

UDZIAŁ α -SYNUKLEINY W FUNKCJI UKŁADU DOPAMINERGICZNEGO*

THE INFLUENCE OF α -SYNUCLEIN ON DOPAMINERGIC SYSTEM FUNCTION

Anna KAŻMIERCZAK, Agata ADAMCZYK, Joanna Benigna
STROSZNAJDER

Zakład Komórkowej Transdukcji Sygnału,
Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN

Streszczenie: α -Synukleina (ASN) jest białkiem bogato reprezentowanym w ośrodkowym układzie nerwowym, szczególnie w części presynaptycznej zakończeń nerwowych. Wśród wielu funkcji przypisuje jej się istotne znaczenie w regulacji funkcji układu dopaminergicznego. W warunkach fizjologicznych ASN, w formie rozpuszczalnej, utrzymuje homeostazę dopaminy (DA) w ośrodkowym układzie nerwowym. ASN reguluje biosyntezę i poziom DA poprzez wpływ na aktywność hydroksylazy tyrozynowej, magazynowanie i uwalnianie DA z pęcherzyków synaptycznych. Ponadto ASN wpływa również na wychwyt zwrotny DA za pośrednictwem transportera (DAT). Utrzymanie odpowiedniego stężenia DA w zakończeniach synaptycznych przez wymienione mechanizmy, zabezpiecza przed jej niekontrolowaną przemianą prowadzącą do powstania wolnych rodników. W chorobie Parkinsona obniża się poziom cytozolowej rozpuszczalnej ASN w wyniku jej agregacji i gromadzenia się w postaci ciał Lewy'ego. ASN w formie zagregowanej traci swoje funkcje fizjologiczne i kontrolę nad wewnątrzkomórkowym stężeniem DA. Nadmierne nagromadzenie tego neurotransmitera w cytozolu sprzyja wytwarzaniu wolnych rodników, które uszkadzają białka, lipidy i DNA, co w konsekwencji prowadzi do neurodegeneracji komórek.

Słowa kluczowe: alfa-synukleina, dopamina, choroba Parkinsona, neurodegeneracja.

Summary: α -Synuclein (ASN) is richly abundant in the central nervous system, particularly in pre-synaptic terminals. Among many functions, ASN plays a crucial role in regulation of dopaminergic system. In physiological conditions, soluble ASN is involved in maintenance of dopamine (DA) homeostasis in the central nervous system. This protein regulates DA level and biosynthesis by inhibition of the tyrosine hydroxylase. It also influences DA storage and release from synaptic vesicles as well as DA uptake by its transporter (DAT). These mechanisms play a role in the maintenance of proper DA concentration at nerve terminals, which protects against its uncontrolled conversion and formation of highly reactive oxidative radicals. In PD the level of cytoplasmic ASN is decreased due to its aggregation and accumulation in the form of Lewy bodies. Aggregated ASN loses its physiological functions and the ability to control the intracellular DA concentration. Excessive accumulation of this neurotransmitter in cytoplasm favours the production of toxic free radicals that may damage proteins, lipids and DNA, which, in consequence, leads to neurodegeneration.

*Praca powstała w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Informatyzacji nr 2 PO5A 4129.

Key words: α -Synuclein, dopamine, Parkinson's disease, neurodegeneration.

WSTĘP

α -Synukleina (ASN) jest niskocząsteczkowym (140-aminokwasowym) cytozolowym białkiem występującym w ośrodkowym układzie nerwowym, głównie w zakończeniach presynaptycznych neuronów kory mózgowej, hipokampa, zwoju zębatego, opuszki węchowej, wzgórza i mózdzka [1] oraz w zakończeniach neuronów dopaminergicznych w prążkowie [2]. Wykazano, że białko to jest jednym z głównych składników cytoplazmatycznych wtrętów zwanych ciałami Lewy'ego, będących markerami choroby Parkinsona (ChP) [3]. Jednakże wiele badań wskazuje, że zaburzenie prawidłowej struktury białka ASN ma istotne znaczenie nie tylko w patogenezie ChP, ale również w chorobie Alzheimera z ciałami Lewy'ego, atrofii wielosystemowej, chorobie otępiennej z ciałkami Lewy'ego (LBD) [4] oraz innych chorobach neurodegeneracyjnych zbiorczo nazwanych synukleinopatiami. Odkrycie zależności pomiędzy występowaniem dziedzicznej postaci ChP a mutacjami A30P i A30T w genie kodującym ASN [5], których nie stwierdzono w przypadku idiopatycznej ChP [6], zainicjowało liczne badania nad znaczeniem tego białka w patogenezie ChP. Do chwili obecnej jednakże dokładny mechanizm toksycznego działania ASN nie jest w pełni wyjaśniony.

Właściwości ASN są zależne od konformacji, jaką przyjmuje oraz od stopnia jej agregacji. Pierwszym etapem prowadzącym do neurotoksyczności ASN jest przyjmowanie przez nią struktury β -harmonijki, i powstawanie rozpuszczalnych oligomerów, które uważane są obecnie za bardzo szkodliwe [7]. Oligomery te wykazują tendencję do dalszej agregacji i tworzenia nierozpuszczalnych złogów odkładanych w postaci ciał Lewy'ego, co, według pewnych koncepcji, może być formą neuroprotekcji [8]. Wiele czynników, takich jak: nadekspresja, specyficzne mutacje genu ASN, neurotoksyny oraz stres oksydacyjny, indukuje lub wzmacnia agregację ASN zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* [9–14]. Z jednej strony agregacja tego białka może zmniejszyć jego biodostępność, a przez to może zaburzać jego funkcje fizjologiczne, z drugiej zaś agregaty ASN mogą wywierać działanie toksyczne na neurony.

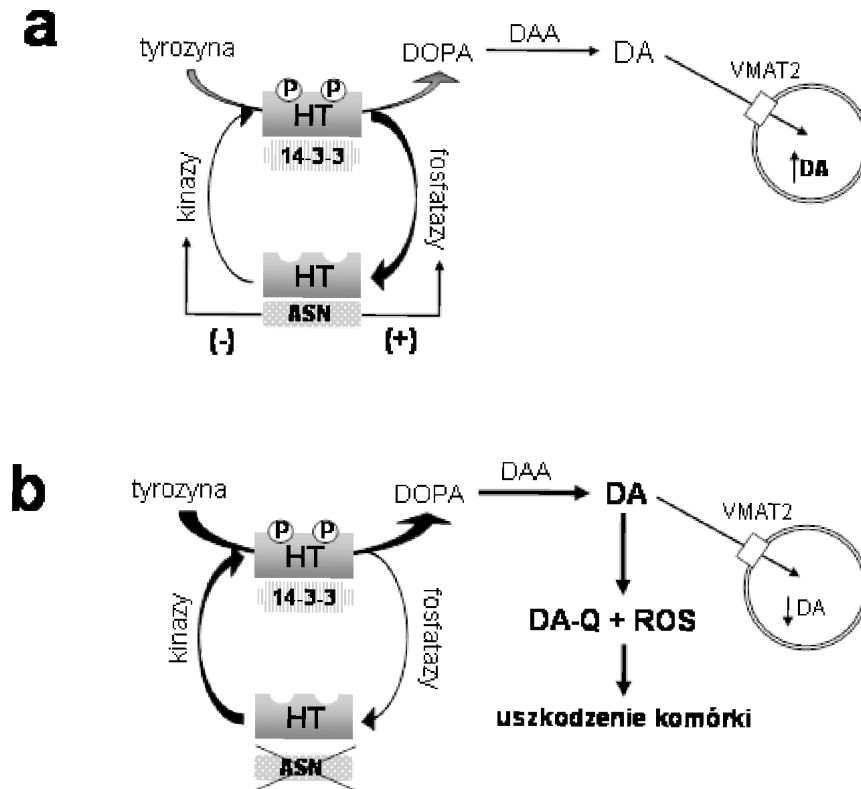
Informacje dotyczące ogólnej charakterystyki, występowania oraz podstawowych funkcji ASN w fizjologii i patologii ośrodkowego układu nerwowego zostały przedstawione przez nas na łamach tego czasopisma w pracy poglądowej Solecka i wsp. (2005) [15]. Obecnie chcemy omówić udział ASN w regulacji metabolizmu dopaminy w ośrodkowym układzie nerwowym w warunkach fizjologicznych oraz w chorobie Parkinsona. W pracy tej skoncentrowano się na zaprezentowaniu znaczenia ASN w ChP, co nie oznacza, że jest ona jedynym czynnikiem odpowiedzialnym za patomechanizm tej choroby. Należy wziąć jednak pod uwagę fakt, że według niektórych badaczy ChP nie jest rozpatrywana jako zaburzenie ograniczone wyłącznie do nigrostriatalnego układu dopaminergicznego, ale jako choroba wielosystemowa [16]. Ciała Lewy'ego występują także poza układem dopaminergicznym, w neuronach noradrenergicznych jądra miejsca sinawego, w układzie serotonergicznym, w jądrach szwu oraz w jądrach cholinergicznym podstawy Meynerta [16, 17].

Nadal pozostaje jednak zagadką, dlaczego w ChP dochodzi do selektywnej degeneracji neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej i jaki jest udział ASN w tym procesie. Charakterystyczną cechą neuronów dopaminergicznych jest synteza i uwalnianie dopaminy (DA). Neuroprzekaźnik ten powstaje z aminokwasu tyrozyny w drodze enzymatycznej, w reakcjach katalizowanych przez hydroksylazę tyrozynową (HT) oraz dekarboksylazę aromatycznych aminokwasów (DAA). Synteza DA ma miejsce w cytozolu. Stąd DA jest natychmiast przenoszona do pęcherzyków synaptycznych przy udziale jednej z izoform pęcherzykowego transportera monoamin, VMAT 2 (ang. *Vesicular Monoamine Transporter*). Transporter VMAT 2 umożliwia wnikanie neuroprzekaźnika do pęcherzyków synaptycznych wykorzystując gradient pH, powstały w wyniku działania swoistej ATP-azy pompującej protony do wnętrza pęcherzyka, kosztem energii uzyskiwanej z ATP. Wewnątrz tych synaptycznych magazynów utrzymywane jest środowisko o niskim pH, które zapobiega rozkładowi DA. Z pęcherzyków synaptycznych dopamina uwalniana jest w drodze egzocytozy do przestrzeni synaptycznej, gdzie wiąże się ze swoimi receptorami. Stamtąd jest przenoszona z powrotem do wnętrza komórki w wyniku działania transportera dopaminy, a następnie do pęcherzyków synaptycznych w części presynaptycznej zakończeń nerwowych. Rozkład dopaminy może zachodzić albo w szczelinie synaptycznej, albo wewnątrz neuronów. Enzymami odpowiedzialnymi za jej katabolizm są monoamino-oksydazy A i B (MAO A i MAO B) oraz katecholo-O-metylotransferaza (COMT). Monoamino-oksydazy przekształcają DA do nietoksycznego kwasu 3,4-dihydroksy-fenylooctowego (DOPAC) i nadtlenu wodoru (H_2O_2) [18], który może być przekształcony w toksyczne rodniki hydroksylowe w reakcji katalizowanej przez jony metali przejściowych (szczególnie żelaza), połączone z neuromelaniną występującą w istocie czarnej [19]. W obecności tlenu cząsteczkowego w warunkach fizjologicznego pH, DA może także ulegać spontanicznej autooksydacji do toksycznych semichinonów i chinonów, rodników ponadtlennokowych i H_2O_2 [20]. Toksyczne metabolity DA mogą hamować kompleks I łańcucha oddechowego w mitochondriach oraz enzymy niezbędne do syntezy ATP. Co więcej, anion ponadtlennokowy ulega przekształceniu do nadtlenu wodoru, w wyniku działania dysmutazy ponadtlennokowej, albo w obecności tlenu azotu, do bardzo reaktywnego nadtlenuazotynu. Każdy więc czynnik, który oddziałuje na syntezę, magazynowanie, uwalnianie i wychwytywanie dopaminy, moduluje jej wewnątrzkomórkowe stężenie i może w odpowiednich warunkach wywołać stres oksydacyjny w neuronach dopaminergicznych. Wiele badań wskazuje, że α -synukleina jest jednym z ważnych czynników wpływających na homeostazę dopaminy. Wobec powyższego zmiany stężenia i agregacja ASN mogą doprowadzić do zmiany, a nawet utraty funkcji neuronów dopaminergicznych.

WPLYW α -SYNUKLEINY NA BIOSYNTEZĘ DOPAMINY

Dopamina syntetyzowana jest przez wybrane grupy neuronów ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego, które u ssaków znajdują się w istocie czarnej i polu

brzuszym nakrywki. W syntezie dopaminy kluczowym enzymem jest hydroksylaza tyrozynowa (HT), która reguluje szybkość przemiany tyrozyny do L-DOPA, przekształcanej następnie do dopaminy przez dekarboksylazę aminokwasów aromatycznych (ryc. 1). Zarówno u myszy transgenicznych, jak i w komórkach transfekowanych genem ASN, stwierdzono znaczne obniżenie aktywności HT oraz wewnątrzkomórkowego



RYCINA 1. Udział ASN w regulacji aktywności hydroksylazy tyrozynowej w fizjologii (A) i procesie neurodegeneracji (B). (A) Dopamina powstaje z aminokwasu tyrozyny w drodze wielostopniowego procesu. Początkowo tyrozyna przekształcana jest przez ufosforylowaną hydroksylazę tyrozynową (HT) do 3,4-dihydroksyfenyloalaniny (DOPA), z której potem w wyniku działania dekarboksylazy aromatycznych aminokwasów (DAA) powstaje dopamina (DA). Białko opiekuńcze 14-3-3 wiąże się z ufosforylowaną formą HT, natomiast α -synukleina (ASN) z formą nieufosforylowaną. Cząsteczki te wykazują antagonistyczne działanie w regulacji aktywności HT, co prowadzi do utrzymania optymalnego stężenia dopaminy w komórce. Z cytozolu DA jest natychmiast przenoszona do pęcherzyków synaptycznych za pomocą pęcherzykowego transportera amin katecholowych, VMAT 2 (ang. *Vesicular Monoamine Transporter*). ASN hamuje aktywność HT bezpośrednio, poprzez wiązanie się z cząsteczką enzymu, albo pośrednio, poprzez aktywację (+) fosfataz lub inhibicję (-) kinaz. (B) Spadek stężenia rozpuszczalnej formy ASN, między innymi w wyniku jej agregacji, prowadzi do nadmiernej aktywności HT. Skutkuje to zwiększeniem stężenia DA w cytoplazmie i jej metabolizmu do związków toksycznych, takich jak wolne rodniki (ROS) oraz semichinony i chinony (DA-Q), które doprowadzają do uszkodzenia komórki

stężenia DA [21]. Sugeruje to, że w warunkach fizjologicznych ASN hamuje aktywność HT. Tezę tę potwierdzono w badaniach *in vitro*, które wykazały, że aktywność hydroksylazy tyrozynowej z nadnerczy szczura hamowana jest przez rekombinowaną ludzką α -synukleinę [21].

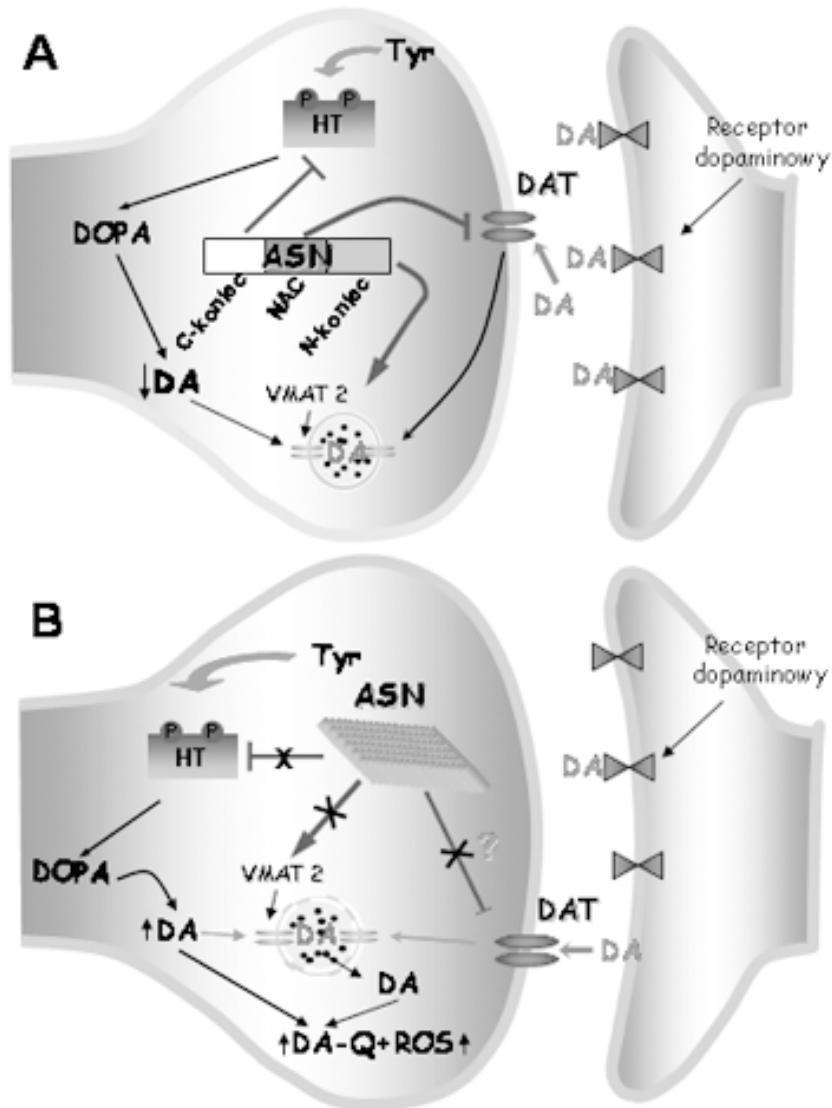
ASN może wpływać na HT bezpośrednio, poprzez interakcję białko-białko lub pośrednio, wskutek aktywacji specyficznych fosfataz lub hamowanie kinaz regulujących aktywność HT (ryc. 1). Hydroksylaza tyrozynowa jest aktywna wyłącznie w formie ufosforylowanej, a procesy defosforylacji i fosforylacji tego enzymu są pierwszym etapem w kaskadzie regulacji biosyntezy DA [22]. Od niedawna sugeruje się, że w regulacji aktywności HT może odgrywać rolę oddziaływanie pomiędzy ASN a białkiem 14-3-3 [23]. Obecnie wiadomo, że ASN wykazuje znaczącą homologię w budowie cząsteczki z białkami 14-3-3 oraz podobnie jak one pełni funkcję białka opiekuńczego.

Opiekuńcze białko 14-3-3 wiąże się z ufosforylowaną formą hydroksylazy tyrozynowej, aby zapewnić jej maksymalną fosforylację [20]. Białko 14-3-3 zapobiega również defosforylacji HT i zwiększa okres półtrwania zaktywowanego enzymu w neuronach [24]. α -Synukleina działa odwrotnie. Wiąże się ona z nieufosforylowaną formą HT i utrzymuje enzym w formie nieaktywnej, co powoduje znaczne obniżenie syntezy DA [20].

Badania te wykazują przeciwstawne działanie białka 14-3-3 i ASN w regulacji procesów fosforylacji i aktywności hydroksylazy tyrozynowej. Stwierdzono, że białko 14-3-3 zwiększa aktywność kinazy ERK, należącej do rodziny kinaz MAP [25] oraz kinazy białkowej C [26]. W przeciwieństwie do 14-3-3, ASN hamuje aktywność ERK, poprzez bezpośrednie wiązanie z MAP kinazą [27, 28]. Zjawisko to obserwowane jest również w przypadku zmutowanej A53T α -synukleiny [28]. Podobne działanie ASN zaobserwowano również w przypadku kinazy zależnej od wapnia i kalmoduliny [29] oraz kinazy białkowej C [30], co w rezultacie powoduje zahamowanie aktywności HT.

Najnowsze dane wykazały, że transfekcja komórek dopaminergicznych natywnym genem ASN wpływa na zahamowanie ekspresji genów białek odpowiedzialnych za syntezę dopaminy [31]. Należą do nich cyklohydrolaza GTP, HT i dekarboksylaza aminokwasów aromatycznych. W komórkach transfekowanych α -synukleinę zaobserwowano również obniżenie ekspresji czynnika transkrypcyjnego Nurr1, który inicjuje transkrypcję HT [24]. Wynika z tego, że ASN nie tylko hamuje aktywność HT, ale również zmniejsza ekspresję genu dla tego enzymu na poziomie białka [32].

Zmutowane formy (A30P i A53T) ASN również wykazują hamujący efekt na aktywność HT [21]. Odkrycie to zasugerowało, że zaburzenie tej regulacyjnej funkcji ASN może nie odgrywać istotnej roli w patogenezie ChP [33]. Oligomeryzacja i agregacja ASN może zredukować biodostępność rozpuszczalnej puli tego białka, co powoduje zwiększenie aktywności hydroksylazy tyrozynowej przez białka 14-3-3 [34]. Zachwianie równowagi pomiędzy działaniem ASN a białkami 14-3-3 jest bardzo niebezpieczne, ponieważ nadmierna synteza dopaminy doprowadza do powstania stresu oksydacyjnego wywołanego przez chinony i wolne rodniki hydroksylowe (ryc. 2) [33,35].



RYCINA 2. Potencjalna rola α -synukleiny w fizjologii układu dopaminergicznego (A) i w chorobie Parkinsona (B). (A) W warunkach fizjologicznych α -synukleina (ASN), w formie rozpuszczalnej, utrzymuje homeostazę dopaminy (DA) w ośrodkowym układzie nerwowym. ASN obniża biosyntezę DA poprzez hamujący wpływ na aktywność hydroksylazy tyrozynowej (HT). Reguluje również proces uwalniania i transportu DA do pęcherzyków synaptycznych za pośrednictwem pęcherzykowego transportera amin katecholowych, VMAT 2 (ang. *Vesicular Monoamine Transporter*) ASN wpływa również na wychwyt zwrotny DA za pośrednictwem transportera (DAT). Utrzymanie odpowiedniego stężenia DA w zakończeniach synaptycznych przez wymienione mechanizmy, zabezpiecza przed jej niekontrolowaną przemianą prowadzącą do powstania toksycznych semichinonów i chinonów (DA-Q) oraz wolnych rodników (ROS). (B) W chorobie Parkinsona obniża się poziom cytozolowej rozpuszczalnej ASN w wyniku jej agregacji. ASN w formie zagregowanej traci swoje funkcje fizjologiczne i kontrolę nad aktywnością HT, DAT oraz procesem magazynowania i uwalniania DA z pęcherzyków synaptycznych. Powoduje to nadmierne nagromadzenie się tego neurotransmitera w cytozolu oraz jego niekontrolowaną przemianę do toksycznych semichinonów i chinonów (DA-Q) oraz wolnych rodników (ROS), co w konsekwencji prowadzi do neurodegeneracji komórek

WPLYW ASN NA MAGAZYNOWANIE I UWALNIANIE DOPAMINY Z PĘCHERZYKÓW SYNAPTYCZNYCH

Ostatnie dane wskazują, że α -synukleina bierze istotny udział w regulacji metabolizmu dopaminy oraz w procesie jej magazynowania i uwalniania z pęcherzyków synaptycznych. Zahamowanie ekspresji ASN zmniejsza zapasową pulę tego przekaźnika w pęcherzykach synaptycznych neuronów hipokampa i powoduje zaburzenie długotrwałego pobudzenia synaptycznego w tej strukturze [36]. Zwierzęta z wyłączonym genem kodującym ASN wykazywały istotne zaburzenia w przekaźnictwie dopaminergicznym [35]. U zwierząt tych zauważono również zmniejszoną ekspresję synapsyny, białka istotnego w procesie przemian pęcherzyków synaptycznych. Stwierdzono, że zastąpienie opróżnionych pęcherzyków synaptycznych nowymi, z puli zapasowej, zachodzi znacznie wolniej w synapsach mutantów w porównaniu z normalnymi zwierzętami [36, 37].

Badania *in vitro* wykazały, że ASN ma zdolność do bezpośredniego wiązania się zarówno z syntetycznymi fosfolipidami, jak i z naturalnymi lipidami błony neuronów. Interakcja ta zachodzi poprzez N-końcową domenę tego białka, prowadząc do stabilizacji jego struktury drugorzędowej [38]. ASN wchodzi w interakcję z polarną powierzchnią pęcherzyków, ale również, za pośrednictwem swojej centralnej domeny NAC, tworzy hydrofobowe wiązania z apolarnym wnętrzem micelli. Ponadto ASN oddziałuje na pęcherzyki synaptyczne, w tym dopaminergiczne, poprzez regulację aktywności fosfolipazy D_2 (PLD_2), która pełni istotną rolę w przemianach metabolicznych pęcherzyków synaptycznych [32,37]. Fosfolipaza D_2 jest enzymem transbłonowym, znajdującym się głównie w błonie komórkowej oraz w błonach endosomów. Katalizuje ona hydrolizę fosfolipidów do kwasu fosfatydowego i zasady w odpowiedzi na sygnały zewnątrzkomórkowe. Kwas fosfatydowy powstały w wyniku działania PLD_2 inicjuje tworzenie pęcherzyków synaptycznych z błon plazmatycznych [39]. Aktywność fosfolipazy D_2 może być również istotna w regulacji przemian metabolicznych pęcherzyków synaptycznych, w odpowiedzi na sygnały zewnątrzkomórkowe [33,37]. ASN wiąże się poprzez swoją N-końcową domenę z PLD_2 , obniżając jej aktywność [40], przez co może hamować tworzenie pęcherzyków synaptycznych w okresie niskiej aktywności neuronów. Ta funkcja ASN jest ściśle regulowana przez liczne wewnątrzkomórkowe kinazy białkowe, które fosforylują jej cząsteczkę w różnych miejscach [41–44]. Fosforylacja ASN obniża jej zdolność do hamowania aktywności PLD_2 i znosi jej powinowactwo do fosfolipidów [37, 41]. Dzięki temu, że ufosforylowana ASN traci zdolność inhibicji PLD_2 , może stymulować przemiany metaboliczne pęcherzyków synaptycznych w okresie wysokiej aktywności neuronalnej. Uważa się, że ASN należy do grupy białek wiążących kwasy tłuszczowe, tzw. FABP (ang. *Fatty Acid Binding Protein*), i również przez to wpływa na przemiany metaboliczne pęcherzyków synaptycznych [45]. Amfipatyczny N-końcowy region ASN jest homologiczny z apolipoproteina A2, która uczestniczy w transporcie lipidów [10]. Dzięki tym właściwościom ASN może transportować kwasy tłuszczowe do obszarów tworzenia pęcherzyków synaptycznych (np. do wczesnych endosomów). ASN jako „białko opiekuńcze lipidów”, może regulować metabolizm wielonienasyconych kwasów

tłuszczowych w procesie endocytozy [46]. Nasze ostatnie badania wykazały, że ASN hamuje proces wbudowywania kwasu arachidonowego (KA) do fosfolipidów błon zakończeń synaptycznych [47]. Poprzez hamujący wpływ na kluczowy enzym odpowiedzialny za proces wbudowywania KA do lipidów może w istotny sposób wpływać na poziom wolnych nienasyconych kwasów tłuszczowych. Poza tym sugeruje się udział ASN w aksonalnym transporcie pęcherzyków synaptycznych [11] poprzez interakcję z białkami cytoszkieletu komórki [48–53].

Istotną rolę w funkcji układu dopaminergicznego oraz innych układach neuroprzekaznikowych odgrywają jony wapnia. Badania Adamczyk i Strosznajder (2006) wykazały, że ASN zwiększa napływ jonów Ca^{2+} poprzez kanały wapniowe zależne od potencjału do synaptoneurosomów izolowanych z kory mózgowej i hipokampa szczura [54]. Jony wapnia odgrywają istotną rolę w procesie regulacji uwalniania dopaminy do przestrzeni synaptycznej za pośrednictwem α -synukleiny [55]. Martinez i wsp. (2003) udowodnili, że ASN zarówno w formie prawidłowej, jak i zmutowanej wiąże się z kalmoduliną w sposób zależny od jonów Ca^{2+} [56]. Sugeruje to, że interakcja pomiędzy α -synukleina a kalmoduliną może regulować ilość ASN związanej z błonami komórkowymi. Poza tym zaktywowana kalmodulina przyspiesza oligomeryzację α -synukleiny [29, 56].

W związku z tym, że pęcherzyki synaptyczne są ważnym miejscem magazynowania dopaminy, regulacja ich ilości przez ASN wpływa na nagromadzoną i uwalnianą pulę tego neuroprzekaznika. Spadek stężenia natywnej ASN powoduje istotne zaburzenia w przemianach metabolicznych pęcherzyków i w uwalnianiu DA do przestrzeni synaptycznej. Mutacje ASN mogą zmieniać jej konformację i zaburzać proces fosforylacji przez kinazy w odpowiedzi na stymulację neuronalną. To z kolei powoduje zahamowanie aktywności PLD_2 i tworzenie pęcherzyków synaptycznych oraz zwiększenie stężenia DA w cytozolu. Udowodniono, że związane z dziedziczną chorobą Parkinsona mutacje punktowe (typ A30P) znoszą zdolność ASN do wiązania się z lipidami pęcherzykowymi [57]. Z kolei nadekspresja A53T ASN powoduje zmniejszenie ilości pęcherzykowego transportera dopaminy, VMAT2, na powierzchni pęcherzyków synaptycznych i prowadzi do zwiększenia wewnątrzkomórkowego stężenia dopaminy i wolnych rodników [33]. Powstające w procesach patologicznych oligomery ASN wykazują zwiększone powinowactwo do fosfolipidów pęcherzykowych w porównaniu z monomerami. W wyniku interakcji z powierzchnią pęcherzyków synaptycznych oligomery te przyjmują konformację β kartki. Powoduje to powstawanie porów w błonie pęcherzyków, przez które wycieka do cytoplazmy dopamina i wiele innych małych cząsteczek. Również mutacje A53T i A30P ASN zwiększają jej zdolność do uprzepuszczalniania błony pęcherzykowej, co powoduje wzrost stężenia DA i produkcję wolnych rodników w cytoplazmie [58].

WPLYW α -SYNUKLEINY NA AKTYWNOŚĆ TRANSPORTERA DOPAMINY I JEJ WYCHWYT ZWROTNY

Dopamina, po aktywacji specyficznych receptorów na błonie postsynaptycznej i przekazaniu sygnału, jest wychwytywana z przestrzeni synaptycznej do cytozolu części

presynaptycznej zakończeń nerwowych przez białko transportujące DAT (ang. *Dopamine Transporter*). Uważa się, że jest to kluczowe białko regulujące przekazywanie dopaminergiczne. Białko to razem z innymi przekaźnikami amin katecholowych, takich jak: noradrenalina i serotonina, należy do dużej rodziny transporterów zależnych od jonów Na^+ i Cl^- . Do grupy tej należą również transportery kwasu γ -aminomasłowego (GABA) i glicyny [59]. Głównym zadaniem transportera jest regulacja neurotransmisji i homeostazy dopaminy poprzez utrzymanie właściwego poziomu tego neuroprzekaźnika w przestrzeni synaptycznej [60]. Ponadto DAT, poza dopaminą, transportuje do komórki liczne neurotoksyny, w tym (MPP⁺) [61], który wytwarzany jest podczas metabolizmu MPTP (1,2,3,6-metylo-fenilo-tetrahydropirydyna), związku stosowanego do wywołania zwierzęcych modeli choroby Parkinsona. Wychwyt zwrotny neuroprzekaźników za pośrednictwem DAT jest bardzo szybkim procesem, dlatego zmiany w funkcjonowaniu transportera powodują nagły wzrost lub spadek stężenia dopaminy w przestrzeni synaptycznej. Regulacja aktywności DAT wpływa bezpośrednio na poziom wewnątrzkomórkowej dopaminy i indukcję stresu oksydacyjnego [35].

Sugeruje się, że ASN hamuje aktywność DAT w zakończeniach synaptycznych neuronów dopaminergicznych. Wykazano, że ASN powoduje obniżenie szybkości wychwytu zwrotnego, ale nie wpływa na powinowactwo transportera do dopaminy [33].

Wyniki naszych ostatnich badań wykazały, że ASN w stężeniu odpowiadającym warunkom patologicznym istotnie obniża aktywność DAT we frakcji synaptosomalnej prążkowie (w badaniu *in vitro*). Także jej neurotoksyczny fragment NAC zaburza aktywność transportera dopaminy, co wskazuje, że domena NAC może być odpowiedzialna za działanie α -synukleiny. Z uwagi na fakt, że zarówno ASN, jak i NAC aktywują uwalnianie wolnych rodników, zbadano udział reaktywnych form tlenu w modulacji DAT [62]. Wyniki z zastosowaniem antyoksydanta Tempolu (o właściwościach dysmutazy ponadtlenkowej) wykazały, że rodnik ponadtlenkowy (O_2^-) nie bierze udziału w inhibicji transportera wywołanej działaniem ASN. Uzyskane przez nas dane wskazują natomiast, że ASN oraz jej toksyczny fragment NAC, aktywuje syntazę tlenu azotu (NOS) (ang. *Nitric Oxide Synthase*) oraz że w obecności inhibitora tego enzymu ASN nie wywiera wpływu na aktywność DAT [62]. Wskazuje to na istotny udział tlenu azotu (NO) w zaburzeniu funkcji DAT wywołanej działaniem ASN [63]. Z kolei badania Sidhu i wsp. [35] sugerują bezpośrednią interakcję ASN z białkiem transportera. Wykazano, że w wyniku koimmunoprecypitacji, ASN tworzy stabilny kompleks z białkiem DAT [33]. W wyniku takiej interakcji może dochodzić do zmiany konformacji białka i jego dysfunkcji lub translokacji w obrębie zakończeń synaptycznych. Lee i wsp. wykazali, że ASN ma zdolność wiązania się za pośrednictwem peptydu NAC z C-końcowym regionem transportera dopaminy [63]. Interakcja ta może prowadzić do zmniejszenia ilości transportera na powierzchni błony synaptycznej i, w konsekwencji, do zahamowania wychwytu zwrotnego dopaminy [64].

Funkcja DAT ulegała zmianie również w przypadku białka ASN z mutacją A30P, natomiast dla mutacji A53T nie wykazano podobnego efektu [65, 66]. Badania prowadzone przy użyciu mikroskopu konfokalnego wykazały, że obie formy ASN, dzika i zmutowana, wywołują translokację transportera dopaminy w głąb cytoplazmy, co powoduje obniżenie liczby jego cząsteczek na powierzchni błony plazmatycznej i

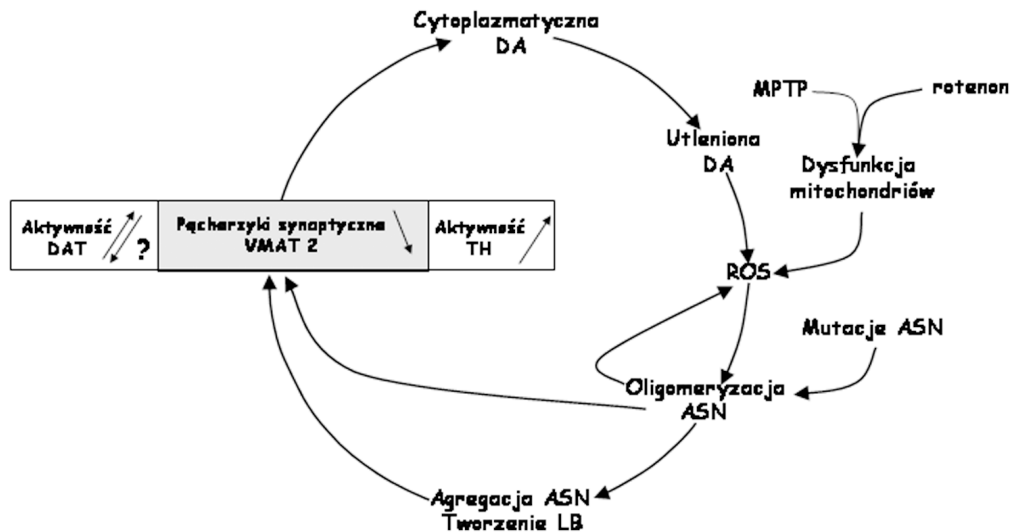
zahamowanie wychwytu zwrotnego dopaminy [66]. Konsekwencje hamującego działania ASN na funkcje transportera DA zależą od stopnia zmian zakończeń synaptycznych i tempa metabolizmu dopaminy w przestrzeni zewnątrzkomórkowej.

Mechanizm modulacji DAT przez ASN pozostaje nadal nie wyjaśniony w pełni i jest przedmiotem dalszych badań w wielu ośrodkach naukowych.

PODSUMOWANIE

α -Synukleina odgrywa znaczącą rolę w regulacji funkcji układu dopaminergicznego. W warunkach fizjologicznych jest ona zaangażowana w niemalże wszystkie procesy związane z metabolizmem dopaminy. Reguluje jej biosyntezę, magazynowanie i uwalnianie z pęcherzyków synaptycznych, jak również wychwyt zwrotny DA za pośrednictwem DAT (ryc. 2). ASN reguluje stężenie DA w zakońzeniach synaptycznych i pośrednio chroni komórki przed uwalnianiem wysoce reaktywnych wolnych rodników tlenowych.

Utrata fizjologicznej funkcji ASN, wzrost jej stężenia, oligomeryzacja i agregacja prowadzi do zaburzenia homeostazy układu dopaminergicznego. Istnieje kilka czynników, które prawdopodobnie powodują zaburzenie funkcji tego białka. Należą do nich m.in. związane z dziedziczną chorobą Parkinsona mutacje punktowe (typ A30P lub A53T) genu dla białka ASN, stres oksydacyjny, toksyny środowiskowe oraz starzenie. W wyniku działania tych czynników dochodzi do modyfikacji cząsteczki ASN oraz jej oligomeryzacji i agregacji. Traci ona wtedy hamujący wpływ na aktywność hydroksylazy tyrozynowej oraz zaburza funkcję transportera dopaminy, co prowadzi do zaburzenia homeostazy DA. Jednocześnie zahamowana zdolność ASN do wiązania się z lipidami pęcherzykowymi oraz wywołane jej agregacją zmniejszenie ilości pęcherzykowego transportera dopaminy, VMAT2, powoduje zwiększenie stężenia DA w cytoplazmie i wytwarzanie toksycznych związków, takich jak: H_2O_2 , rodniki tlenowe, semichinony i chinony. Z kolei wolne rodniki powstałe w wyniku metabolizmu DA sprzyjają dalszej agregacji ASN. Podobnie związki żelaza [18] oraz aminy katecholowe strukturalnie podobne do DA [67], przyspieszają formowanie się toksycznych protofibrili ASN, stabilizują je oraz hamują ich przekształcanie się w nierozpuszczalne włókna [68]. Stres oksydacyjny wywołany wskutek zaburzeń fizjologicznej funkcji ASN i jej przekształcanie się w protofibryle może dodatkowo wzmacniać jej agregację. Mamy więc do czynienia z tworzeniem się błędnego koła, gdzie agregacja ASN, zaburzenia metabolizmu dopaminy i stres oksydacyjny oddziałują ze sobą prowadząc w końcu do degeneracji i obumierania neuronów (ryc. 3). Ponadto ASN uwalnia się z uszkodzonych neuronów do przestrzeni międzykomórkowej i dochodzi do przeniesienia efektu cytotoksycznego na inne komórki [68]. Zewnątrzkomórkowa pula ASN może oddziaływać na transporter dopaminy, zwiększać wewnątrzkomórkowe stężenie DA i uruchamiać złożony mechanizm neurodegeneracji. Wydaje się, że proces ten może mieć ogromne znaczenie w patomechanizmie choroby Parkinsona oraz innych synukleinopatiach.



RYCINA 3. Błędne koło interakcji pomiędzy α -synukleina – ASN a dopamina – DA. Tworzenie oligomerów i agregacja ASN oraz stres oksydacyjny wywołany przez niekontrolowaną przemianę cytoplazmatycznej dopaminy w neuronach może być samopodtrzymującym się cyklicznym procesem, który ostatecznie może powodować degenerację neuronów dopaminergicznych istoty czarnej w chorobie Parkinsona. Wiele dobrze znanych czynników etiologicznych tej choroby może oddziaływać na różne etapy tego cyklu albo bezpośrednio zwiększając stres oksydacyjny (np. rotenon, MPP⁺) lub zmieniając fizjologiczne właściwości ASN, powodując jej agregację (np. mutacje ASN)

PIŚMIENNICTWO

- [1] GEORGE JM. The synucleins. *Genome Biol* 2002; **3**: 3002.1–3002.6
- [2] TOTTERDELL S, MEREDITH GE. Localization of alpha-synuclein to identified fibers and synapses in the normal mouse brain. *Neuroscience* 2005; **135**: 907–913.
- [3] TROJANOWSKI JQ, LEE VM. Aggregation of neurofilament and alpha-synuclein proteins in Lewy bodies: implications for the pathogenesis of Parkinson disease and Lewy body dementia. *Arch Neurol* 1998; **55**: 151–152.
- [4] SPILLANTINI MG, GOEDERT M. The alpha-synucleinopathies: Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and multiple system atrophy. *Ann NY Acad Sci* 2000; **920**:16–27.
- [5] LI J, UVERSKY VN, FINK AL. Effect of familial Parkinson's disease point mutations A30P and A53T on the structural properties, aggregation, and fibrillation of human alpha-synuclein. *Biochemistry* 2001; **40**: 11604–11613.
- [6] GOSAL D, ROSS OA, TOFT M. Parkinson's disease: the genetics of a heterogeneous disorder. *Eur J Neurol* 2006; **13**: 616–627.
- [7] DING TT, LEE SJ, ROCHET JC, LANSBURY PTJ. Annular alpha-synuclein protofibrils are produced when spherical protofibrils are incubated in solution or bound to brain-derived membranes. *Biochem* 2002; **41**: 10209–10217.
- [8] OLANOW CW, PERL DP, DEMARTINO GN, MCNAUGHT KS. Lewy-body formation is an aggresome-related process: a hypothesis. *Lancet Neurol* 2004; **3**: 496–503.
- [9] CLAYTON DF, GEORGE JM. The synucleins: a family of proteins involved in synaptic function, plasticity, neurodegeneration and disease. *Trends Neurosci* 1998; **21**: 249–254.
- [10] LAVEDAN C. The synuclein family. *Genome Res* 1998 Sep; **8**: 871–880.
- [11] LUCKING CB, BRICE A. Alpha-synuclein and Parkinson's disease. *Cell Mol Life Sci* 2000; **57**: 1894–1908.

- [12] KAHLE PJ, NEUMANN M, OZMEN L, HAASS C. Physiology and pathophysiology of alpha-synuclein. Cell culture and transgenic animal models based on a Parkinson's disease-associated protein. *Ann NY Acad Sci* 2000; **920**: 33–41.
- [13] EL-AGNAF OM, IRVINE GB. Review: formation and properties of amyloid-like fibrils derived from alpha-synuclein and related proteins. *J Struct Biol* 2000; **130**: 300–309.
- [14] MOURADIAN MM. Recent advances in the genetics and pathogenesis of Parkinson disease. *Neurology* 2002; **58**: 179–185.
- [15] SOLECKA J, ADAMCZYK A, STROSZNAJDER JB. Alfa-synukleina w fizjologii i patologii mózgu. *Adv Cell Biol* 2005; **32**: 343–357.
- [16] BRAAK H, RUB U, GAI WP, DEL TREDICI K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm* 2003; **110**: 517–536.
- [17] JELLINGER KA. Pathology of Parkinson's disease. Changes other than the nigrostriatal pathway. *Mol Chem Neuropathol* 1991; **14**: 153–197.
- [18] BURKE WJ, LI SW, CHUNG HD, RUGGIERO DA, KRISTAL BS, JOHNSON EM, LAMPE P, KUMAR VB, FRANKO M, WILLIAMS EA, ZAHM DS. Neurotoxicity of MAO metabolites of catecholamine neurotransmitters: role in neurodegenerative diseases. *Neurotoxicology* 2004; **25**: 101–115.
- [19] YODIM MB. What have we learnt from cDNA microarray gene expression studies about the role of iron in MPTP induced neurodegeneration and Parkinson's disease? *J Neural Transm Suppl* 2003; **65**: 73–88.
- [20] MAGUIRE-ZEISS KA, SHORT DW, FEDEROFF HJ. Synuclein, dopamine and oxidative stress: co-conspirators in Parkinson's disease? *Brain Res Mol Brain Res* 2005; **134**: 18–23.
- [21] PEREZ RG, WAYMIRE JC, LIN E, LIU JJ, GUO F, ZIGMOND MJ. A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. *J Neurosci* 2002; **22**: 3090–3099.
- [22] KUMER SC, VRANA KE. Intricate regulation of tyrosine hydroxylase activity and gene expression. *J Neurochem* 1996; **67**: 443–462.
- [23] XU J, KAO SY, LEE FJ, SONG W, JIN LW, YANKNER BA. Dopamine-dependent neurotoxicity of alpha-synuclein: a mechanism for selective neurodegeneration in Parkinson disease. *Nat Med* 2002; **8**: 600–606.
- [24] TOSKA K, KLEPPE R, ARMSTRONG CG, MORRICE NA, COHEN P, HAAVIK J. Regulation of tyrosine hydroxylase by stress-activated protein kinases. *J Neurochem* 2002; **83**: 775–783.
- [25] DHILLON AS, MEIKLE S, PEYSSONNAUX C, GRINDLAY J, KAISER C, STEEN H, SHAW PE, MISCHAK H, EYCHENE A, KOLCH W. A Raf-1 mutant that dissociates MEK/extracellular signal-regulated kinase activation from malignant transformation and differentiation but not proliferation. *Mol Cell Biol* 2003; **23**: 1983–1993.
- [26] DAI JG, MURAKAMI K. Constitutively and autonomously active protein kinase C associated with 14-3-3 zeta in the rodent brain. *J Neurochem* 2003; **84**: 23–34.
- [27] IWATA A, MARUYAMA M, KANAZAWA I, NUKINA N. alpha-Synuclein affects the MAPK pathway and accelerates cell death. *J Biol Chem* 2001; **276**: 45320–45329.
- [28] IWATA A, MIURA S, KANAZAWA I, SAWADA M, NUKINA N. alpha-Synuclein forms a complex with transcription factor Elk-1. *J Neurochem* 2001; **77**: 239–252.
- [29] LEE D, LEE SY, LEE EN, CHANG CS, PAIK SR. alpha-Synuclein exhibits competitive interaction between calmodulin and synthetic membranes. *J Neurochem* 2002; **82**: 1007–1017.
- [30] OKOCHI M, WALTER J, KOYAMA A, NAKAJO S, BABA M, IWATSUBO T, MEIJER L, KAHLE PJ, HAASS C. Constitutive phosphorylation of the Parkinson's disease associated alpha-synuclein. *J Biol Chem* 2000; **275**: 390–397.
- [31] BAPTISTA MJ, O'FARRELL C, DAYA S, AHMAD R, MILLER DW, HARDY J, FARRER MJ, COOKSON MR. Co-ordinate transcriptional regulation of dopamine synthesis genes by alpha-synuclein in human neuroblastoma cell lines. *J Neurochem* 2003; **85**: 957–968.
- [32] YU S, ZUO X, LI Y, ZHANG C, ZHOU M, ZHANG YA, UEDA K, CHAN P. Inhibition of tyrosine hydroxylase expression in alpha-synuclein-transfected dopaminergic neuronal cells. *Neurosci Lett* 2004; **367**: 34–39.
- [33] LOTHARIUS J, BRUNDIN P. Impaired dopamine storage resulting from alpha-synuclein mutations may contribute to the pathogenesis of Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2002; **11**: 2395–407.
- [34] PEREZ RG, HASTINGS TG. Could a loss of alpha-synuclein function put dopaminergic neurons at risk? *J Neurochem* 2004; **89**: 1318–1324.

- [35] SIDHU A, WERSINGER C, VERNIER P. alpha-Synuclein regulation of the dopaminergic transporter: a possible role in the pathogenesis of Parkinson's disease. *FEBS Lett* 2004; **565**: 1–5.
- [36] CABIN DE, SHIMAZU K, MURPHY D, COLE NB, GOTTSCHALK W, MCILWAIN KL, ORRISON B, CHEN A, ELLIS CE, PAYLOR R, LU B, NUSSBAUM RL. Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking alpha-synuclein. *J Neurosci* 2002; **22**: 8797–8807.
- [37] LOTHARIUS J, BARG S, WIEKOP P, LUNDBERG C, RAYMON HK, BRUNDIN P. Effect of mutant alpha-synuclein on dopamine homeostasis in a new human mesencephalic cell line. *J Biol Chem* 2002; **277**: 38884–38894.
- [38] DAVIDSON WS, JONAS A, CLAYTON DF, GEORGE JM. Stabilization of α -synuclein secondary structure upon binding to synthetic membranes. *J Biol Chem* 1998; **273**: 9443–9449.
- [39] LISCOVITCH M, CZARNY M, FIUCCI G, TANG X. Phospholipase D: molecular and cell biology of a novel gene family. *Biochem J* 2000; **345**: 401–415.
- [40] AHN BH, RHIM H, KIM SY, SUNG YM, LEE MY, CHOI JY, WOLOZIN B, CHANG JS, LEE YH, KWON TK, CHUNG KC, YOON SH, HAHN SJ, KIM MS, JO YH, MIN DO S. alpha-Synuclein interacts with phospholipase D isozymes and inhibits pervanadate-induced phospholipase D activation in human embryonic kidney-293 cells. *J Biol Chem* 2002; **277**: 12334–12342.
- [41] YOSHIDA N, HAGA K, HAGA T. Identification of sites of phosphorylation by G-protein-coupled receptor kinase 2 in beta-tubulin. *Eur J Biochem* 2003; **270**: 1154–1163.
- [42] CHEN L, FEANY MB. Alpha-synuclein phosphorylation controls neurotoxicity and inclusion formation in a *Drosophila* model of Parkinson disease. *Nat Neurosci* 2005; **8**: 657–663.
- [43] ELLIS CE, SCHWARTZBERG PL, GRIDER TL, FINK DW, NUSSBAUM RL. alpha-synuclein is phosphorylated by members of the Src family of protein-tyrosine kinases. *J Biol Chem* 2001; **276**: 3879–3884.
- [44] NAKAMURA T, YAMASHITA H, NAGANO Y, TAKAHASHI T, AVRAHAM S, AVRAHAM H, MATSUMOTO M, NAKAMURA S. Activation of Pyk2/RAFTK induces tyrosine phosphorylation of alpha-synuclein via Src-family kinases. *FEBS Lett* 2002; **521**: 190–194.
- [45] SHARON R, GOLDBERG MS, BAR-JOSEF I, BETENSKY RA, SHEN J, SELKOE DJ. alpha-Synuclein occurs in lipid-rich high molecular weight complexes, binds fatty acids, and shows homology to the fatty acid-binding proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 9110–9115.
- [46] GOLOVKO MY, ROSENBERGER TA, FAERGEMAN NJ, FEDDERSEN S, COLE NB, PRIBILL I, BERGER J, NUSSBAUM RL, MURPHY EJ. Acyl-CoA synthetase activity links wild-type but not mutant alpha-synuclein to brain arachidonate metabolism. *Biochemistry* 2006; **45**(22): 6956–6966.
- [47] ADAMCZYK A, CHALIMONIUK M. Alpha-synuclein and non-amyloid beta component of Alzheimer's disease amyloid (NAC) alters arachidonic acid incorporation into rat striatal synaptoneurosomes 11th Meeting of the Czech and Slovak Neurochemical Society "Molecular basis of neurological and psychiatric disorders" Martin, Slovak Republic, (book of abstracts), 2007; 20.
- [48] ALIM MA, HOSSAIN MS, ARIMA K, TAKEDA K, IZUMIYAMA Y, NAKAMURA M, KAJI H, SHINODA T, HISANAGA S, UEDA K. Tubulin seeds alpha-synuclein fibril formation. *J Biol Chem* 2002; **277**: 2112–2117.
- [49] ISHIZAWA T, MATTILA P, DAVIES P, WANG D, DICKSON DW. Colocalization of tau and alpha-synuclein epitopes in Lewy bodies. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003; **62**: 389–397.
- [50] JENSEN PH, ISLAM K, KENNEY J, NIELSEN MS, POWER J, GAI WP. Microtubule-associated protein 1B is a component of cortical Lewy bodies and binds alpha-synuclein filaments. *J Biol Chem* 2000; **275**: 21500–21507.
- [51] D'ANDREA MR, ILYIN S, PLATA-SALAMAN CR. Abnormal patterns of microtubule-associated protein-2 (MAP-2) immunolabeling in neuronal nuclei and Lewy bodies in Parkinson's disease substantia nigra brain tissues. *Neurosci Lett* 2001; **306**: 137–140.
- [52] CHUNG KK, ZHANG Y, LIM KL, TANAKA Y, HUANG H, GAO J, ROSS CA, DAWSON VL, DAWSON TM. Parkin ubiquitinates the alpha-synuclein-interacting protein, synphilin-1: implications for Lewy-body formation in Parkinson disease. *Nat Med*. 2001; **7**: 1144–1150.
- [53] SHARMA N, HEWETT J, OZELIUS LJ, RAMESH V, MCLEAN PJ, BREAKFIELD XO, HYMAN BT. A close association of torsinA and alpha-synuclein in Lewy bodies: a fluorescence resonance energy transfer study. *Am J Pathol* 2001; **159**: 339–344.
- [54] ADAMCZYK A, STROSZNAJDER JB. Alpha-synuclein potentiates Ca²⁺ influx through voltage-dependent Ca²⁺ channels. *Neuroreport* 2006; **17**: 1883–1886.

- [55] ABELIOVICH A, SCHMITZ Y, FARINAS I, CHOI-LUNDBERG D, HO WH, CASTILLO PE, SHINSKY N, VERDUGO JM, ARMANINI M, RYAN A, HYNES M, PHILLIPS H, SULZER D, ROSENTHAL A. Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron* 2000; **25**: 239–252.
- [56] MARTINEZ J, MOELLER I, ERDJUMENT-BROMAGE H, TEMPST P, LAURING B. Parkinson's disease-associated alpha-synuclein is a calmodulin substrate. *J Biol Chem* 2003; **278**: 17379–17387.
- [57] JO E, FULLER N, RAND RP, ST GEORGE-HYSLOP P, FRASER PE. Defective membrane interactions of familial Parkinson's disease mutant A30P alpha-synuclein. *J Mol Biol* 2002; **315**: 799–807
- [58] VOLLES MJ, LANSBURY PT. Jr. Vesicle permeabilization by protofibrillar alpha-synuclein is sensitive to Parkinson's disease-linked mutations and occurs by a pore-like mechanism. *Biochemistry* 2002; **41**: 4595–4602.
- [59] AMARA SG, KUCHAR MJ. Neurotransmitter transporters: recent progress. *Annu. Rev Neurosci* 1993; **16**: 73–93.
- [60] HITRI A, HURD YL, WYATT RJ, DEUTSCH SI. Molecular, functional and biochemical characteristics of the dopamine transporter: regional differences and clinical relevance. *Clin Neuropharmacol* 1994; **17**: 1–22.
- [61] SOTNIKOVA TD, BEAULIEU JM, GAINETDINOV RR, CARON MG. Molecular biology, pharmacology and functional role of the plasma membrane dopamine transporter. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2006; **5**: 45–56.
- [62] ADAMCZYK A, KAZMIERCZAK A, STROSZNAJDER JB. alpha-Synuclein and its neurotoxic fragment inhibit dopamine uptake into rat striatal synaptosomes Relationship to nitric oxide. *Neurochem Int* 2006; **49**: 407–412.
- [63] LEE FJ, LIU F, PRISTUPA ZB, NIZNIK HB. Direct binding and functional coupling of alpha-synuclein to the dopamine transporters accelerate dopamine-induced apoptosis. *FASEB J* 2001; **15**: 916–926.
- [64] WERSINGER C, PROU D, VERNIER P, SIDHU A. Modulation of dopamine transporter function by alpha-synuclein is altered by impairment of cell adhesion and by induction of oxidative stress. *FASEB J* 2003; **17**: 2151–2153.
- [65] WERSINGER C, PROU D, VERNIER P, NIZNIK HB, SIDHU A. Mutations in the lipid-binding domain of alpha-synuclein confer overlapping, yet distinct, functional properties in the regulation of dopamine transporter activity. *Mol Cell Neurosci* 2003; **24**: 91–105.
- [66] WERSINGER C, VERNIER P, SIDHU A. Trypsin disrupts the trafficking of the human dopamine transporter by alpha-synuclein and its A30P mutant. *Biochemistry* 2004; **43**: 1242–1253.
- [67] LASHUEL HA, PETRE BM, WALL J, SIMON M, NOWAK RJ, WALZ T, LANSBURY PT. Alpha-synuclein, especially the Parkinson's disease-associated mutants, forms pore-like annular and tubular protofibrils. *J Mol Biol* 2002; **322**: 1089–1102.
- [68] SEO JH, RAH JC, CHOI SH, SHIN JK, MIN K, KIM HS, PARK CH, KIM S, KIM EM, LEE SH, LEE S, SUH SW, SUH YH. Alpha-synuclein regulates neuronal survival via Bcl-2 family expression and PI3/Akt kinase pathway. *FASEB J* 2002; **16**: 1826–1828.

Redaktor prowadzący – Bożena Kamińska-Kaczmarek

Otrzymano: 27.04. 2007 r.

Przyjęto: 22.04.2007 r.

ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa,

e-mail: aniakazmierczak@gmail.com, akazmierczak@o2.pl