolnych = 29). Stosunek koncentracji żelaza całkowitego w chorobie Parkinsona do koncentracji żelaza całkowitego w kontroli wyniósł $1,00 \pm 0,13$ (GALAZKA-FRIEDMAN i współaut. 2009a).

Aby ustalić, czy żelazo odgrywa jakąś rolę w powstawaniu choroby Parkinsona postanowiliśmy zbadać budowę cząsteczek ferrytyny obecnych w tkance patologicznej i kontrolnej przy pomocy metody ELISA (ang. enzyme-linked immunosorbent assay).

Przypomnijmy podstawowe wiadomości na temat budowy i funkcji ferrytyny. Cząsteczka ferrytyny ma kształt kuli zbudowanej z powłoki białkowej. Wewnątrz ferrytyny znajduje się jądro żelazne o różnym stopniu

wypełnienia przez związki żelaza. Średnica cząsteczki ferrytyny ma wielkość około 12 nm. Średnica jej wewnętrznej kapsuły, w której tworzy się jądro żelazne, wynosi 7 nm. Białkowa powłoka ferrytyny składa się z 24 łańcuchów. Występują 2 rodzaje łańcuchów: ciężkie (H) i lekkie (L). Ferrytyna obecna w różnych organach ludzkich ma różny stosunek łańcuchów H/L. W wątrobie przeważają łańcuchy L, w mózgu obserwuje się przewagę łańcuchów H. Rola łańcuchów H i L jest zróżnicowana. Łańcuchy L zaangażowane są w budowanie jądra żelaznego ferrytyny, a łańcuchy H odgrywają istotną rolę w transporcie żelaza do wnętrza ferrytyny i na zewnątrz molekuly. W ferrytynie istnieją specjalne kanały, które umożliwiają obieg żelaza. Jądro żelazne ferrytyny zbudowane jest z cząsteczek wodorotlenków żelaza; głównie jest to ferryhydryt (FRIEDMAN i współaut. 2011).

Tabela 1. porównanie stężenia ferrytyny H i L w badanej tkance w chorobie Parkinsona i kontroli

Tkanka	Ferrytyna H (ng/mg świeżej tkanki)	Ferrytyna H Stosunek choroba/ kontrola	Ferrytyna L (ng/mg świeżej tkanki)	Ferrytyna L Stosunek choroba/ kontrola
SN PD	534±71	1.42±0.23	52±8	0.53±0.10
SN kontrola	375±38		98±12	

Przy pomocy techniki ELISA została wyznaczona koncentracja łańcuchów H i L w parkinsonowskich i kontrolnych istotach czarnych. Wyniki tych oznaczeń zostały przedstawione w Tabeli 1. Okazuje się, iż w parkinsonowskiej istocie czarnej dochodzi do znacznego wzrostu koncentracji łańcuchów H i znacznego zmniejszenia koncentracji łańcuchów L. Stosunek koncentracji łańcuchów H w chorobie do kontroli równy 1,42, przy jednoczesnym stosunku koncentracji łańcuchów L w chorobie do kontroli równym 0,53 wskazuje, że w chorobie Parkinsona dochodzi do zmian w budowie cząsteczek ferrytyny, a nie do powstawania nowych cząsteczek ferrytyny (KOZIOROWSKI i współaut. 2007).

Oprócz zmian w budowie cząsteczek ferrytyny zaobserwowano również różnicę w stężeniu żelaza labilnego (WYPIJEWSKA i

współaut. 2010). Koncentracja żelaza labilnego w tkance parkinsonowskiej była znacznie wyższa niż w tkance kontrolnej (135 ± 10 ng/g *vs* 76 ± 5 ng/g świeżej tkanki).

Te dwa ostatnie wyniki mogą sugerować następujący mechanizm powstawania choroby Parkinsona: jakiś nieznaną jeszcze czynnik (być może związany ze zmianami genetycznymi) powoduje zwiększenie liczby łańcuchów H, przy jednoczesnym zmniejszeniu liczby łańcuchów L. Prowadzi to do zmniejszenia zdolności cząsteczek ferrytyny do budowania stabilnego jądra żelaznego wewnątrz proteinowej powłoki ferrytyny. Następstwem tego jest wzrost stężenia żelaza labilnego, które intensywniej uczestniczy w reakcji Fentona powodując nadprodukcję wolnych rodników. Te z kolei mogą niszczyć błonę komórkową doprowadzając do zaniku komórek nerwowych istoty czarnej.

ŻELAZO I FERRYTYNA W CHOROBIE ALZHEIMERA

W celu zbadania, jaką rolę może odgrywać żelazo w powstawaniu choroby Alzheimera zmierzono koncentrację żelaza całkowitego w hipokampach osób zmarłych w przebiegu choroby Alzheimera oraz w hipokampach grupy kontrolnej. Koncentracja żelaza w hipokampach grupy kontrolnej była znacznie niższa niż koncentracja żelaza w istocie czarnej grupy kontrolnej (45 ± 10 ng/mg *vs* 177 ± 13 ng/mg świeżej tkanki). Obserwacja ta jest zgodna z wynikami otrzymanymi w innych

laboratoriach przy użyciu różnych metod badawczych. Koncentracja żelaza w hipokampach alzheimerowskich wyniosła natomiast 66 ± 13 ng/mg świeżej tkanki. Stosunek koncentracji żelaza w hipokampach patologicznych do kontroli wyniósł więc $1,47 \pm 0,44$ (GAŁAZKA-FRIEDMAN i współaut. 2011).

Biorąc pod uwagę dużą niepewność wyniku, trudno mówić o tym, że w hipokampach alzheimerowskich mamy podwyższoną koncentrację żelaza w stosunku do kontroli. Wyniki

Tabela 2. porównanie stężenia ferrytyny H i L w badanej tkance w chorobie Alzheimera i kontroli

Tkanka	Ferrytyna H (ng/mg świeżej tkanki)	Ferrytyna H Stosunek choroba/ kontrola	Ferrytyna L (ng/mg świeżej tkanki)	Ferrytyna L Stosunek choroba/ kontrola
HP AD	397±29	3.93±0.45	29±5	3.22±0.90
HP kontrola	101±9		9±2	

badania przeprowadzonych przy pomocy techniki ELISA zostały przedstawione w Tabeli 2.

Analiza wyników zamieszczonych w Tabeli 2 przemawia za tym, że w alzheimerowskich hipokampach dochodzi do takiego samego zwiększenia koncentracji zarówno łańcuchów H, jak i łańcuchów L. Łącząc ten fakt z informacją, że trudno mówić o istotnym zwiększeniu koncentracji żelaza w hipokampach alzheimerowskich, można dojść do wniosku, że w

chorobie Alzheimera występuje zjawisko nadprodukcji apoferrytyny (ferrytyny pozbawionej jądra żelaznego). Podobne zjawisko zachodzi w przypadku pojawienia się stanów zapalnych. Ta konkluzja dobrze koreluje się z hipotezą mówiącą, że jedną z przyczyn powstawania choroby Alzheimera może być przewlekły proces zapalny odpowiednich struktur mózgowych.

ŻELAZO W PSP

W chorobie PSP, która jest rodzajem atypowego parkinsonizmu, destrukcji ulega nie tylko istota czarna, ale również gałka biała. Wyniki pomiarów koncentracji żelaza całkowitego obecnego zarówno w istocie czarnej, jak i gałce białej przedstawione zostały w Tabeli 3. Dla porównania zostały podane również wyniki dotyczące choroby Parkinsona.

W chorobie PSP dochodzi do zwiększenia koncentracji żelaza zarówno w istocie czarnej, jak i w gałce białej. Brak oznaczeń koncentracji łańcuchów ferrytyny uniemożliwia zasugerowanie jakiegokolwiek mechanizmu powstawania choroby PSP, który byłby związany z metabolizmem żelaza (GALAZKA-FRIEDMAN i współaut. 2009b).

Tabela 3. porównanie wyników stężenia żelaza w gałce białej i istocie czarnej dla choroby Parkinsona i PSP w porównaniu z kontrolą

Choroba	Tkanka	Status D – choroba; C – kontrola	Liczba próbek	Koncentracja żelaza (ng/mg świeżej tkanki)	Stosunek choroba/kontrola
PD	SN	D	17	177±18	1.00±0.13
		C	29	177±14	
PSP	GP	D	10	257±19	1.40±0.20
		C	12	183±22	
PSP	SN	D	10	301±26	1.60±0.23
		C	9	188±22	

WNIOSKI

Porównanie wyników uzyskanych w badaniach tkanek pochodzących z tych trzech neurodegeneracyjnych chorób sugeruje różny udział stresu oksydacyjnego w każdej z nich. Sytuacja w chorobie Parkinsona wydaje się najbardziej jasna – obniżenie koncentracji łańcuchów L prowadzi do upośledzenia funkcji wiązania żelaza w bezpiecznej formie wewnątrz ferrytyny, co skutkuje możliwością uwalniania żelaza dwuwartościowego, które może inicjować reakcję Fentona prowadząc do stresu oksydacyjnego. Zupełnie inną sytuację mamy

w chorobie Alzheimera, gdzie stwierdzamy wzrost stężenia zarówno ferrytyny H, jak i L przy niewielkim jedynie wzroście stężenia żelaza. Można jedynie się domyślać, że w chorobie Alzheimera mogą odgrywać rolę inne mechanizmy niż stres oksydacyjny, np. pobudzenie mikrogleju z indukcją stanu zapalnego. W PSP mamy do czynienia, w odróżnieniu od choroby Parkinsona, ze wzrostem stężenia żelaza zarówno w SN jak i w GP, jednak nie mając informacji na temat koncentracji łańcuchów ferrytyny, nie możemy wyciągać żadnych wniosków.

ŻELAZO W NEURODEGENERACJI

Streszczenie

W pracy omówiono możliwą rolę żelaza w powstawaniu chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona, choroba Alzheimera i postępu-

jące porażenie nadjądrowe (PSP). Otrzymane wyniki sugerują różne mechanizmy prowadzące do śmierci komórek nerwowych w tych chorobach.

IRON IN NEURODEGENERATIVE DISEASES

Summary

In this review we discuss the possible role of iron in induction of neurodegenerative disease like Parkinson's disease, Alzheimer disease and progres-

sive supranuclear palsy (PSP). Our results suggest different mechanisms leading to nervous cells death in these diseases.

LITERATURA

- BAUMINGER E. R., BARCIKOWSKA M., FRIEDMAN A., GALAZKA-FRIEDMAN J., HECHEL D., NOWIK I., 1994. *Does iron play a role in Parkinson's disease?* *Hyperfine Interact.* 91, 853–856.
- EARLE K. M., 1968. *Studies on Parkinson's disease including X-ray fluorescent spectroscopy of formalin fixed brain tissue.* *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 27, 1–13.
- FRIEDMAN A., AROSIO P., FINAZZI D., KOZIOROWSKI D., GALAZKA-FRIEDMAN J., 2011. *Ferritin as an important player in neurodegeneration.* *Park. Rel. Disord.* 17, 423–430.
- GALAZKA-FRIEDMAN J., FRIEDMAN A., 1997. *Controversies about iron in parkinsonian and control substantia nigra.* *Acta Neurobiol. Exp.* 57, 210–225.
- GALAZKA-FRIEDMAN J., BAUMINGER E. R., FRIEDMAN A., BARCIKOWSKA M., HECHEL D., NOWIK I., 1996. *Iron in parkinsonian and control substantia nigra – a Mössbauer spectroscopy study.* *Mov. Disord.* 11, 8–16.
- GALAZKA-FRIEDMAN J., FRIEDMAN A., BAUMINGER E. R., 2009a. *Iron in the brain.* *Hyperfine Interact.* 189, 31–37.
- GALAZKA-FRIEDMAN J., BAUMINGER E. R., SZLACHTA K., SCHWEITZER K., WSZOLEK Z., DICKSON D., FRIEDMAN A., 2009b. *Mössbauer studies of pathological brain tissues affected by PSP disease.* *Acta Phys. Pol.* 115, 431–433.
- GALAZKA-FRIEDMAN J., BAUMINGER E. R., SZLACHTA K., KOZIOROWSKI D., TOMASIUK R., JAKLEWICZ A., WSZOLEK Z.K., DICKSON D., KAPLINSKA K., FRIEDMAN A., 2011. *Iron in Alzheimer and control hippocampi – Mössbauer, atomic absorption and ELISA studies.* *Acta Phys. Pol.* 119, 81–83.
- GALAZKA-FRIEDMAN J., BAUMINGER E. R., FRIEDMAN A., 2013. *Iron in neurodegeneration. [W:] Mössbauer spectroscopy- Applications in chemistry, biology and nanotechnology.* SHARMA V. K., KLINGELHÖFER G., NISHIDA T. (red.). Wiley, Hoboken New Jersey, 324–332.
- GRIFFITHS P. D., CROSSMAN A. R., 1993. *Distribution of iron in the basal ganglia and neocortex in postmortem tissue in Parkinson's disease and Alzheimer's disease.* *Dementia* 4, 61–65.
- JELLINGER K., KIENZL E., RUMPELMAIR G., RIEDERER P., STACHELBERGER H., BEN-SHACHAR D., YODIM M. B. H., 1992. *Iron-melanin complex in substantia nigra of parkinsonian brains: an X-ray microanalysis.* *J. Neurochem.* 59, 1168–1171.
- KOZIOROWSKI D., FRIEDMAN A., AROSIO P., SANTAMBROGIO P., DZIEWULSKA D., 2007. *ELISA reveals a difference in the structure of substantia nigra ferritin in Parkinson's disease and incidental Lewy Body compared to control.* *Park. Rel. Disord.* 13, 214–218.
- LOEFFLER D. A., CONNOR J. R., JUNEAU P. L., SNYDER B. S., KANALEY L., DEMAGGIO A. J., NGUYEN H., BRICKMAN C. M., LEWITT P. A., 1995. *Transferrin and iron in normal Alzheimer's disease and Parkinson's disease brain regions.* *J. Neurochem.* 65, 710–716.
- MANN V. M., COOPER J. M., DANIEL S. E., SRAI K., JENNER O., MARSDEN C. D., SCHAPIRA A. H. V., 1994. *Complex I, iron, and ferritin in Parkinson's disease substantia nigra.* *Ann. Neurol.* 36, 876–881.
- SOFIC E., RIEDERER P., HEINSEN H., BECKMANN H., REYNOLDS G. P., HEBENSTREIT G., YODIM M. B. H., 1988. *Increased iron (111) and total iron content in post mortem substantia nigra of parkinsonian brain.* *J. Neural. Trans.* 74, 199–205.
- WYPIJEWSKA A., GALAZKA-FRIEDMAN J., BAUMINGER E. R., WSZOLEK Z. K., SCHWEITZER K. J., DICKSON D. W., JAKLEWICZ A., ELBAUM D., FRIEDMAN A., 2010. *Iron and reactive oxygen species activity in parkinsonian substantia nigra.* *Park. Rel. Disord.* 16, 329–333.