

ALFA-SYNUKLEINA W FIZJOLOGII I PATOLOGII MÓZGU*

ALPHA-SYNUCLEIN IN PHYSIOLOGY AND PATHOLOGY OF THE BRAIN

Joanna SOLECKA, Agata ADAMCZYK, Joanna Benigna STROSZNAJDER

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

Streszczenie: Synukleiny, są rodziną małych (15–20 kDa), rozpuszczalnych, wysoce konserwatywnych białek, które obficie występują w neuronach. Do rodziny tej należą cztery izoformy: α -, β -, γ -Synukleina oraz Synoretina. Wśród rodziny synuklein jedynie α -Synukleina jest białkiem prekursorowym hydrofobowego, 35-amino-kwasowego peptydu NAC (ang. *non-amyloid β component of Alzheimer's disease plaques*). NAC jest presynaptycznym białkiem zlokalizowanym głównie w pęcherzykach synaptycznych oraz w cytosolu. Natywna α -Synukleina, w stanie fizjologicznym jest niepofałdowana. Fizjologiczna rola α -Synukleiny nie jest w pełni wyjaśniona, jednak wiele danych wskazuje na jej udział w funkcji zakończeń synaptycznych, w uwalnianiu neurotransmiterów oraz w plastyczności neuronalnej. Prawidłowe funkcje tego białka ulegają zaburzeniu podczas jego agregacji. Modyfikacje posttranslacyjne, stres oksydacyjny lub zaburzenie degradacji mogą przyspieszać agregację α -Synukleiny. α -Synukleina w formie zagregowanej bierze udział w procesie obumierania komórek w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych, w tym w chorobie Parkinsona, w chorobie Alzheimer'a z ciałami Lewy'ego, jak również w demencji z ciałami Lewy'ego. Peptyd NAC stanowi łącznie z amyloidem β ($A\beta$) składnik płytek starczych występujących w chorobie Alzheimer'a. Zrozumienie procesów prowadzących do agregacji α -Synukleiny oraz uwalniania peptydu NAC może mieć istotne znaczenie w wyjaśnieniu patomechanizmu chorób neurodegeneracyjnych i ich terapii.

Słowa kluczowe: α -Synukleina, agregacja, neurodegeneracja, mózg.

Summary: Synucleins are a family of small (15–20 kDa), soluble, conserved proteins that are predominantly expressed in neurons and include α -, β -, γ -Synuclein and Synoretine. Among the synuclein family exclusively α -Synuclein is the precursor protein for highly hydrophobic 35-amino acid peptide NAC (*non-amyloid β component of Alzheimer's disease plaques*). This presynaptic protein associated with synaptic vesicles is also present in cytosol. Under physiological conditions α -Synuclein is natively unfolded. Cellular function of this protein is till now poorly understood, however, several lines of evidence suggest its potential role in regulation of synaptic function, neuronal plasticity, as well as cell survival. Physiological functions of this protein are disturbed by its aggregation. Posttranslational modi-

*Praca powstała podczas realizacji grantu KBN nr 3PO5A12724.

fication, oxidative stress or catabolism defects can promote its aggregation and deposition in cells in the form of Lewy bodies. Aggregated form of α -Synuclein could be involved in cell death in several neurodegenerative disorders, including Parkinson's disease, subtype of Alzheimer's disease with Lewy bodies, as well as in dementia with Lewy bodies. The understanding of processes responsible for α -Synuclein aggregation and NAC liberation is very important for the elucidation of pathomechanism of several neurodegenerative diseases and their effective therapy.

Key words: α -Synuclein, aggregation, neurodegeneration, brain.

WSTĘP

Synukleiny są rodziną niewielkich białek o długości łańcucha od 113 do 143 aminokwasów, których występowanie opisano tylko u kręgowców, do której należą cztery izoformy: α -, β - i γ -Synukleina oraz Synoretina. Białka te wykazują 60–78% homologii w sekwencji aminokwasowej (ryc. 1). U człowieka geny kodujące synukleiny znajdują się odpowiednio na chromosomach 4q21, 5q35 oraz 10q23. Synoretina, zakwalifikowana do podrodziny γ -synuklein została odkryta najpóźniej i jest najsłabiej poznana, a lokalizacja jej genu jest dotychczas nieznana [1].

Synukleiny ulegają szczególnie wysokiej ekspresji w tkance nerwowej, α - i β -izoforma obecna jest w mózgu, natomiast γ -Synukleina występuje zarówno w mózgu, jak i w obwodowym układzie nerwowym. α -Synukleina występuje szczególnie obficie w rejonach związanych z przekazywaniem katecholaminergicznym, podczas gdy izoforma β występuje w układzie cholinergicznym [2]. Obie izoformy zlokalizowane są w głównej mierze w części presynaptycznej zakończeń nerwowych, aczkolwiek ich obecność stwierdzono również w ciele neuronu. Synukleiny α oraz β obecne są zarówno w błonach pęcherzyków synaptycznych, jak i w cytosolu [3]. γ -Synukleina występuje wyłącznie w cytoplazmie neuronów. Synoretina ulega natomiast wysokiej ekspresji w siatkówce [4]. Obecność synuklein stwierdza się również w połączeniach nerwowo-mięśniowych [5] oraz poza układem nerwowym. α -Synukleina obecna jest w płytkach krwi, komórkach hematopoetycznych [6] oraz w mięśniu sercowym [7]. β -Synukleinę stwierdzono np. w komórkach Sertoliego w jądrach. Prace Lia i wsp. [8] wskazują, że γ -Synukleina może brać udział w przebiegu procesu nowotworowego w raku piersi.

α -Synukleinę wyizolowano po raz pierwszy w roku 1988 z narządu elektrycznego morskiej ryby z gatunku *Torpedo californica* i nazwano „synukleina” ze względu na jej obecność w synapsach (ang. *synapse*), jak i w jądrze komórkowym (ang. *nucleus*). W roku 1993 z płytek starczych mózgów alzheimerowskich wyizolowano 35-aminokwasowy peptyd, NAC (ang. *non-amyloid β component of Alzheimer's disease plaques*), czyli „niebędący białkiem β -amyloidowym składnik płytek starczych”. Następnie zsekwencjonowano ludzkie cDNA kodujące białko prekursorowe peptydu NAC, które nazwano NACP (ang. *non-amyloid β component precursor*). Wykazano, że sekwencja aminokwasowa NACP i ludzkiej α -Synukleiny jest identyczna. Zainteresowanie naukowców tym białkiem wzrosło, gdy wykazano związek pomiędzy występowaniem rzadkiej, dziedzicznej postaci choroby Parkinsona a mutacjami w ge-

α -synukleina	MDVFMKGLSKAKEGVVAAAEKTKQGVAAEAGKTKEGVLYVGSKTKEGVVH	50
β -synukleina	MDVFMKGLSMAKEGVVAAAEKTKQGVTEAAEKTKEGVLYVGSKTREGVVQ	50
γ -synukleina	MDVEKKGFSLAKKGVVGAVEKTKQGVTEAAEKTKEGVMYVGAKTKENVVQ	50
synoretina	MDVEKKGFSLAKEGVVGAIVEKTKPRVTEAAEKTKEGVMYVGAKTKEGVVQ	50
α -synukleina	GMATVAEKTKEQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGSLAAATGFVKKDQL	100
β -synukleina	GVASVAEKTKEQASHLGGAVFSG-----AGNIAAATGLVKREEF	89
γ -synukleina	SVTSVAEKTKEQANAVSKAVVSSVNTVATKTVEEAENLAVTSGVVRKE--	98
synoretina	SVTSVAEKTKEQANAVSEAVVSSVNTVATKTVEEVENLAVTSGVVHKE--	98
α -synukleina	GK--NEEGAPQEGILEDM--PVD-PDNEAYEM-PSEEGYQDYEPEA	140
β -synukleina	PTDLKPEEVAQFAAAEPLIEPLMEPEGESYEDPPQEE-YQEYEPEA	137
γ -synukleina	--DLRPSAPQQEGEASKEKEEVAEEAQSGGD	127
synoretina	--ALKQPVPPOEDEAAKAEQVAEETKSGGD	127

RYCINA 1. Sekwencje aminokwasowe ludzkich białek z rodziny synuklein, w ramkach zaznaczono fragmenty konserwatywne we wszystkich izoformach

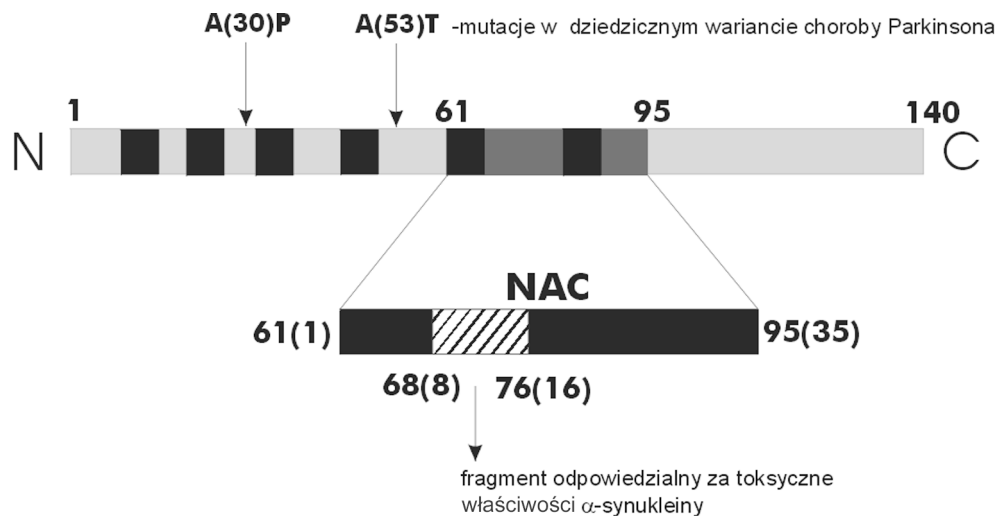
nie kodującym α -Synukleinę. W genie tym wykryto niezależnie dwie mutacje typu podstawienia, które powodują odpowiednio: zamianę alaniny w pozycji 30 na prolinę oraz zamianę alaniny w pozycji 53 na treoninę. Efektem fenotypowym obydwu mutacji jest występowanie ujawniającej się w młodym wieku choroby Parkinsona, która jest dziedziczona w sposób autosomalny dominujący [9]. Wykazano, że α -Synukleina stanowi główny składnik nierozpuszczalnych złogów białkowych tzw. ciał Lewy'ego w chorobie Parkinsona [10], w demencji starczej z ciałami Lewy'ego [11], w wariacie choroby Alzheimera z ciałami Lewy'ego [12] oraz w chorobie Hallervordena-Spatza [13].

EKSPRESJA I LOKALIZACJA α -SYNUKLEINY

α -Synukleina jest bogato reprezentowana w korze mózgowej, hipokampie i prążkowie oraz w niewielkim stopniu w mózdku [14]. Uważa się, że poziom α -Synukleiny w mózgu szczurów podlega regulacji rozwojowej [15, 16]. Stwierdzono zależność od wieku zmiany w poziomie α -Synukleiny w mózgu przy jednoczesnym braku zmian w ekspresji genu [13]. Wykazano, że czynniki, takie jak: zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF z ang. *basic fibroblast growth factor*) [17], czynnik wzrostu nerwów (NGF z ang. *nerve growth factor*) [18] modulują poziom ekspresji tego białka. α -Synukleina po wytworzeniu w ciele komórki jest transportowana wzdłuż aksonu i gromadzona w części presynaptycznej zakończeń nerwowych wokół pęcherzyków synaptycznych [19]. W procesie tym uczestniczą wszystkie trzy typy transportu aksonalnego, przy głównym udziale wolnego transportu b [20]. Wykazano, że w przebiegu starzenia szybkość transportu aksonalnego α -Synukleiny ulega znacznemu zwolnieniu, co może sprzyjać akumulacji i agregacji tego białka w aksonach [21]. Badania immunocytochemiczne wykazały również obecność niewielkich ilości α -Synukleiny w perikarionie, w dendrytach oraz w jądrze komórkowym [3]. Na podstawie obrazów z mikroskopu elektronowego stwierdzono, że α -Synukleina jest związana z błonami pęcherzyków synaptycznych oraz obecna w cytosolu [22]. Dane z ostatnich lat wskazują, że α -Synukleina w warunkach stresu oksydacyjnego lub toksycznego może ulegać translokacji do jądra komórkowego i tworzyć kompleksy z białkami histonowymi [23].

STRUKTURA α -SYNUKLEINY

Ludzka α -Synukleina jest monomerem białkowym o masie cząsteczkowej 14 kDa, opornym na działanie wysokich temperatur oraz dobrze rozpuszczalnym w wodzie. Jest to białko wysoce konserwatywne, α -Synukleina mysia i szczurza są identyczne na odcinku od 1 do 95 aminokwasu, natomiast białko ludzkie różni się od nich tylko dwoma aminokwasami. W strukturze pierwszorzędowej ludzkiej α -Synukleiny można wyróżnić trzy domeny (ryc. 2). Region N-końcowy obfitujący w aminokwasy zasadowe



RYCINA 2. Schemat budowy α-Synukleiny

(aminokwasy 1–60) zawiera cztery jedenastoaminokwasowe, nieregularnie powtarzające się motywy, których rdzeń stanowi konserwatywna sześćioaminokwasowa sekwencja (KTKGV). Te powtórzenia są oddzielone odcinkami 5–8 reszt aminokwasowych. Region ten wiążąc lipidy tworzy drugorzędową strukturę w postaci amfipatycznej α-helisy, typowej dla domeny wiążącej lipidy w apolipoproteinach klasy A₂ [24, 25] oraz wykazuje homologię strukturalną z apolipoproteiną E [26]. W rejonie tym znajdują się miejsca obydwu mutacji związanych z rodzinnym wariantem choroby Parkinsona. Centralny, silnie hydrofobowy odcinek (aminokwasy 61–95) stanowi amyloidogenną sekwencję NAC [27]. Zawiera on dwa kolejne powtórzenia motywu (KTKGV). α-Synukleina w stanie natywnym ma strukturę nieuporządkowaną, natomiast pod wpływem szeregu czynników (m.in. stresu oksydacyjnego) może przyjmować konformację β-harmonijki i tworzyć włókna oraz wywierać toksyczny efekt na komórki [28]. Wiele dowodów wskazuje na to, że zdolność α-Synukleiny do samoistnej agregacji odpowiada centralny fragment jej struktury odpowiadający peptydowi NAC. Peptyd ten występuje wraz z amyloidem β w płytkach starczych w mózgu alzheimerowskich, a w warunkach *in vitro* może inicjować agregację peptydów amyloidu β. Wykazano, że fragment NAC samoistnie agreguje oraz działa cytotoksycznie indukując apoptozę w ludzkich komórkach nerwiaka [29]. Ponadto zagregowany peptyd NAC powoduje zwiększenie wytwarzania reaktywnych form tlenu w mitochondriach, aktywację czynnika transkrypcyjnego NF-κB (z ang. *nuclear factor kappa B*) w neuronach i astrocytach [30] oraz aktywuje tworzenie rodnika hydroksylowego w zakończeniach synaptycznych (badania własne niepublikowane). Wykazano także, że region NAC zawiera kluczowe dla agregacji sekwencje obecne w innych amyloidogennych polipeptydach, takich jak: białko prionowe czy amyloid β [28]. Stwierdzono natomiast, że rekombinowane białko pozbawione tego

centralnego odcinka traci zdolność tworzenia włókien [31]. Badania nad krótkimi odcinkami peptydu NAC wykazały, że regionem kluczowym dla jego agregacji i toksyczności jest odcinek od 8 do 16 aminokwasu w sekwencji peptydu NAC, co odpowiada aminokwasom 68–76 w sekwencji α -Synukleiny [29].

Region C-końcowy (aminokwasy 96 do 140) obfituje w prolinę oraz aminokwasy kwaśne, które nadają mu ujemny ładunek, co warunkuje przyjmowanie przez białko struktury nieuporządkowanej na tym odcinku [32].

Ważną cechą pierwszorzędowej struktury α -Synukleiny jest obecność sześciu nieregularnie powtarzających się, jedenastoaminokwasowych motywów w obrębie pierwszych 95 aminokwasów. Taka struktura występuje także w innych białkach wiążących odwracalnie lipidy i umożliwia wiązanie α -Synukleiny do fosfolipidów błonowych, co wydaje się mieć kluczowe znaczenie dla jej funkcji [33, 34]. W strukturze α -Synukleiny występują ponadto dwa regiony (2–19 oraz 123–140) wykazujące znaczne podobieństwo do sekwencji charakterystycznych dla cytosolowych białek FABP (z ang. *fatty acid binding protein*) wiążących kwasy tłuszczowe, co sugeruje, że α -Synukleina może należeć do rodziny tych białek [35].

MODYFIKACJE POSTTRANSLACYJNE α -SYNUKLEINY

Dotychczas wiadomo, że α -Synukleina podlega procesom fosforylacji, glikozylacji oraz ubikwitynacji. Fosforylacja α -Synukleiny może mieć udział w regulacji fizjologicznych funkcji tego białka, a także wpływa na jego zdolność do agregacji. Badania Okochi i wsp. [36], na transfekowanych liniach komórkowych PC12 i HEC239 wykazały, że α -Synukleina jest fosforylowana na Ser129 przy udziale kinazy kazeinowej I i II. Modyfikacja ta sprzyja formowaniu fibrylarnych złogów w warunkach *in vitro* [37], natomiast ciała Lewy'ego w mózgach ludzkich zawierają znaczną ilość α -Synukleiny ufosforylowanej specyficznie w pozycji Ser129 [38]. Synukleiny stanowią także substrat dla kinaz receptorów związanych z białkami G (GRK, ang. *G protein-coupled receptor kinases*) [39]. Fosforylacja przy udziale GRK zmniejsza zdolność α -Synukleiny do interakcji z lipidami błonowymi, co może prowadzić do jej wzmożonej akumulacji w cytosolu i w następstwie tego do agregacji. Fosforylacja α -Synukleiny zależna od GRK znosi hamujące działanie tego białka na aktywność fosfolipazy D_2 (PLD₂). Proces ten może mieć istotne znaczenie w formowaniu się pęcherzyków synaptycznych [39]. Reszty tyrozynowe α -Synukleiny w pozycji 125, 133 i 136 ulegają fosforylacji przy udziale kinazy tyrozynowej p72Syk, co powoduje zmniejszenie podatności α -Synukleiny na agregację [40]. α -Synukleina może być również fosforylowana przez specyficzne kinazy tyrozynowe z rodziny kinaz Src [41, 42]. Reszty tyrozynowe α -Synukleiny w warunkach stresu oksydacyjnego lub nitrozacyjnego mogą ulegać oksydacji do o,o'-dityrozyny lub 3-nitrozylacji. Obydwie modyfikacje znacznie zwiększają zdolność α -Synukleiny do agregacji. W tym aspekcie fosforylacja reszt tyrozynowych α -Synukleiny chroni je przed działaniem stresu oksydacyjnego i nitrozacyjnego oraz zapobiega jej agregacji [43].

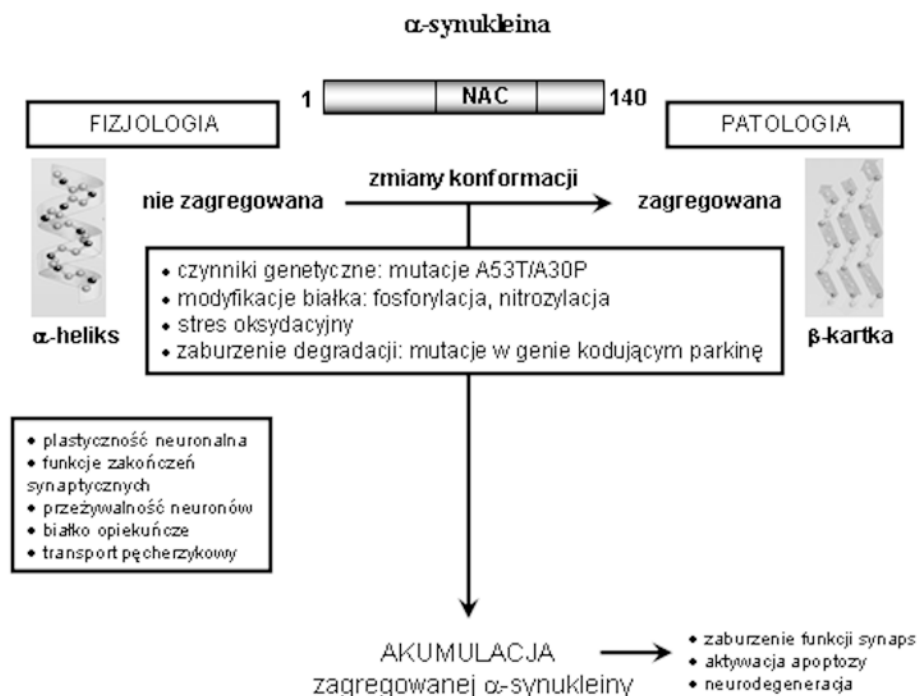
α -Synukleina podlega również procesom O-glikozylacji. W zdrowym mózgu ta forma białka występuje w stężeniach na granicy wykrywalności. O-glikozylowana α -Synukleina ulega ubikwitynacji przy udziale białka Parkiny, które pełni rolę ligazy ubikwitynowo-białkowej, a następnie jest degradowana w drodze proteasomalnej [44]. Proces ten ulega zaburzeniu w dziedzicznym wariantcie choroby Parkinsona i związany jest z mutacją genu kodującego Parkinę. Mutacja Parkiny prowadzi do zaburzenia degradacji α -Synukleiny i gromadzenia znacznych ilości jej O-glikozylowanej formy w neuronach. Zmiana zależnej od Parkiny degradacji O-glikozylowanej α -Synukleiny może być kluczowym czynnikiem prowadzącym do śmierci neuronów dopaminergicznych [45].

Prawidłowa degradacja α -Synukleiny jest istotnym czynnikiem zapobiegającym powstawaniu toksycznych form tego białka. Wyniki ostatnich badań wskazują, że α -Synukleina może być degradowana przez proteasomy zarówno w sposób zależny, jak i niezależny od ubikwityny. Natywna α -Synukleina występuje w postaci niesfałdowanej, prawdopodobnie dzięki temu może ona ominąć proces ubikwitynacji i rozfałdowywania przez podjednostkę 19S i ulegać degradacji bezpośrednio przy udziale wolnej podjednostki 20S proteasomu [46].

Zaburzenie funkcji proteasomów, jakie obserwuje się zarówno w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych, jak i podczas starzenia fizjologicznego, stanowi czynnik sprzyjający gromadzeniu się agregatów białkowych [47]. Badania Cuervo i wsp. [48] wykazały, że α -Synukleina podlega także degradacji lizosomalnej w procesie autofagocytozy zależnej od białek opiekuńczych. Zmutowane, patologiczne formy α -Synukleiny wiążą się z receptorami błonowymi lizosomów uczestniczącymi w tym szlaku degradacji i powodują jego zahamowanie. To oddziaływanie może być istotnym czynnikiem warunkującym toksyczność zmutowanych form α -Synukleiny.

FUNKCJE α -SYNUKLEINY

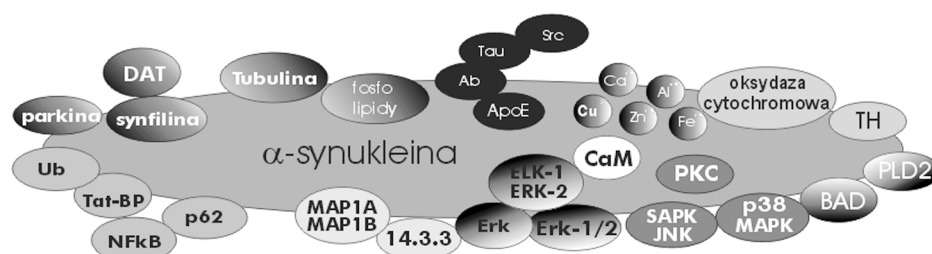
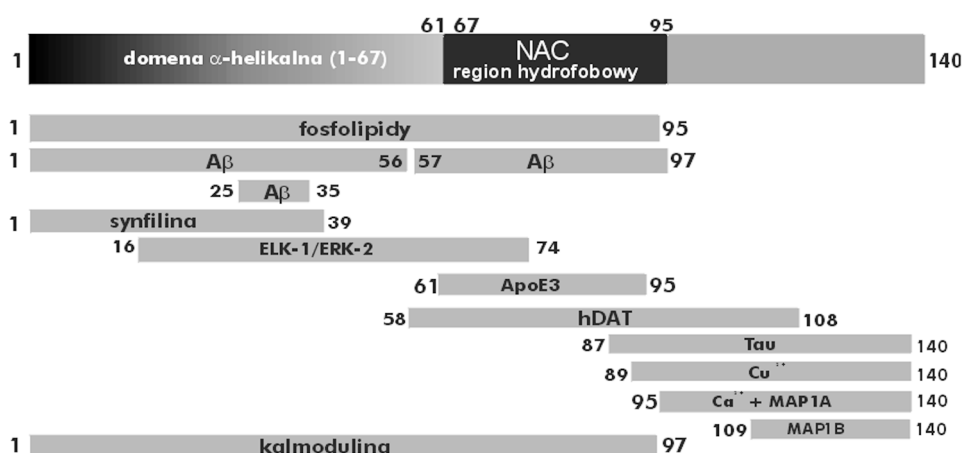
α -Synukleina jest białkiem, którego rola fizjologiczna wciąż nie jest w pełni wyjaśniona. Uważa się, że jej prawidłowa forma uczestniczy w kształtowaniu plastyczności synaptycznej, regulacji transportu pęcherzykowego oraz przekazywania dopaminergicznego. α -Synukleina występująca w postaci agregatów może powodować zaburzenie funkcji synaps i degenerację neuronów (ryc. 3). Białko to może również wpływać na procesy pro- i antyapoptotyczne [49]. α -Synukleina wchodzi w interakcje z licznymi białkami, co może zmieniać jej konformację i prowadzić do częściowego sfałdowania (ryc. 4). Izoforma ta wykazuje zdolności do wiązania PLD₂, białka 14-3-3, różnych izoform PKC, białka BAD, ERK [50] Rab5A [51], kompleksu ELK-1/ERK-2 [52], amyloidu beta (A β), kalmoduliny i wielu innych białek zaangażowanych w przekazywanie informacji oraz regulację apoptozy [53]. Jensen i wsp. [54] wykazał, że α -Synukleina wchodzi w interakcję z białkiem Tau i stymuluje jego fosforylację zależną od PKA. Wiązanie to jest odwracalne i hamowane przez Tubulinę. Sugeruje się, że Tubulina stymuluje agregację α -Synukleiny i w ten sposób znosi jej zdolność do wiązania białka Tau, α -Synukleina w formie zagregowanej nie oddziałuje z białkiem Tau. Obserwacje te wskazują, że α -Synukleina poprzez modulację fosforylacji Tau



RYCINA 3. Zmiana konformacji α -Synukleiny i jej agregacja w istotny sposób moduluje funkcję tego białka

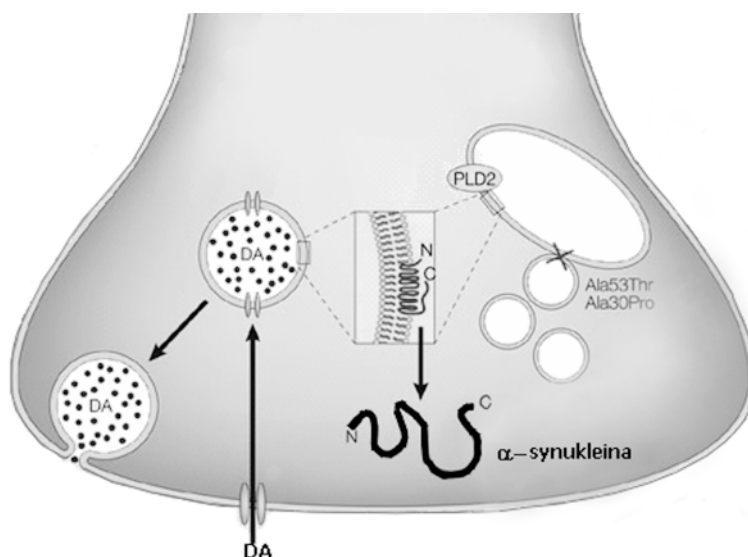
wpływa na stabilność mikrotubuli i cytoszkieletu. α -Synukleina wchodzi również w interakcje z kationami: Fe^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} i Ca^{2+} [55]. Jednakże dokładna rola tych oddziaływań w fizjologii i patologii komórki jest nadal nie wyjaśniona. Do chwili obecnej pozostają nieznane mechanizmy tych wzajemnych oddziaływań. Zmiany pH, temperatury, modyfikacje posttranslacyjne mogą modulować dynamikę wiązania ligandów do α -Synukleiny, a także jej zdolność do agregacji.

Lokalizacja α -Synukleiny w części presynaptycznej zakończeń nerwowych sugeruje jej udział w kształtowaniu plastyczności synaptycznej [56]. Wykazano, że ekspresja α -Synukleiny w hipokampie i korze mózgu szczurów jest najwyższa we wczesnym okresie po urodzeniu, po czym ulega obniżeniu u zwierząt dorosłych [57]. Badania stężenia tego białka w mózgu myszy w różnych okresach rozwoju, począwszy od 12–15-dniowych embrionów wykazały, że jej ilość wzrasta w miarę rozwoju mózgu. Interesujący jest także fakt, że ekspresja α -Synukleiny znacznie wzrasta u młodych kanarków w okresie nauki śpiewania, gdy następuje rozwój związanych z tym procesem ośrodków w mózgu [22]. Badania prowadzone na hodowli komórek hipokampa wykazały, że ekspresja α -Synukleiny pojawia się dopiero po wykształceniu zakończeń synaptycznych [58], natomiast u transgenicznym myszy pozbawionych genu α -Synukleiny nie zaobserwowano nieprawidłowości w zachowaniu, a rozwój układu nerwowego przebiegał prawidłowo [59]. Powyższe dane sugerują, że rola

A**B**

RYCINA 4. **A** – α -Synukleina wchodzi w interakcje z lipidami, białkami i licznymi ligandami. Chociaż mechanizm tych oddziaływań pozostaje nadal niewyjaśniony, uważa się, że modulują one właściwości α -Synukleiny, w tym jej zdolność do agregacji. **B** – Domeny α -Synukleiny odpowiedzialne za wiązanie licznych białek i ligandów. Liczby zaznaczone na schemacie wskazują na kolejne aminokwasy w białku α -Synukleiny odpowiedzialne za interakcje z poszczególnymi białkami i ligandami

α -Synukleiny polega raczej na utrzymaniu funkcji już wykształconych synaps niż na udziale w ich formowaniu. Wiele dowodów wskazuje na to, że α -Synukleina bierze udział w formowaniu się pęcherzyków synaptycznych oraz transporcie pęcherzykowym [60]. Białko to może regulować funkcję pęcherzyków synaptycznych poprzez wiązanie się z domeną błon bogatą w kwas fosfatydowy lub poprzez regulację jego uwalniania przez PLD₂. Badania *in vitro* wykazały, że α -Synukleina wiąże się poprzez swoją domenę N-końcową z kwaśnymi fosfolipidami w błonach pęcherzyków synaptycznych i endosomów i hamuje PLD₂, a w konsekwencji uwalnianie kwasu fosfatydowego [61] (ryc. 5) Wolny kwas fosfatydowy odgrywa istotną rolę w powstawaniu pęcherzyków synaptycznych, wiąże się z białkami adaptorowymi pęcherzyków synaptycznych i stymuluje ich powstawanie. Hamowanie aktywności PLD₂ przez α -Synukleinę reguluje dynamikę



RYCINA 5. Udział α -Synukleiny w regulacji transportu pęcherzykowego dopaminy: DA – dopamina, PLD – fosfolipaza D, Ala53Thr, Ala30Pro – mutacje α -Synukleiny w rodzinnym wariantcie choroby Parkinsona

syntezy pęcherzyków synaptycznych. Fosforylacja α -Synukleiny przez GRK, jak również mutacje genu kodującego to białko znoszą jej zdolność do interakcji z fosfolipidami błonowymi oraz inhibicji PLD₂ [39].

α -Synukleina wpływa na procesy transportu i magazynowania dopaminy w pęcherzykach neurosekrecyjnych i w ten sposób reguluje przebieg neurotransmisji dopaminergicznej. Wykazano, że mutacja α -Synukleiny zaburza funkcje pęcherzyków synaptycznych, co prowadzi do gromadzenia się dopaminy w cytosolu oraz zaburzenia przekazywania dopaminergicznego [62]. α -Synukleina tworzy kompleksy z Presynaptycznym Ludzkim Transporterem Dopaminy hDAT (ang. *Human Dopamine Transporter*) poprzez bezpośrednie oddziaływanie centralnego odcinka α -Synukleiny (NAC) z C-końcowym regionem hDAT [63] oraz wpływa hamująco na aktywność tego białka powodując zmniejszenie wychwytu zwrotnego dopaminy. Białko to uczestniczy ponadto w regulacji biosyntezy dopaminy poprzez hamowanie aktywności Hydroksylazy Tyrozynowej [64]. Badania ostatnich lat wykazały, że α -Synukleina ma właściwości zarówno anty-, jak i proapoptotyczne. Stwierdzono, że białko to hamuje aktywność Kaspazy-3, moduluje ekspresję białka BCL2 [65] oraz inaktywuje proapoptotyczną drogę zależną od JNK (ang. *c-Jun N-terminal kinase stress-signaling pathway*) [66]. Istnieją jednakże dane, które wskazują, że α -Synukleina indukuje apoptozę poprzez aktywację białka BAD [67]. W ocenie wyników należy mieć na uwadze fakt, że efekt działania α -Synukleiny zależy od jej konformacji i agregacji.

UDZIAŁ α -SYNUKLEINY W NEURODEGENERACJI

Fizjologiczna funkcja α -Synukleiny jest zaburzona, gdy ulega ona agregacji. Uważa się, że neurotoksyczne działanie tego białka jest ściśle związane z przyjmowaniem nieprawidłowej konformacji. α -Synukleina wykazuje tendencję do samoistnego tworzenia fibrylarnych agregatów *in vitro*. Pierwszym etapem tego procesu jest przyjęcie struktury β -harmonijki. Ta forma α -Synukleiny łatwo tworzy włókna. Na początkowym etapie agregacji powstają rozpuszczalne oligomery złożone z kilkunastu cząsteczek α -Synukleiny (tzw. protofibryle) [68]. Formy te stanowią, według najnowszych teorii, pierwotną przyczynę obumierania neuronów dopaminergicznych w przebiegu choroby Parkinsona. Protofibryle mogą wchodzić w interakcje z błonami pęcherzyków synaptycznych, powodując powstawanie w nich porów i uwalnianie zawartości pęcherzyków, m.in. dopaminy do cytosolu. Postępująca agregacja może być mechanizmem chroniącym komórki przed szkodliwym działaniem oligomerów α -Synukleiny, a jednocześnie prowadzi do powstania nierozpuszczalnych złogów, które uszkodzają komórki na sposób mechaniczny [69]. Ubytek prawidłowej α -Synukleiny może dodatkowo przyczyniać się do zaburzenia funkcji synapsy. Podatność α -Synukleiny na agregację w znacznym stopniu zależy od jej stężenia. Białko to znacznie szybciej zaczyna tworzyć włókna w wysokich stężeniach. Wyniki badań *in vitro* wykazują, że tworzenie ciałek Lewy'ego *in vivo* jest związane z akumulacją w cytosolu α -Synukleiny, która po osiągnięciu krytycznego stężenia ulega agregacji [70]. Wykazano również, że w strukturach mózgu podlegających degeneracji w chorobie Parkinsona, demencji z ciałami Lewy'ego oraz w chorobie Alzheimera z ciałami Lewy'ego ma miejsce wzrost ekspresji α -Synukleiny na poziomie mRNA [71]. Poza zwiększoną ekspresją także mutacje α -Synukleiny sprzyjają tworzeniu włókien o charakterze amyloidowym. Mutacja w regionie N-końcowym w rodzinnej postaci choroby Parkinsona zaburza interakcję α -Synukleiny z fosfolipidami błonowymi, przyspieszając w ten sposób jej agregację i tworzenie włókien [72].

Liczne badania wykazały również udział reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*) oraz azotu (RNS, ang. *reactive nitrogen species*) w stymulacji agregacji tego białka [73]. Reszty tyrozynowe w α -Synukleinie w warunkach stresu oksydacyjnego i nitrozacyjnego mogą ulegać utlenieniu do o,o'-dityrozyny lub 3-nitrozytacji, co sprzyja agregacji. Również nadtlenuk wodoru i jony metali: Fe^{2+} i Cu^{2+} stymulują agregację α -Synukleiny [74].

Obecnie intensywnie poszukuje się czynników zapobiegających agregacji α -Synukleiny, które mogłyby mieć znaczenie terapeutyczne w chorobach neurodegeneracyjnych. Wyniki najnowszych badań *in vitro* dowodzą, że β - i γ -Synukleina hamują agregację α -Synukleiny, co sugeruje, że proces ten może także przebiegać *in vivo*. Efekt działania ochronnego zależy od stosunku stężenia α -Synukleiny odpowiednio do β - lub γ -Synukleiny. Całkowite zahamowanie procesu agregacji α -Synukleiny zachodzi przy 4-krotnym nadmiarze jej homologów. Mechanizm tego oddziaływania nie został jeszcze dokładnie poznany. Przypuszczalnie β - i γ -Synukleina przyłączają się do oligomerów, utworzonych przez α -Synukleinę w początkowym etapie agregacji. Efektem jest stabilizacja oligomerów, która zapobiega łączeniu się ich w większe agregaty oraz

szkodliwemu oddziaływaniu z błonami pęcherzyków synaptycznych. Powyższe fakty wskazują, że β - i γ -Synukleina mogą w komórce pełnić funkcję białek opiekuńczych, które zmniejszają toksyczność protofibrili α -Synukleiny i hamują tworzenie szkodliwych złogów. Obniżenie stężenia β - i γ -Synukleiny lub zaburzony stosunek stechiometryczny pomiędzy poszczególnymi izoformami może być jednym z czynników etiologicznych synukleinopatii [75].

PODSUMOWANIE

Obecnie wiadomo, że α -Synukleina jest jednym z kluczowych białek zaangażowanych w etiopatologię licznych chorób neurodegeneracyjnych, w tym choroby Parkinsona. Potwierdza to fakt, że jest ona podstawowym składnikiem ciał Lewy'ego obecnych w zdegenerowanych neuronach. α -Synukleina, pod wpływem działania licznych czynników nabywa właściwości toksycznych wobec neuronów układu dopaminergicznego. Złożony mechanizm tego toksycznego oddziaływania nie jest dotychczas w pełni wyjaśniony. Lepsze zrozumienie biologicznej roli α -Synukleiny jest ważnym wyzwaniem badawczym. Wyniki prac nad tym zagadnieniem winny przyczynić się do wyjaśnienia patomechanizmu choroby Parkinsona i innych chorób neurodegeneracyjnych przebiegających z agregacją α -Synukleiny w postaci ciał Lewy'ego oraz do opracowania nowych, bardziej skutecznych strategii terapeutycznych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] MURRAY IVJ, LEE VM-Y, TROJANOWSKI JQ. Synucleinopathies: a pathological and molecular review. *Clinical Neuroscience Research* 2001; **1**: 445–455.
- [2] LI J -Y, HENNING JENSEN P. Differential localization of α -, β - and γ -synucleins in the rat CNS. *Neurosci* 2002; **113**: 463–478.
- [3] MORI KT, YOSHIMOTO M, TAKAHASHI H, WAKABAYASHI K. Immunohistochemical comparison of alpha- and beta-synuclein in adult rat central nervous system. *Brain Res* 2002; **941**: 118–126.
- [4] SURGUCHOV A, SURGUCHEVA I, SOLESSIO E. Synoretin – a new protein belonging to the synuclein family. *Mol Cell Neurosci* 1999; **13**: 95–103.
- [5] ASKANAS V, ENGEL WK, ALVAREZ RB, MCFERRIN J, BROCCOLINI A. Novel immunolocalization of alpha-synuclein in human muscle of inclusion-body myositis, regenerating and necrotic muscle fibers, and at neuromuscular junctions. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000; **59**: 592–598.
- [6] SHIN EC, CHO SE, LEE DK. Expression patterns of alpha-synuclein in human hematopoietic cells and in Drosophila at different developmental stages. *Mol Cells* 2000; **10**: 65–70.
- [7] IWANAGA K, WAKABAYASHI K, YOSHIMOTO M et al. Lewy body-type degeneration in cardiac plexus in Parkinson's and incidental Lewy body diseases. *Neurology* 1999; **52**: 1269–1271.
- [8] JIA T, LIU YE, LIU J, SHI YE. Stimulation of breast cancer invasion and metastasis by synuclein gamma. *Cancer Res* 1999; **59**: 742–747.
- [9] IWAI A. Properties of NACP/alpha-synuclein and its role in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 2000; **1502**: 95–109.
- [10] CROWTHER RA, DANIEL SE, GOEDERT M. Characterisation of isolated alpha-synuclein filaments from substantia nigra of Parkinson's disease brain. *Neurosci Lett* 2000 Oct 6 **292**,2: 128–130.

- [11] SHOJI M, HARIGAYA Y. Accumulation of α -synuclein in Lewy body disease and multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; **68**: 605–608.
- [12] ARAI Y, YAMAZAKI M, MORI O, MURAMATSU H, ASANO G, KATAYAMA Y. Alpha-synuclein-positive structures in cases with sporadic Alzheimer's disease: morphology and its relationship to tau aggregation. *Brain Res* 2001; Jan **888**: 287–296.
- [13] NEUMANN M, ADLER S. Alpha-synuclein accumulation in case of neurodegeneration with brain iron accumulation type 1 (NBIA-1, formerly Hallervorden-Spatz syndrome) with widespread cortical and brainstem type Lewy bodies. *Acta Neuropathol* 2000; **100**: 568–574.
- [14] STROSZNAJDER J.B., ZAMBRZYCKA A., SOLECKA J. Alpha-synuclein/NACP in the course of brain aging. Neurotoxicity of NAC and amyloid beta. *J Neurochem* 2004; **88**: S1, p23, P1-3.
- [15] PETERSEN K, OLESEN OF, MIKKELSEN JD. Developmental expression of α -synuclein in rat hippocampus and cerebellar cortex. *Neurosci* 1999; **91**: 651–659.
- [16] JAKOWEC MW, DONALDSON DM, BARBA J, PETZINGER GM. Postnatal expression of alpha-synuclein protein in the rodent substantia nigra and striatum. *Dev Neurosci*, Jan 2001; **23**: 91–99.
- [17] RIDEOUT HJ, DIETRICH P, SAVALLE M. Regulation of α -synuclein by bFGF in cultured ventral mid-brain dopaminergic neurons. *J Neurochem* 2003; **84**: 803–813.
- [18] STEFANIS L, KHOLODILOV N, RIDEOUT HJ, BURKE RE. Synuclein-1 is selectively up-regulated in response to nerve growth factor treatment in PC12 cells. *J Neurochem* February 1, 2001; **76**(4): 1165–1176.
- [19] MURPHY DD, RUETER SM, TROJANOWSKI JQ, LEE VM-Y. Synucleins Are Developmentally Expressed, and α -Synuclein Regulates the Size of the Presynaptic Vesicular Pool in Primary Hippocampal Neurons. *J Neurosci* 2000; **20**: 3214–3220.
- [20] JENSEN PH, LI JY, DAHLSTROM A, DOTTI CG. Axonal transport of synucleins is mediated by all rate components. *Eur J Neurosci* 1999; **11**: 3369–3376.
- [21] LI W, HOFFMAN PN, STIRLING W, PRICE DL, LEE MK. Axonal transport of human α -synuclein slows with aging but is not affected by familial Parkinson's disease-linked mutations. *J Neurochem* 2004; **88**: 401–410.
- [22] DA COSTA AC. Recent Advances on alpha-Synuclein Cell Biology: Functions and Dysfunctions. *Curr Mol Med* 2003; **3**: 17–24.
- [23] GOERS J, MANNING-BOG AB, MCCORMACK AL, MILLETT IS, DONIACH S. Nuclear localization of alpha-synuclein and its interaction with histones. *Biochemistry* 2003; **42**(28): 8465–8471.
- [24] PERRIN RJ, WOODS WS, CLAYTON DF, GEORGE JM. Interaction of human alpha-synuclein and Parkinson's disease variants with phospholipids. Structural analysis using site-directed mutagenesis. *J Biol Chem* 2000; **275**: 34393–34398.
- [25] JAO CC, DER-SARKISSIAN A, CHEN J, LANGEN R. From The Cover: Structure of membrane-bound α -synuclein studied by site-directed spin labeling. *PNAS* 2004; **101**: 8331–8336.
- [26] SHARON R, GOLDBERG MS, BAR-JOSEF I. 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.
- [27] GIASSEN BI, MURRAY IV, TROJANOWSKI JQ, LEE VM. A hydrophobic stretch of 12 amino acid residues in the middle of alpha-synuclein is essential for filament assembly. *J Biol Chem* 2001; **276**: 2380–2386.
- [28] 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.
- [29] BODLES AM, GUTHRIE DJ, GREER B, IRVINE GB. Identification of the region of non-Abeta component (NAC) of Alzheimer's disease amyloid responsible for its aggregation and toxicity. *J Neurochem* 2001; **78**: 384–395.
- [30] TANAKA S, TAKEHASHI M, MATOH N, IIDA S, SUZUKI T, FUTAKI S, HAMADA H. Generation of reactive oxygen species and activation of NF-kappaB by non-Abeta component of Alzheimer's disease amyloid. *J Neurochem* 2002; **82**: 305–315.
- [31] GIASSEN BI, MURRAY IV, TROJANOWSKI JQ, LEE VM. A hydrophobic stretch of 12 amino acid residues in the middle of alpha-synuclein is essential for filament assembly. *J Biol Chem* 2001; **276**, 4: 2380–2386.
- [32] ELIEZER D, KUTLUAY E, BUSSELL R, BROWNE G. Conformational properties of alpha-synuclein in its free and lipid-associated states. *J Mol Biol* 2001; **307**: 1061–1073.
- [33] BUSSELL R JR, ELIEZER D. A structural and functional role for 11-mer repeats in alpha-synuclein and other exchangeable lipid binding proteins. *J Mol Biol* 2003; **329**: 763–778.

- [34] PAYTON JE, PERRIN RJ, WOODS WS, GEORGE JM. Structural Determinants of PLD2 Inhibition by alpha-Synuclein. *J Mol Biol* 2004; **337**: 1001–1009.
- [35] RONIT SHARON, GOLDBERG MS, BAR-JOSEF I, BETENSKY RA. α -Synuclein occurs in lipid-rich high molecular weight complexes, binds fatty acids, and shows homology to the fatty acid-binding proteins. *PNAS* Jul 2001; **98**: 9110–9115.
- [36] OKOCHI M, WALTER J, KOYAMA A. Constitutive phosphorylation of the Parkinson's disease associated alpha-synuclein. *J Biol Chem* 2000; **275**: 390–397.
- [37] LEE G, TANAKA M, PARK K, LEE SS, KIM YM, JUNN E. Casein kinase II-mediated phosphorylation regulates alpha-synuclein/synphilin-1 interaction and inclusion body formation *J Biol Chem* 2004; **279**: 6834–6839.
- [38] FUJIWARA H, HASEGAWA M, DOHMAE N, KAWASHIMA A, MASLIAH E. alpha-Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nat Cell Biol* 2002; **4**: 160–164.
- [39] PRONIN AN, MORRIS AJ. Synucleins Are a Novel Class of Substrates for G Protein-coupled Receptor Kinases. *J Biol Chem* 2000; **275**: 26515–26522.
- [40] NEGRO A, BRUNATI AM, DEANA AD, MASSIMINO ML. Multiple phosphorylation of α -synuclein by protein tyrosine kinase Syk prevents eosin-induced aggregation. *FASEB J* 2002; **16**: 210–212.
- [41] NAKAMURA T, YAMASHITA H, NAGANO Y. Activation of Pyk2/RAFTK induces tyrosine phosphorylation of alpha-synuclein via Src-family kinases. *FEBS Lett* 2002; **521**: 190–194.
- [42] 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; Feb 9 **276**: 3879–3884.
- [43] TETSUYA T, HIROSHI Y. Tyrosine 125 of α -synuclein plays a critical role for dimerization following oxidative stress. *Brain Res* 2002; **938**: 73–80.
- [44] SHIMURA H, SCHLOSSMACHER MG, HATTORI N. Ubiquitination of a new form of alpha-synuclein by parkin from human brain: implications for Parkinson's disease. *Science* 2001; **293**: 263–269.
- [45] HEDRICH K, KANN M, LANTHALER AJ, DALSKI A, ESKELSON C, LANDT O, SCHWINGER E. The importance of gene dosage studies: mutational analysis of the parkin gene in early-onset parkinsonism. *Hum Mol Genet* 2001; **10**: 1649–1656.
- [46] TOFARIS GK, LAYFIELD R. α -Synuclein metabolism and aggregation is linked to ubiquitin-independent degradation by the proteasomes. *FEBS Lett* 2001; **509**: 22–26.
- [47] KELLER JN, GEE J, DING Q. The proteasome in brain aging. *Ageing Res Rev* 2002; **2**: 279–293.
- [48] CUEVRO AM, STEFANIS L, FREDENBURG R, LANSBURY PT, SULZER D. Impaired degradation of mutant α -synuclein by chaperone mediated autophagy. *Science* 2004; **305**: 1292–1295.
- [49] KUMLESH K, HOFELE K, BARBIERI S, BUCHMAN VL. Part II: α -synuclein and its molecular pathophysiological role in neurodegenerative disease. *Neuropharmacology* 2003; **45**: 14–44.
- [50] OSTREROVA N, PETRUCCELLI L, FARRER M, MEHTA N, CHOI P, HARDY J. alpha-Synuclein shares physical and functional homology with 14-3-3 proteins. *J Neurosci* 1999; **19**: 5782–5791.
- [51] SUNG JY, KIM J, PAIK SR, PARK JH, AHN YS, CHUNG KC. Induction of neuronal cell death by Rab5A-dependent endocytosis of alpha-synuclein. *J Biol Chem* 2001; **276**: 27441–27448.
- [52] 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.
- [53] 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.
- [54] JENSEN PH, HAGER H, NIELSEN MS, HOJRUP P, GLIEMANN J, JAKES R.. alpha-Synuclein binds to Tau and stimulates the protein kinase A-catalyzed tau phosphorylation of serine residues 262 and 356. *J Biol Chem* 1999; **274**: 25481–25489.
- [55] UVERSKY VN, LI J, FINK AL. Metal-triggered structural transformations, aggregation, and fibrillation of human alpha-synuclein. A possible molecular link between Parkinson's disease and heavy metal exposure. *J Biol Chem* 2001; **276**: 44284–44296.
- [56] STEIDL JV, GOMEZ T. Altered short-term hippocampal synaptic plasticity in mutant alpha-synuclein transgenic mice. *Neuroreport* 2003; **14**: 219–223.
- [57] PETERSEN K, OLESEN OF, MIKKELSEN JD. Developmental expression of α -synuclein in rat hippocampus and cerebral cortex. *Neuroscience* 1999; **91**: 651–659.
- [58] MURPHY DD, RUETER SM, TROJANOWSKI JQ, LEE VM. Synucleins are developmentally expressed, and alpha-synuclein regulates the size of the presynaptic vesicular pool in primary hippocampal neurons. *J Neurosci* 2000; **20**: 3214–3220.

- [59] ABELIOVICH A, SCHMITZ Y, FARINAS I, CHOI-LUNDBERG D, HO WH, CASTILLO PE. Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron* Jan 2000; **25**: 239–252.
- [60] CABIN DE, SHIMAZU K, MURPHY D. Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking α -synuclein. *J Neurosci* 2002; **22**: 8797–8807.
- [61] AHN BH, RHIM H, KIM SY. 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.
- [62] LOTHARIUS J, BRUNDIN P. Impaired dopamine storage resulting from α -synuclein mutations may contribute to the pathogenesis of Parkinson's disease. *Hum Mol Gen* 2002; **11**: 2395–2407.
- [63] LEE FJ, LIU F, ZDENEK B. Direct binding and functional coupling of α -synuclein to the dopamine transporters accelerate dopamine-induced apoptosis. *FASEB J* 2001; **15**: 916–926.
- [64] PEREZ RG, WAYMIRE JC. A role of α -synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. *J Neurosci* 2000; **22**: 3090–3099.
- [65] JI-HEUI S, JONG-CHEOL R, SE HOON CHOI, JAE KS, KYEOUNGSIK M. alpha-Synuclein regulates neuronal survival via Bcl-2 family expression and PI3/Akt kinase pathway. *FASEB J* 2002; **10**: 1096/fj.02-0041fje.
- [66] HASHIMOTO M, LEIGH J, ROCKENSTEIN E, TAKENOUCHI T, MALLORY M, MASLIAH E. α -Synuclein Protects against Oxidative Stress via Inactivation of the c-Jun N-terminal Kinase Stress-signaling Pathway in Neuronal Cells. *J Biol Chem* 2002; **277**: 11465–11472.
- [67] SAHA AR, NINKINA NN, HANGER DP, ANDERTON BH, DAVIES AM, BUCHMAN VL. Induction of neuronal death by alpha-synuclein. *Eur J Neurosci* Aug 2000; **12**(8): 3073–3077.
- [68] 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. *Biochemistry* 2002; **41**: 10209–10217.
- [69] JELLINGER KA. Recent developments in the pathology of Parkinson's disease. *J Neural Transm* 2003; **62**: 347–376.
- [70] SHTILERMAN MD, DING TT. Molecular crowding accelerates fibrillization of alpha-synuclein: could an increase in the cytoplasmic protein concentration induce Parkinson's disease? *Biochemistry* 2002; **41**: 3855–3860.
- [71] ROCKENSTEIN E, HANSEN LA, MALLORY M, TROJANOWSKI JQ. Altered expression of the synuclein family mRNA in Lewy body and Alzheimer's disease. *Brain Research* 2001; **914**: 48–56.
- [72] LANSBURY PT, BRICE A. Genetics of Parkinson's disease and biochemical studies of implicated gene products. *Curr Opin Gen Dev* 2002; **12**: 299–306.
- [73] NORRIS EH, GIASSON BI, ISCHIROPOULOS H, LEE VM. Effects of oxidative and nitrative challenges on alpha-synuclein fibrillogenesis involve distinct mechanisms of protein modifications. *J Biol Chem* 2003; **278**: 27230–27240.
- [74] YAMIN G, GLASER CB, UVERSKY VN, FINK AL. Certain metals trigger fibrillation of methionine-oxidized alpha-synuclein. *J Biol Chem* 2003; **278**: 27630–27635.
- [75] HASHIMOTO M, ROCKENSTEIN E, MANTE M, MALLORY M. β -Synuclein inhibits α -Synuclein aggregation: A Possible Role as an Anti-Parkinsonian Factor. *Neuron* 2001; **32**: 213–223.

Redaktor prowadzący – Bożena Kamińska

Otrzymano: 10.11.2004 r.

Przyjęto: 05.04.2005 r.

ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa

e-mail: agatazambrycka@hotmail.com