

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE QUÍMICA**

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA S-ALILCISTEÍNA SOBRE  
LA HIPERACTIVIDAD TEMPRANA, EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA  
DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL INDUCIDOS POR EL ÁCIDO 3-  
NITROPROPIÓNICO EN RATAS.**

ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA:  
**MA. NIEVES HERRERA MUNDO**

MÉXICO, D.F.

2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

PRESIDENTE: Prof. Atonatiu Edmundo Gómez Martínez

VOCAL: Prof. Gloria Gutiérrez Venegas

SECRETARIO: Dr. Abel Santamaría Del Ángel

1er. SUPLENTE: Prof. José Pedraza Chaverri

2º. SUPLENTE: Prof. Vanesa Maya Ampudia

Este tema se desarrolló en el Laboratorio de Aminoácidos Excitadores del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Manuel Velasco Suárez, México, D.F.

ASESOR

---

Dr. Abel Santamaría Del Ángel

SUSTENTANTE

---

Ma. Nieves Herrera Mundo

## **INDICE**

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>3</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>3</b>
<b>DISEÑO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>4</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>6</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>11</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>14</b>

## **Introducción**

El ácido 3-nitropropiónico (3-NPA) es una toxina de origen fúngico que se encuentra en la naturaleza e interrumpe el transporte de electrones en la mitocondria a través de la inhibición irreversible de la succinato deshidrogenasa, produciendo así un déficit energético celular y un evento neurodegenerativo en mamíferos (Ludolph et al., 1991; Willner et al., 1994; Alexi et al., 1998). Aunque el mecanismo preciso por el cual la exposición al 3-NPA conduce a un daño neuronal todavía no es perfectamente conocido, existen evidencias experimentales que han demostrado que una administración sistémica de 3-NPA a animales produce daño neuronal el cual involucra un evento excitotóxico secundario a través de la activación de receptores de glutamato (Beal et al., 1993; Fu et al., 1995a; Greene et al., 1998). La administración sistémica de dosis bajas de 3-NPA produce atrofia estriatal selectiva. (Shimano et al., 1995). Adicionalmente, en estudios recientes se ha reportado un papel activo de especies reactivas de oxígeno (ERO's) y el estrés oxidativo en la neurotoxicidad inducida por el 3-NPA (Fu et al., 1995b; Schulz et al., 1996; Fontaine et al., 2000).

Varios estudios han descrito extensivamente la neurodegeneración asociada con 3-NPA y su utilidad como un modelo de la enfermedad de Huntington (HD), pero la caracterización de los síntomas conductuales producidos por la toxina han sido escasos. Los primeros estudios describieron un patrón conductual aberrante inducido por 3-NPA en tres etapas a saber: etapa I, somnolencia; etapa II, falta de coordinación de la marcha con manoteo y movimientos estereotipados; etapa III, balanceo ventral y lateral (Borlongan, 1995). En estudios controlados con ratones, una administración sistémica única o administraciones repetidas de 3-NPA resultaron en lesiones de los ganglios basales con una

disminución inicial en la actividad motora seguida por episodios ocasionales de hiperactividad y/o movimientos anormales (Koutouzis, 1994).

Por otra parte el extracto del ajo (*Allium sativum*) maduro, contiene numerosos compuestos los cuales han demostrado tener efectos benéficos bajo diversas condiciones experimentales, tales como propiedades antioxidantes, prevención de enfermedades cardiovasculares, hipocolesterolemiantes y reducción de la incidencia de cáncer, entre otras (Ide et al., 1996; Maldonado et al., 2003a). Una de las moléculas más abundante del extracto del ajo maduro es un compuesto organosulfurado, la S-alilcisteína (SAC), cuyas propiedades antioxidantes y protectoras han sido ampliamente reconocidas bajo diversas condiciones experimentales (Yamasaki et al., 1994; Lawson, 1996; Ide y Lau, 2001). La SAC es capaz de secuestrar o atrapar los radicales  $O_2^{\cdot-}$  y  $H_2O_2$  (Ide y Lau; Maldonado et al., 2003b), previniendo así el daño a células endoteliales y la peroxidación lipídica (Yamasaki et al., 1994; Ide y Lau, 2001) inducida por el  $H_2O_2$ . A nivel del SNC, la SAC reduce la formación de edema en el cerebro de la rata isquémica probablemente involucrando mecanismos vinculados a la inhibición de peroxidación lipídica (Numagami et al., 1996; Ohnishi, 2001). Adicionalmente, la SAC atenúa la nefrotoxicidad inducida por gentamicina (Maldonado et al., 2003b), y produce efectos neuroprotectores por daño oxidativo y déficit de aprendizaje (Pérez-Severiano et al., 2004), apoptosis (Peng et al., 2002), así como una inducción de acciones neurotróficas en cultivo de neuronas del hipocampo de rata (Moriguchi et al., 1997) debidos todos al daño inducido por el péptido  $\beta$ -amiloide (Ito et al., 2003, Pérez-Severiano et al., 2004a). Además, recientemente se demostró la capacidad de la SAC de prevenir la peroxidación de lípidos y la disfunción mitocondrial inducidos por el 3-NPA en sinaptosomas de cerebro de rata (Pérez-De La Cruz et al., 2006).

## **Objetivos**

- Caracterizar el patrón conductual evocado por la administración sistémica de 3-NPA en ratas y evaluar el daño causado en el estriado de ratas por la administración de dicha toxina.
- Evaluar el posible efecto protector de la SAC sobre las alteraciones conductuales y el daño oxidativo y la disfunción mitocondrial inducidos por el ácido 3-NPA en tejido estriatal en ratas.

## **Materiales y métodos**

Para llevar a cabo éste trabajo experimental se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (280-320 g) y los parámetros que se determinaron mediante diferentes técnicas fueron los siguientes: patrón conductual, actividad de la superóxido dismutasa, viabilidad mitocondrial y peroxidación de lípidos.

### **Diseño experimental**

Los animales se dividieron en cuatro grupos (6 ratas por grupo) y fueron tratados de la siguiente manera: grupo I (control), solamente se le administró solución salina i.p.; grupo II recibió SAC 300 mg/kg, i.p.; grupo III recibió 3-NPA 30 mg/kg, i.p.; y grupo IV (SAC+3-NPA, i.p.). La SAC fue administrada 30 minutos antes de recibir el 3-NPA. Una vez administrados todos los grupos, se evaluó el comportamiento conductual de manera cualitativa durante 2 horas y finalmente los animales fueron sacrificados por decapitación dos horas después de las respectivas administraciones, obteniéndose el tejido estriatal para las posteriores determinaciones. Para la evaluación conductual, los parámetros considerados fueron los siguientes: hiperactividad general, marcha tambaleante, manoteo estereotipado, balanceo ventral o lateral y extensión rígida de miembros. Los parámetros analizados como indicadores de daño oxidativo fueron: la actividad de la superóxido dismutasa (SOD), la viabilidad mitocondrial y la peroxidación de lípidos. La actividad de la SOD se midió por una técnica previamente reportada (Pérez-Severiano et al., 2004a; 2004b) la cual se basa en la inhibición de la reducción del reactivo azul de nitrotetrazolio (NBT) el cual sirve como un reactivo indicador, para lo cual se utilizó un sistema xantina/xantina oxidasa. Para estos procedimientos experimentales, las concentraciones de proteína fueron determinadas de acuerdo a la técnica de Lowry (1951). Los resultados fueron expresados como unidades de actividad de la SOD por miligramo de proteína.

La viabilidad mitocondrial se determinó en base a la reducción del reactivo 3-(3,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro (MTT) (Mosmann, 1983; Berridge y Tan, 1993). Este método, empleado usualmente como un índice del estado funcional de la cadena respiratoria, se basa en la formación de formazan a través de la acción de la deshidrogenasa mitocondrial en fracciones celulares o células viables (Massieu et al., 2004). La cuantificación de formazan fue determinada por estimación de la densidad óptica a 570 nm. Los resultados fueron expresados como el porcentaje de la reducción de MTT con respecto a los valores del grupo control.

Para la determinación de la peroxidación de lípidos se utilizó una técnica fluorométrica, (Santamaría et al., 1997; 2001a) para lo cual se realizó la medición de la señal de fluorescencia de cada muestra en un espectrofotómetro de luminiscencia a longitudes de onda de excitación de 370 nm y de emisión de 430 nm. Los datos obtenidos fueron expresados en unidades de fluorescencia por gramo de tejido.

Los resultados que se esperaban obtener con la realización de esta investigación son que la SAC disminuya o atenúe los cambios conductuales, así como el daño oxidativo provocados por la administración sistémica del 3-NPA.

## Resultados.

En la Tabla 1 se presentan los datos cualitativos de los parámetros conductuales observados en las ratas tratadas con 3-NPA y SAC. Ninguna de éstas características fueron observadas en los animales del grupo control, ni tampoco en el grupo de SAC. En contraste, el grupo tratado solamente con 3-NPA manifestó todas estas alteraciones conductuales de manera moderada o intensa, evidenciando así una hiperactividad general, mientras que el pretratamiento con SAC redujo notablemente algunos de estos parámetros producidos por el 3-NPA.

**Tabla 1.** Parámetros conductuales de las ratas tratadas con ácido 3-nitropropiónico (3-NPA) y/o S-alilcisteína (SAC).

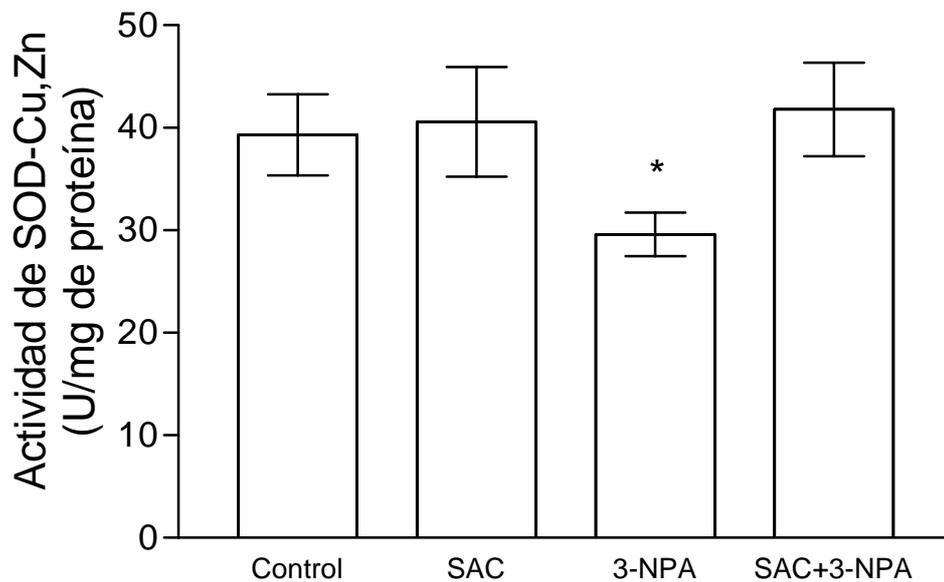
	Control	SAC	3-NPA	SAC+3-NPA
Hiperactividad	n.o.	n.o.	+++	+
Marcha tambaleante	n.o.	n.o.	++	n.o.
Manoteo estereotipado	n.o.	n.o.	+++	n.o.
Balanceo ventral o				
Lateral	n.o.	n.o.	++	n.o.
Extensión rígida				
de miembros	n.o.	n.o.	+++	+

Las ratas (n = 6 animales por grupo) fueron administradas con SAC (300 mg/kg, i.p.) o solución salina 30 minutos antes de una sola infusión sistémica de 3-NPA (30 mg/kg, i.p.) o solución salina, y fueron observadas durante un período de 120 minutos antes de sacrificarlas para otras determinaciones experimentales. La frecuencia cualitativa de ocurrencia de un evento dado es representada de la siguiente manera: (n.o.) no se observó; (+) escaso; (++) moderado; (+++) intenso.

Los efectos de SAC y 3-NPA sobre la actividad de ambas isoformas de la SOD son presentadas en la Figura 1. La actividad basal de SOD-Cu,Zn y SOD-Mn fueron  $39.3 \pm 3.9$  y  $4.5 \pm 0.5$  U/mg de proteína, respectivamente (Fig. 1A y B). El grupo de 3-NPA disminuyó la actividad de ambas isoformas (25 y 41 % por abajo del grupo control para SOD-Cu,Zn y SOD-Mn, respectivamente), mientras que el pretratamiento con SAC para las ratas inyectadas previamente con 3-NPA resultaron en una completa preservación de la actividad de la enzima hasta niveles basales (6 % por arriba y 2 % por debajo del grupo control para SOD-Cu,Zn y SOD-Mn, respectivamente). El grupo de SAC no produjo cambios en la actividad de estas enzimas cuando se comparo con los animales control.

**Figura 1.**

**A**



**B**

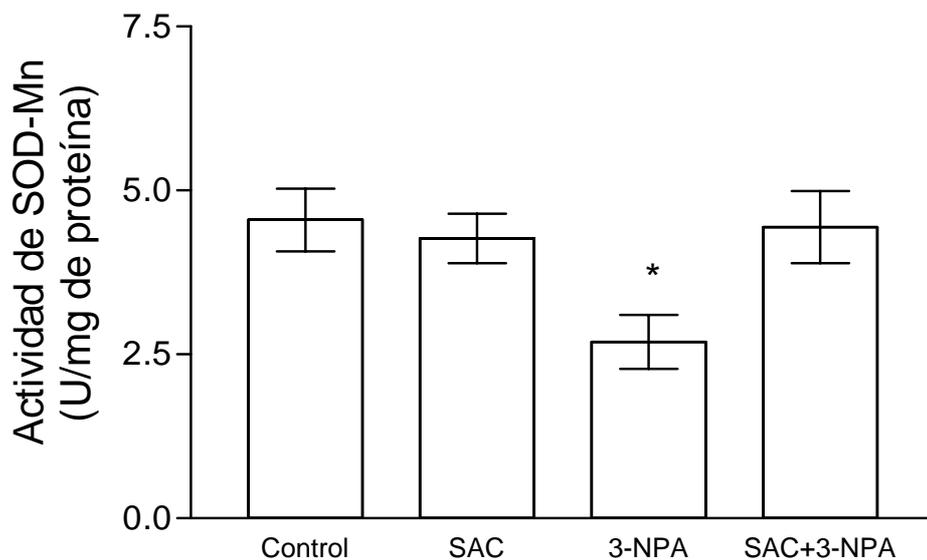


Fig 1. (A y B) se muestran los efectos del 3-NPA y la SAC sobre la actividad de SOD-Mn y SOD-Cu,Zn en el estriado de rata. Las ratas (n = 6 animales por grupo) fueron administradas con SAC (300 mg/kg, i.p.) o solución salina 30 minutos antes de una sola inyección sistémica de 3-NPA (30 mg/kg, i.p.) o solución salina. Ambas isoformas de la SOD fueron determinadas 120 minutos después de la administración del 3-NPA. \*P<0.05, diferente del control. ANOVA seguido de una prueba de Tukey.

Los niveles de LP (expresados como la formación de productos lipídicos fluorescentes (LFP)) en tejido estriatal para las ratas control, las tratadas con SAC y 3-NPA, se muestran en la Figura 2. La administración de 3-NPA a ratas incrementó la formación de LFP en tejido estriatal en un 35 % por arriba del grupo control, mientras que el pretratamiento con SAC disminuyó la LP inducida por el 3-NPA muy escasamente por debajo de los niveles basales (13 % más abajo del control). El grupo de SAC sólo no produjo cambios significativos en la LP cuando se comparó con el grupo control (4 % por arriba) (no se muestran los datos, n = 2).

**Figura 2.**

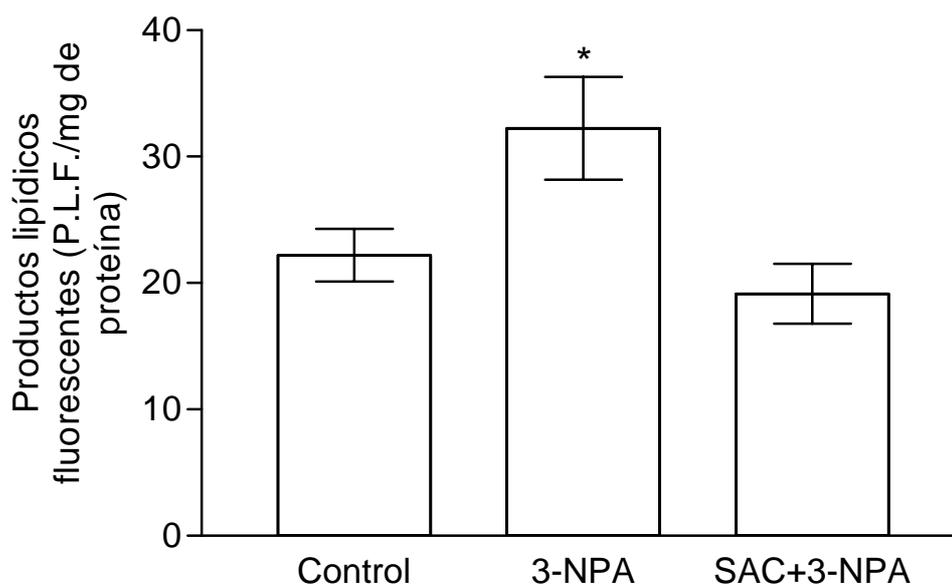


Fig 2. Se muestran los efectos del 3-NPA y la SAC sobre la peroxidación de lípidos (formación de productos lipídicos fluorescentes) en el estriado de ratas. Las ratas (n = 4 animales por grupo) fueron administradas con SAC (300 mg/kg, i.p.) o solución salina 30 minutos antes de una sola infusión sistémica de 3-NPA (30 mg/kg, i.p.) o solución salina. La señal fluorescente fue medida en el homogenado estriatal 120 minutos después de la administración del 3-NPA. \*P<0.05 diferentes del control. ANOVA seguido de una prueba de Tukey.

En la Figura 3 se muestra el efecto de SAC sobre la disfunción mitocondrial en el estriado de ratas inducida por el 3-NPA evaluado mediante la reducción del reactivo MTT. Los sinaptosomas estriatales de las ratas tratadas con 3-NPA exhibieron una disminución significativa en la reducción del MTT con respecto al valor del grupo control (39 % por abajo). En contraste, el grupo de SAC previno parcialmente la capacidad de disminuir la reducción del MTT inducida por el 3-NPA en un 41 % (14 % por abajo del control), mientras que al grupo al que se le dio solamente SAC no mostró efectos cuando se comparó con el grupo control (12 % por arriba).

**Figura 3.**

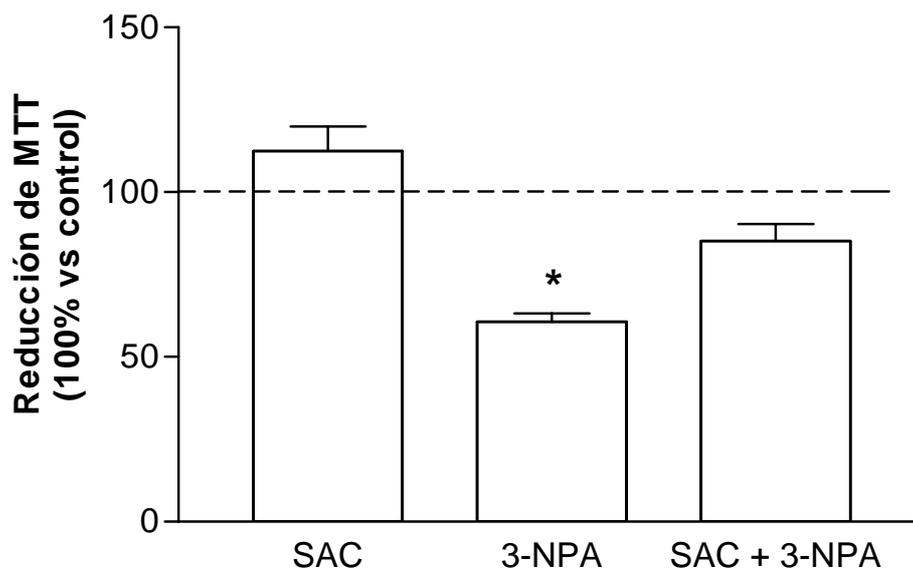


Fig 3. Se presentan los efectos del 3-NPA y la SAC sobre la disfunción mitocondrial (como la disminución de la reducción del reactivo MTT) en el estriado de rata. Las ratas (n = 6 animales por grupo) fueron administradas con SAC (300 mg/kg, i.p.) o solución salina 30 minutos antes de una sola inyección sistémica de 3-NPA (30 mg/kg, i.p.) o solución salina. La capacidad reductora mitocondrial fue determinada en fracciones sinaptosomales aisladas 120 minutos después de la administración del 3-NPA. \*P<0.05 diferente del control (100 %). ANOVA seguido de una prueba de Tukey.

## **Discusión.**

De acuerdo con reportes previos (Borlongan et al., 1997a), la administración sistémica de 3-NPA produjo un patrón hipercinético temprano en las ratas caracterizado por la alteración en la marcha y en los movimientos. La toxina además produjo un incremento en los niveles de LP y disminuyó la capacidad de la mitocondria de reducir el MTT en el núcleo caudado de los animales, sugiriendo estrés oxidativo temprano y además un compromiso metabólico producido por la disfunción mitocondrial. De particular interés, y en contraste con observaciones previas por otros grupos (Binienda et al., 1998), la administración única de 3-NPA resultó en una reducción significativa en la actividad de ambas isoformas de la SOD en el núcleo caudado justamente después de los 120 minutos de la infusión de la toxina. Considerando que Binienda y colaboradores describieron que no hubo efectos de la toxina sobre la actividad de la SOD en el núcleo caudado de las ratas tratadas en las mismas dosis probadas en este estudio (una sola infusión de 30 mg/kg) y después del mismo tiempo de exposición (120 minutos), nosotros asumimos que las diferencias entre los resultados de ambos grupos podría deberse a la vía de administración empleada, ya que mientras ellos utilizaron una administración del 3-NPA subcutánea, nosotros inyectamos la toxina por vía intraperitoneal. Por lo tanto, nosotros sugerimos que la administración i.p. de la toxina, en lugar de una infusión subcutánea, puede resultar en una mayor y más rápida disponibilidad de la misma en el cerebro, produciendo así alteraciones bioquímicas de manera más temprana. Además, la disminución específica en la actividad de la SOD-Mn sugiere alteraciones tempranas en el metabolismo mitocondrial en el estriado de las ratas lesionadas.

Referente a los efectos que produjo la SAC, los resultados de esta investigación muestran claramente que este compuesto es capaz de prevenir las alteraciones tempranas sobre la actividad de la SOD y la capacidad reductora de la mitocondria producidas por el 3-NPA en el núcleo caudado de las ratas. La SAC además reduce los marcadores cualitativos del comportamiento hiperkinético temprano producido por dicha toxina, sugiriendo así que la excitotoxicidad primaria y los eventos oxidativos evocados por el 3-NPA durante las primeras etapas de toxicidad están fuertemente relacionadas. En este punto, nosotros asumimos que las acciones preventivas ejercidas por la SAC en este modelo puede ser atribuidas a su capacidad de preservar el estado redox de las células a través de sus propiedades antioxidantes, las cuales fueron evidenciadas en este estudio por su acción preventiva sobre la LP, y las cuales han sido evaluadas bajo diversas condiciones experimentales (Moriguchi et al., 1997; Kim et al., 2001; Numagami y Ohnishi, 2001; Nishiyama et al., 2001; Ito et al., 2003; Pérez-Severiano et al., 2004a,b). Además, nuestros resultados confirman las propiedades protectoras de la SAC específicamente contra la toxicidad del 3-NPA, a partir de que nosotros recientemente reportamos la capacidad de este antioxidante de prevenir la LP y la disfunción mitocondrial inducidos por el 3-NPA en sinaptosomas de cerebro de rata (Pérez-De La Cruz et al., 2006). En apoyo a estos resultados, ha sido demostrado que otros antioxidantes son efectivos para proteger el cerebro contra la neurotoxicidad inducida por el 3-NPA bajo diferentes condiciones experimentales y en diferentes preparaciones biológicas. Entre ellos, podemos mencionar algunos reportes recientes describiendo efectos protectores de la taurina y las vitaminas C y E (Rodríguez-Martínez et al., 2004), componentes del ginseng (Kim et al., 2005; Lian et al., 2005), el antioxidante azulénil nitrona (Yang et al., 2005), la melatonina (Túnez et al., 2004) y el estímulo antioxidante inducido por Nrf2 (Shih et al., 2005). Una pregunta

inmediata surge cuando se consideran todas estas evidencias juntas: como protegen los antioxidantes al cerebro contra el estímulo neurotóxico temprano inducido por el 3-NPA? Basados en resultados de otros grupos y en nuestro propios datos, nosotros sugerimos que la preservación de la actividad de la SOD se da a través de la prevención primaria del estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial, el daño energético y los eventos excitotóxicos resultantes dentro de una preservación óptima de la función neuronal, lo cual puede favorecer la futura supervivencia celular. No obstante, esta sugerencia requiere de soporte experimental a través de estudios adicionales utilizando SAC contra 3-NPA bajo otras condiciones in vivo, tales como diferentes tiempos de exposición a la toxina. Si la SAC puede además prevenir los efectos reportados del 3-NPA sobre los receptores de glutamato por vesículas sinápticas (Tavares et al., 2001), es una tarea que debe ser explorada en futuras investigaciones. Además, la toxicidad potencial de SAC debe ser estudiada en detalle desde que altas dosis de SAC empleadas en nuestros procedimientos de corto plazo no permiten la caracterización de posibles efectos adversos de estos componentes del ajo. Entre tanto, podemos concluir que la SAC representa una herramienta experimental interesante con prometedoras propiedades antioxidantes y neuroprotectoras cuando se prueba contra eventos excitotóxicos y oxidativos en el cerebro, como se aprecia por los resultados de este y otros trabajos.

## Bibliografia

- Alexi, T., Hughes, P.E., Faull, R.L., Williams, C.E., 1998. 3-Nitropropionic acid's lethal triplet: cooperative pathways of neurodegeneration. *Neuroreport* 9, R57-R64.
- Beal, M.F., Brouillet, E., Jenkins, B.G., Ferrante, R.J., Kowall, N.W., Miller, J.M., Storey, E., Srivastava, R., Rosen, B.R., Hyman, B.T., 1993. Neurochemical and histologic characterization of striatal excitotoxic lesions produced by the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid. *J. Neurosci.* 13, 4181-4192.
- Borlongan, C.V., Koutouzis, T.K., Freeman, T.B., Hauser, R.A., Cahill, D.W., Sanberg, P.R., 1997a. Hyperactivity and hypoactivity in a rat model of Huntington's disease: the systemic 3-nitropropionic acid model. *Brain Res. Brain Res. Protoc.* 1, 253-257.
- Borlongan, C.V., Koutouzis, T.K., Sanberg, P.R., 1997b. 3-Nitropropionic acid animal model and Huntington's disease. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 21, 289-293.
- Borlongan, C.V., Nishino, H., Sanberg, P.R., 1997c. Systemic, but not intraparenchymal, administration of 3-nitropropionic acid mimics the neuropathology of Huntington's disease: a speculative explanation. *Neurosci. Res.* 28, 185-189.
- Fontaine, M.A., Geddes, J.W., Banks, A., Butterfield, D.A., 2000. Effect of exogenous and endogenous antioxidants on 3-nitropropionic acid-induced oxidative stress and striatal lesions: insights into Huntington's disease. *J. Neurochem.* 75, 1709-1715.
- Fu, Y., He, F., Zhang, S., Huang, J., Zhang, J., Jiao, X., 1995a. 3-nitropropionic acid produces indirect excitotoxic damage to rat striatum. *Neurotoxicol. Teratol.* 17, 333-339.
- Fu, Y.T., He, F.S., Zhang, S.L., Zhang, J.S., 1995b. Lipid peroxidation in rats intoxicated with 3-nitropropionic acid. *Toxicol* 33, 327-331.
- Greene, J.G., Sheu, S.S., Gross, R.A., Greenamyre, J.T., 1998. 3-Nitropropionic acid exacerbates N-methyl-D-aspartate toxicity in striatal culture by multiple mechanisms. *Neuroscience* 84, 503-510.
- Ito, Y., Ito, M., Takagi, N., Saito, H., Ishige, K., 2003. Neurotoxicity induced by amyloid beta-peptide and ibotenic acid in organotypic hippocampal cultures: protection by S-allyl-L-cysteine, a garlic compound. *Brain Res.* 985, 98-107.
- Ludolph, A.C., He, F., Spencer, P.S., Hammerstad, J., Sabri, M., 1991. 3-Nitropropionic acid-exogenous animal neurotoxin and possible human striatal toxin. *Can. J. Neurol. Sci.* 18, 492-498.

- Nishiyama, N., Moriguchi, T., Morihara, N., Saito, H., 2001. Ameliorative effect of S-allylcysteine, a major thioallyl constituent in aged garlic extract, on learning deficits in senescence-accelerated mice. *J. Nutr.* 131, 1093S-1095S.
- Numagami, Y., Ohnishi, S.T., 2001. S-Allylcysteine inhibits free radical production, lipid peroxidation and neuronal damage in rat brain ischemia. *J. Nutr.* 131, 1100S-1105S.
- Pérez-De La Cruz, V., González-Cortés, C., Pedraza-Chaverrí, J., Maldonado, P.D., Andrés-Martínez L., Santamaría, A., 2006. Protective effect of S-allylcysteine on 3-nitropropionic acid-induced lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction in rat brain synaptosomes. *Brain Res. Bull.* 68, 379-383.
- Pérez-Severiano, F., Salvatierra-Sánchez, R., Rodríguez-Pérez, M., Cuevas-Martínez, E.Y., Guevara, J., Limón, D., Maldonado, P.D., Medina-Campos, O.N., Pedraza-Chaverrí, J., Santamaría, A., 2004a. S-Allylcysteine prevents amyloid- $\beta$  peptide-induced oxidative stress in rat hippocampus and ameliorates learning deficits. *Eur. J. Pharmacol.* 489, 197-202.
- Pérez-Severiano, F., Rodríguez-Pérez, M., Pedraza-Chaverrí, J., Maldonado, P.D., Medina-Campos, O.N., Ortiz-Plata, A., Sánchez-García, A., Villeda-Hernández, J., Galván-Arzate, S., Aguilera, P., Santamaría, A., 2004b. S-Allylcysteine, a garlic-derived antioxidant, ameliorates quinolinic acid-induced neurotoxicity and oxidative damage in rats. *Neurochem. Int.* 45, 1175-1183.
- Túnez, I., Montilla, P., Del Carmen-Muñoz, M., Feijóo, M., Salcedo, M., 2004. Protective effect of melatonin on 3-nitropropionic acid-induced oxidative stress in synaptosomes in an animal model of Huntington's disease. *J. Pineal Res.* 37, 252-256.
- Yang, L., Calingasan, N.Y., Chen, J., Ley, J.J., Becker, D.A., Beal, M.F., 2005. A novel azulenyl nitron antioxidant protects against MPTP and 3-nitropropionic acid neurotoxicities. *Exp. Neurol.* 191, 86-93.