

# Post-translacyjne i post-transkrypcyjne mechanizmy regulacji aktywności hydroksylazy tyrozynowej w ośrodkowym układzie nerwowym – wpływ wysiłku fizycznego

Iwona Przybylska<sup>1</sup>✉,

Damian Kania<sup>2</sup>,

Piotr Tymosiewicz<sup>1</sup>,

Józef Langfort<sup>3</sup>,

Małgorzata Chalimoniuk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Fizjoterapii, Wydział Wychowania Fizycznego i Zdrowia, Akademia Wychowania Fizycznego Józefa Piłsudskiego w Warszawie, Filia Biała Podlaska, ul. Akademicka 2, 21-500 Biała Podlaska,

<sup>2</sup>Instytut Fizjoterapii i Nauk o Zdrowiu, Akademia Wychowania Fizycznego im. J. Kukuczki w Katowicach, ul. Mikołowska 72a, 40-065 Katowice,

<sup>3</sup>Instytut Nauk o Sporcie, Akademia Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach, ul. Mikołowska 72a, 40-065 Katowice

[https://doi.org/10.18388/pb.2020\\_388](https://doi.org/10.18388/pb.2020_388)

✉ autor korespondujący: iwona.przybylska@awf.edu.pl

**Słowa kluczowe:** mechanizm regulacji aktywności, hydroksylaza tyrozynowa (TH), dopamina, kinazy białkowe, wysiłek fizyczny

**Wykaz stosowanych skrótów:** A – adrenalina; BDNF – mózgowy czynnik neurotroficzny; CREB – czynnik transkrypcyjny aktywowany w odpowiedzi na cAMP; DA – dopamina; NA – noradrenalina; Nurr-1 – czynnik transkrypcyjny należący do rodziny receptorów jądrowych PD – choroba Parkinsona; PI3R/AKT – ścieżka sygnałowa związana z kinazą PI3R i AKT aktywowana przez neurotrofiny; PKG – kinaza białkowa G zależna od cGMP; TH – hydroksylaza tyrozynowa

**Podziękowanie:** Praca powstała w trakcie realizacji projektu badawczego finansowanego przez NCN nr 2017/25/B/NZ7/02795.

## STRESZCZENIE

Liczne badania wskazują, że dopamina jest ważnym regulatorem funkcji motorycznych, psychologicznych i kognitywnych. Utrzymanie odpowiedniego stężenia dopaminy jest warunkiem prawidłowego działania tych funkcji. W kontroli syntezy dopaminy bierze udział hydroksylaza tyrozynowa (TH). Celem niniejszej pracy jest omówienie regulacji aktywności TH przy współdziałaniu trzech głównych mechanizmów: 1) post-translacyjnego, z chwilą na chwilę, poprzez fosforylację różnych miejsc w cząsteczce enzymu, 2) post-transkrypcyjnego, przy współdziałaniu czynników transkrypcyjnych i specyficznych miRNA, oraz 3) mechanizmu regulacji zwrotnej z udziałem dopaminy. Istotnymi czynnikami uczestniczącymi pośrednio lub bezpośrednio w tych regulacjach aktywności TH i stężenia dopaminy są BDNF, testosteron, alfa-synukleina oraz kinazy białkowe. Drastyczne obniżenie poziomu dopaminy w układzie pozapiramidowym powoduje upośledzenie czynności motorycznych, psychologicznych i kognitywnych. Zwiększona aktywność fizyczna, w szczególności długotrwałe powtarzany wysiłek fizyczny zwiększający poziom testosteronu i BDNF we krwi może aktywować zależne od nich szlaki sygnałowe, zwiększając aktywność hydroksylazy tyrozynowej, a tym samym podnosić poziom dopaminy w układzie pozapiramidowym.

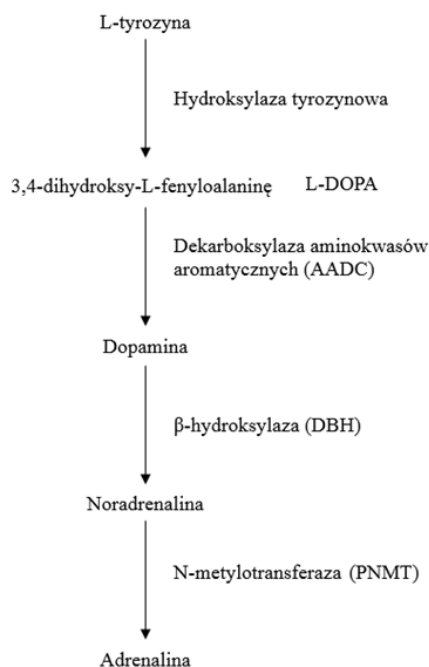
## WPROWADZENIE

Dopamina, serotonina, adrenalina i noradrenalina należą do grupy związków nazywanych katecholaminami. Są istotnymi neuroprzebieżnikami w mózgu, a adrenalina i noradrenalina, które są uwalniane z rdzenia nadnerczy komórek chromafinowych pełnią także rolę hormonów w tkankach obwodowych. W ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) katecholaminy regulują ważne procesy fizjologiczne związane z motoryką i stanami psychicznymi, takimi jak: utrzymanie postawy ciała, kontrola ruchu, uwaga, pamięć, emocje, motywacja, a także procesy kognitywne. Liczne badania wskazują, że wysiłek fizyczny/procesy treningowe zwiększają ich poziom we krwi i w OUN.

Warto pokreślić, że dopamina, podobnie jak adrenalina i noradrenalina działa również parakrynnie w tkankach obwodowych [1]. Receptory wiążące ten hormon zlokalizowano w kanalikach nerkowych, trzustce, pęcherzykach płucnych oraz w naczyniach krwionośnych płuc, nerek i serca [2].

## SZLAK SYNTEZY DOPAMINY JAKO NEUROPRZEKAŹNIKA W OUN I PRODUKCJI SUBSTRATU DO SYNTEZY ADRENALINY I NORADRENALINY

W OUN dopamina jest syntetyzowana w cytoplazmie neuronów dopaminergicznych zlokalizowanych w układzie pozapiramidowym, w którym ciała komórkowe są zlokalizowane w substancji czarnej i nakrywki brzusznej, a ich zakończenia neuronalne – aksony, dają projekcje do prążkowie [3]. Syntezę dopaminy zapoczątkowuje reakcja hydroksylacji katalizowana przez hydroksylazę tyrozynową (TH), w wyniku której powstaje L-DOPA z L-tyrozyny [4]. Reakcja ta jest reakcją regulatorową w szlaku syntezy dopaminy, adrenaliny i noradrenaliny, a TH jest enzymem regulatorowym tego szlaku [5]. Zachodzi ona w obecności tlenu oraz tetrahydrobiopteryny (BH<sub>4</sub>) i jonów żelaza Fe<sup>2+</sup> jako kofaktorów. Na przebieg reakcji i stężenie L-DOPA, a tym samym stężenie dopaminy, może mieć wpływ zaburzenie poziomu tych kofaktorów lub/i obniżenie poziomu L-tyrozyny, która jest dostarczana z białkowymi składnikami diety lub pochodzi z przemiany dostępnej w organizmie fenyloalaniny [4,6]. Na przebieg reakcji mają również duży wpływ czynniki uczestniczące w regulacji aktywności TH. L-DOPA, która jest substratem do syntezy dopaminy, powstaje w wyniku reakcji dekarboksylacji przy udziale enzymu dekarboksylazy L-aminokwasowej (DDC). Z kolei dopamina jest prekursorem syntezy noradrenaliny i adrenaliny odpowiednio przy udziale enzymu β-hydroksylazy (DBH) i N-metylotransferazy (PNMT) (Ryc. 1).

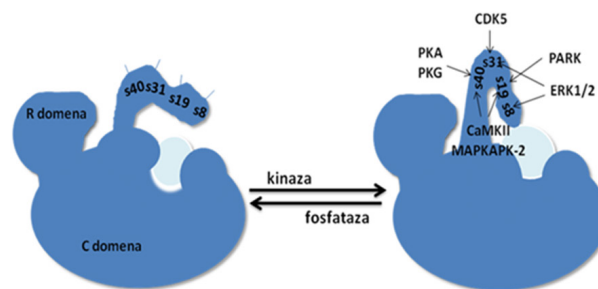


**Rycina 1.** Schemat przebiegu szlaku syntezy dopaminy, adrenaliny i noradrenaliny w mózgu. W syntezie poszczególnych katecholamin biorą udział poszczególne enzymy.

Stężenie dopaminy, noradrenaliny i adrenaliny w OUN czy obwodowym układzie nerwowym jest uzależnione od ich syntezy i metabolizmu. TH jest enzymem ograniczającym szybkość syntezy neuroprzekaźników katecholaminowych i jej aktywność odpowiada za ich stężenie w mózgu [4,5,7,8]. Badania immunochemiczne wykazały, że TH występuje w neuronach dopaminergicznego układu pozapiramidowego (w obszarze istoty czarnej), nakrywki brzusznej, w śródmózgowiu, których zakończenia aksonalne mają projekcje do prążkowiec oraz w niewielkiej ilości do kory czołowej i ruchowej [3]. Jest obecna także w komórkach noradrenergicznych i adrenergicznych znajdujących się w podwzgórzu, rdzeniu kręgowym i jądrze sinawym. Ponadto, poza OUN występuje w zwojach współczulnych, a także w komórkach chromafinowych nadnerczy [1]. Do tej pory nie stwierdzono, oprócz wyżej opisanej, innej funkcji fizjologicznej hydroksylazy, dlatego uznano ją za marker neuronów dopaminergicznych. W badaniach immunochemicznych używając przeciwciał przeciwko TH ocenia się ilość neuronów dopaminergicznych oraz poziom białka w neuronach [4,7]. Neurony dopaminergiczne dostosowują szybkość biosyntezy katecholamin do potrzeb fizjologicznych, w których regulacji uczestniczy TH. Reasumując, szybkość syntezy dopaminy zależy od aktywności TH, która podlega regulacji przy współdziałaniu kilku mechanizmów.

### MECHANIZMY REGULACJI AKTYWNOŚCI HYDROKSYLAZY TYROZYNOWEJ

Obecnie przyjmuje się, że aktywność TH regulowana jest przez trzy główne mechanizmy: 1) post-translacyjny, z chwili na chwilę, poprzez fosforylację różnych miejsc w cząsteczce enzymu, 2) post-transkrypcyjny polegający na



**Rycina 2.** Mechanizm aktywacji TH przez fosforylację Ser 8, Ser 19, Ser 31 i Ser 40 w domenie regulatorowej N-końca (wg Daubner i wsp. 2011, zmodyfikowany przez autorów)

Użyte skróty: PKG – kinaza zależna od cGMP, PKA – kinaza zależna od cAMP, CDK5 – kinaza zależna od cykliny 5, PAK – kinaza regulowana p38, ERK1/2 – kinaza regulowana sygnałem zewnątrzkomórkowym, CaMK-II – kinaza II zależna od kalmoduliny, MAPKAPK-2 – kinaza białkowa aktywowana przez mitogen.

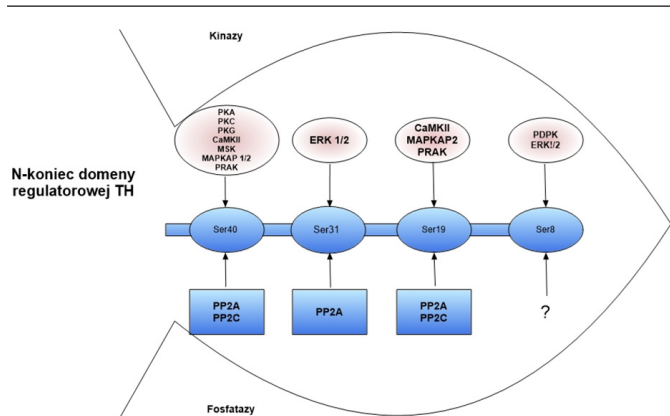
długotrwałej regulacji poprzez zmiany transkrypcyjne przy współdziałaniu specyficznych mikroRNA (miRNA), BDNF, testosteronu i tlenku azotu NO oraz 3) mechanizm regulacji zwrotnej z udziałem dopaminy [7,9].

### POST-TRANSLACYJNY MECHANIZM REGULACJI HYDROKSYLAZY TYROZYNOWEJ

Cząsteczka białka TH posiada domenę N-końcową regulatorową oraz domenę katalityczną C-końcową. Zmiana post-translacyjna aktywności TH dotyczy fosforylacji N-końcowej domeny regulatorowej białka TH na Ser 8 (treoninie 8 u ludzi), Ser 19, Ser 31 i Ser 40 [8]. Wykazano, że fosforylacja TH na Ser 40 odgrywa najważniejszą rolę w regulacji stężenia dopaminy [7–9]. Cząsteczka TH nieufosforylowana tworzy strukturę zamkniętą, gdzie N-końcówka, na którym znajdują się miejsca fosforylacji Ser 40, Ser 31, Ser 19 i Ser 8 zasłania miejsce wiązania substratu [10]. Wyniki badań, w których wprowadzono mutację na Ser 40 lub polegające na usunięciu 38 aminokwasów N-końca wykazały znaczną aktywację TH. To jednoznacznie wskazuje i udowadnia, że: 1) nieufosforylowana forma jest nieaktywna i 2) fosforylacja odgrywa istotną rolę w procesie regulacji aktywności tego enzymu. Reasumując, fosforylacja powoduje zmianę konformacji i odsłonięcie miejsca wiązania dla substratu [10] (Ryc. 2).

W innej serii badań określono jakie kinazy białkowe są zaangażowane w fosforylację w/w miejsc w domenie regulatorowej TH. Z obserwacji z zastosowaniem inhibitorów i aktywatorów poszczególnych kinaz białkowych wynika, że w fosforylację TH są zaangażowane: kinaza białkowa zależna od cAMP (PKA), kinaza białkowa zależna od kalmoduliny (CaMK-II), kinaza białkowa zależna od cGMP (PKG), kinaza białkowa C (PKC), kinaza zależna od cykliny (Cdc2/cyklina A), białkowe kinazy zasocjowane z mikrotubulami (kinazy MAP lub białkowe kinazy regulowane sygnałem zewnątrzkomórkowym – ERK 1 i 2) oraz kinazy białkowe 1 i 2 aktywowane przez kinazy MAP (kinazy MAPKAP) [7,11,12] (Ryc. 3)

W celu zbadania dokładnego mechanizmu regulacji aktywności TH przez kinazy białkowe otrzymano strukturę kryształową. Badania struktury wykazały, że fosforylacja hy-



**Rycina 3.** Udział kinaz i fosfataz białkowych w fosforylacji/defosforylacji poszczególnych reszt serynowych na N-końcu domeny regulatorowej cząsteczki TH. Opracowano na podstawie Dunkley i wsp. 2004, zmodyfikowane przez autorów.

Użyte skróty: PKA – kinaza białkowa A, PKC – kinaza białkowa C, PKG – kinaza białkowa G, CaMK-II – kinaza zależna od wapnia i kalmoduliny, MSK – kinaza białkowa aktywowana przez mitogen i stres, MAPKAP 1/2 – kinaza białkowa aktywowana przez mitogen, PRAK – kinaza regulowana p38 ERK 1/2 – kinaza regulowana sygnałem zewnątrzkomórkowym.

droksylazy tyrozynowej na Ser 40 stabilizuje zmianę konformacyjną struktury aktywnej formy cząsteczki [8,10]. Wprowadzając mutacje w regionie N-końca, gdzie znajduje się Ser 40 wykazano, że to miejsce odgrywa najistotniejszą rolę w aktywacji TH, ponieważ fosforylacja tego miejsca powoduje odsłonięcie miejsca wiązania substratu. Badania z zastosowaniem inhibitorów i aktywatorów kinazy PKA wykazały, że PKA fosforyluje TH jedynie na Ser 40, co powoduje 10-krotny wzrost aktywności TH [7,12]. Doświadczenia z udziałem aktywatorów i inhibitorów innych kinaz białkowych dostarczyły dowodów, że oprócz PKA w fosforylacji Ser 40 TH uczestniczą jeszcze PKG, CaMK-II i PKC [7,12]. Inne badania wskazują, że w fosforylacji TH na Ser 31 i na Ser 8 uczestniczy ERK1/2 kinaza, natomiast CaMK-II fosforyluje TH na Ser 19 [7].

Z opisanych w literaturze badań wynika, że fosforylacja TH na Ser 31 i Ser 19 ma mniejsze znaczenie w regulacji aktywności TH, ponieważ może powodować tylko 1,5-3-krotny wzrost aktywności TH, podczas gdy fosforylacja TH na Ser 40, jak już wspomniano, może powodować 40-krotny wzrost aktywności tego enzymu [7,12]. Wyniki tych badań sugerują, że do maksymalnej aktywacji TH potrzebna jest fosforylacja wszystkich miejsc w domenie regulatorowej [7,12]. W zgodzie z tą koncepcją są badania immunohistochemiczne potwierdzające współwystępowanie TH, kalmoduliny (CaM) i CaMK-II, PKG w tych samych regionach mózgu, w których obserwowano wzrost stężenia dopaminy w wyniku napływu jonów wapnia do dopaminergicznych neuronów [11,13]. I tak, stwierdzono wysoki poziom CaM, kalmoduliny, CaMK-II, nNOS i TH w zakończeniach nerwowych prądkowia i w ciałach dopaminergicznych neuronów w istocie czarnej części zbitęj. Liczne doniesienia wskazały, że wzrost aktywności TH był spowodowany wzrostem wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia i aktywacją CaMK-II, co silnie udokumentowano w badaniach z zastosowaniem inhibitorów CaM, CaMK-II i nNOS [11,14]. Metoda hybrydyzacji typu western blot z zastosowaniem przeciwciał przeciwko ufosforylowanej TH w określonym

miejscu potwierdziła, że wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia powodował wzrost fosforylacji enzymu [11,14]. Reasumując, proces fosforylacji jest niezwykle ważnym mechanizmem regulującym aktywność hydroksylazy tyrozynowej z chwili na chwilę.

## POST-TRANSKRYPCYJNY MECHANIZM REGULACJI HYDROKSYLAZY TYROZYNOWEJ

Aktywność TH również jest regulowana post-transkrypcyjnie poprzez wzrost ekspresji genu TH, co skutkuje zwiększeniem ilości białka enzymu. Podczas stymulacji receptorów błonowych przez różne czynniki, takie jak BDNF, testosteron, NO, cAMP, cGMP, w neuronach dopaminergicznych dochodzi do aktywacji kinaz białkowych odpowiedzialnych za aktywację czynników transkrypcyjnych, takich jak: CREB lub NFκB i AP-1. Czynniki transkrypcji CREB ulega translokacji do jądra i wiąże się z regionem promotora TH, w konsekwencji powodując wzrost ekspresji genu. Ekspresja genu TH jest kontrolowana także przez inne czynniki transkrypcyjne, które łączą się z miejscem 5'-inicjacji transkrypcji [15]. Najlepiej rozpoznanymi białkami pełniącymi funkcje regulatorowe dla promotora genu TH są: GRE (element odpowiedzi na glukokortykoid), AP-1 (ang. *activator protein-1*), cAMP (element odpowiedzi (CRE1/2) i Fos (geny wczesnej odpowiedzi). Mogą być one aktywowane przez Ca<sup>2+</sup>, glukokortykoidy, poziom tlenu czy stres [16]. Wapń i cAMP pośredniczy w aktywacji promotora genu TH głównie przez fosforylację kinazy CaMK-II, która następnie aktywuje CREB przez fosforylację [17]. Nagamoto-Combs i wsp. w 1997 roku stwierdzili, że istnieje wiele ścieżek, które regulują zależną od wapnia ekspresję TH, również niezależnie od fosforylacji CREB. Jedną z nich jest odpowiedź na wysiłek fizyczny [17].

We wroście poziomu mRNA TH bierze udział białko receptora jądrowego Nurr-1[18]. Zetterström i wsp. w 1997 roku wykazali, że białko Nurr-1 jest wymagane do rozwoju i utrzymania neuronów dopaminergicznych u myszy[18]. Myszy z niedoborem białka Nurr-1 nie tylko nie wytwarzają neuronów dopaminergicznych ale wkrótce umierają. Wiązanie białka Nurr-1 do promotora TH zachodzi po aktywacji przez kinazy białkowe A (PKA) i C (PKC) [19]. Jacobsen i wsp. w 2008 roku zidentyfikowali mutację punktową w Nurr-1 ERK1/2 miejscu fosforylacji (Ser125 Cys) u pacjentów z chorobą Parkinsona [20].

W ostatnich latach odkryto, że istotnym regulatorem ekspresji genów są małe niekodujące RNA o długości 20–25 nukleotydów zwane miRNA, które negatywnie regulują ekspresję genów poprzez wiązanie się z ich sekwencjami docelowymi w 3' regionie UTR mRNA [21]. Zaburzenie poziomu miRNA przyczyniają się zaburzeń syntezy cząsteczki białka i aktywności enzymów [22–24]. Z licznych badań wynika, że niektóre miRNA (miR-133b, miR-1, miR-7, miR-22, miR30a-5p) uczestniczą pośrednio lub bezpośrednio w regulacji poziomu białka TH [23,25,26]. Kim i wsp. w 2007 roku wykazali, że miR-133b jest zlokalizowane głównie w śródmózgowiu, co ma znaczący wpływ na różnicowanie i rozwój neuronów dopaminergicznych w tym regionie [23]. Te działania miR -133b kontroluje przez wpływ na poziom



ekspresji Pitx3, który jest czynnikiem transkrypcyjnym regulującym ekspresję TH [23].

miRNA-7 pośrednio chroni neurony dopaminergiczne poprzez regulację w górę szlaku mTOR, przez co powoduje wyciszenie ekspresji  $\alpha$ -synukleiny, kluczowego, jak się przypuszcza białka w patogenezie PD [27]. Z kolei wyciszenie miR-7 doprowadza do nadekspresji ASN i akumulacji tego białka w mózgu, co powoduje obniżenie aktywności i poziomu białka TH na drodze sygnałowej opisanej poniżej w rozdziale [24]. Na poziom białka i aktywność TH mają wpływ miR22, miR30a-5p poprzez regulację poziomu BDNF, który jest istotnym czynnikiem regulującym aktywność TH i stężenie dopaminy oraz proces neurodegeneracji neuronów dopaminergicznych [28].

#### REGULACJA AKTYWNOŚCI HYDROKSYLAZY TYROZYNOWEJ PRZEZ BDNF, TESTOSTERON ALFA – SYNUKLEINĘ

Liczne badania wskazują, że istotnymi czynnikami uczestniczącymi pośrednio lub bezpośrednio w regulacji aktywności TH i stężenia dopaminy są: BDNF, testosteron i alfa-synukleina [3,31]. Szczególnie wysoki poziom BDNF i jego specyficznych receptorów zlokalizowano w neuronach dopaminergicznych istoty czarnej. Bierze on udział w procesach związanych z neuroprotekcją, dojrzewaniem i przeżyciem neuronów dopaminergicznych [32,33]. Obniżenie stężenia BDNF we krwi, ale także testosteronu koreluje z postępowaniem zaburzeń neurologicznych i uszkodzeniem układu dopaminergicznego u osób z chorobą Parkinsona [31].

Badania dostarczyły dowodów, że BDNF odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu poziomu dopaminy i neuronów dopaminergicznych [34]. BDNF poprzez działanie na specyficzne receptory TrkB i aktywację szlaku PI3K-AKT chroni neurony przed neurotoksycznością oraz wpływa na wzrost aktywności TH [35]. Aktywacja szlaku PI3K-AKT powoduje hamowanie procesu apoptozy poprzez hamowanie BAX/cytochromu C a tym samym wzmacniany jest szlak pro-żywioty i aktywność neuronów dopaminergicznych poprzez aktywację genu TH [31]. Dodatkowo aktywacja kaskady sygnałowej PI3K-AKT/mTOR regulując syntezę białek i rozwój cytoszkieletu wzmacnia wzrost dendrytów i tworzenie nowych połączeń dendrytycznych [36]

Po połączeniu BDNF z domeną IG-C2 TrkB receptora kinazy tyrozynowej następuje autofosforylacja reszt tyrozynowych w domenie cytoplazmatycznej TrkB i aktywacja ścieżki molekularnej RAS-MAPK/PI3K-AKT [35]. Udział ścieżki RAS-MAPK jest także wymagany do aktywacji kinaz ERK1 i ERK2 i białka CREB, które jest specyficznym czynnikiem transkrypcyjnym regulującym ekspresję genu TH [37,38]. Białka CREB są aktywowane w procesie fosforylacji przez kinazy białkowe, w tym PKA, PKC i kinazę białkową zależną od AMP (AMPK) a następnie wiążą się z DNA regulując ekspresję genów w tym genu TH [38].

Na aktywność TH ma wpływ również testosteron. Aktywacja receptora androgenowego przez testosteron powoduje zwiększenie ekspresji TH i syntezy dopaminy w okolicy przyśrodkowej obszaru przedwzrokowego (MPOA) poprzez aktywację nNOS [39]. Obniżenie poziomu testo-

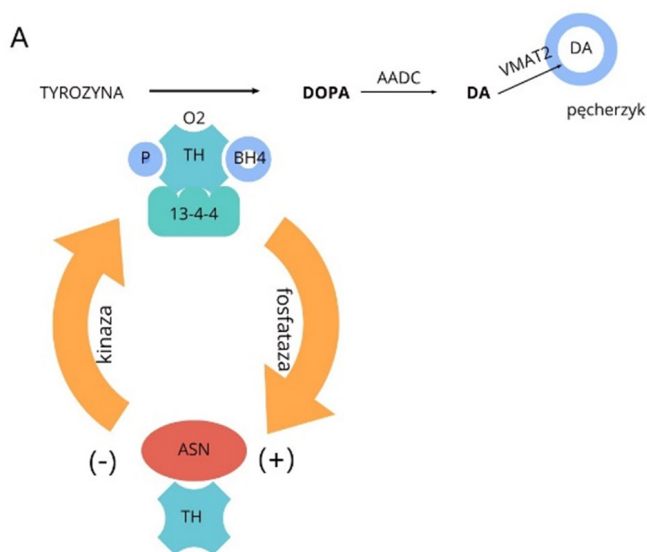
steronu w organizmie powodowało obniżenie stężenia dopaminy w układzie pozapiramidowym [40]. Odwrotnie, suplementacja małymi dawkami testosteronu częściowo zapobiega obniżeniu stężenia dopaminy w prądkowiu u szczurów z objawami parkinsonizmu oraz zmniejsza tempo jej metabolizmu [40]. Warto podkreślić, że obniżony poziom testosteronu w surowicy powoduje nie tylko utratę libido i zaburzenie funkcji seksualnych, ale także zaburzenie funkcji motorycznych, utratę masy mięśniowej, wzrost odczuwania zmęczenia oraz depresję, co może sugerować istotną rolę testosteronu w modulacji dopaminergicznego układu pozapiramidowego. Wiele z tych w/w zaburzeń występuje u pacjentów z PD. Natomiast terapia testosteronem znacznie poprawiała funkcje motoryczne, drżenie spoczynkowe (tremor), zmniejszała zmęczenie i apatię u pacjentów z PD, co może sugerować istotną rolę testosteronu w modulacji dopaminergicznego układu pozapiramidowego. Stwierdzono, że testosteron reguluje uwalnianie, syntezę i metabolizm dopaminy poprzez wzrost produkcji tlenu azotu (NO). Badania wykazały, że neurony zawierające TH i NOS są umiejscowione obok siebie w okolicy MPOA i jądra przykomorowego (PVN) [3]. Podawanie testosteronu powodowało aktywację szlaku NO/sCG/cGMP głównie poprzez wzrost ekspresji eNOS oraz poprawę funkcji motorycznych u szczurów z symptomami parkinsonizmu wywołanymi przez MPTP. Aktywacja tego szlaku NO/CG/cGMP powoduje wzrost aktywności PKG i fosforylację Ser 40 w cząsteczce białka TH i jej aktywację [41].

Kolejnym istotnym czynnikiem biorącym udział w regulacji biosyntezy dopaminy jest alfa synukleina, która zmniejsza aktywność hydroksylazy tyrozynowej. Nadekspresja alfa synukleiny powoduje polimeryzację i agregację tego białka, tworząc nierozpuszczalne ciała wtrętowe zwane ciałami Lewy'ego. Utrata rozpuszczalnej  $\alpha$ -synukleiny przez zmniejszoną ekspresję lub agregację może zwiększyć syntezę dopaminy i jej nagromadzenie w cytozolu z jednocześnie towarzyszącym temu zjawiskiem wzrostu reaktywnych metabolitów dopaminy, co prowadzi do wzrostu stresu oksydacyjnego [42]. Wiadomo, że  $\alpha$ -synukleina może wiązać się z białkiem 14-3-3 a udowodniono także, że kompleks białkowy 14-3-3 wiąże się również i aktywuje TH [43]. Kompleks białkowy 14-3-3 preferencyjnie wiąże się z fosfoserynami Ser 19 i Ser 40 TH i krótkotrwale aktywuje TH a interakcja 14-3-3 z TH na Ser 19 jest wymagana do aktywacji TH [8,44-46]. Warto podkreślić, że stwierdzono kolokalizację  $\alpha$ -synukleiny z TH z wykorzystaniem mikroskopii immunoelektronowej [42].

Alfa-synukleina może bezpośrednio wiązać się z TH, hamować jej aktywność i /lub jej fosforylację lub  $\alpha$ -synukleina może działać bezpośrednio przez aktywację fosfatazy i wpływać na fosforylację TH [42]. Dopamina poza pęcherzykami synaptycznymi oddziałuje na  $\alpha$ -synukleinę, która bierze udział w regulacji syntezy dopaminy oraz może wywierać działania toksyczne [47] (Ryc. 4).

#### MECHANIZM HAMOWANIA SPRĘŻENIA ZWROTNEGO PRZEZ KATECHOLAMINY

Dopamina również uczestniczy w regulacji aktywności TH przez ujemne sprzężenie zwrotne. Mechanizm ten polega na fosforylacji Ser 40 z udziałem dopaminy. TH podlega



**Rycina 4.** Regulacja aktywności hydroksylazy tyrozynowej (TH) przez udział ASN ( $\alpha$ -synukleina) w warunkach homeostazy. W optymalnych warunkach fizjologicznych (A) podczas reakcji konwersji tyrozyny do L-DOPA hydroksylaza tyrozynowa (TH) tworzy połączenia z białkiem opiekuńczym 14-3-3 i  $\alpha$ -synukleiną (ASN). Białko opiekuńcze 14-3-3 wiąże się z ufosforylowaną formą TH zwiększając jej aktywność, natomiast ASN łączy się z formą nieufosforylowaną TH i ma działanie hamujące. Hamowanie TH przez ASN może być skutkiem bezpośredniej interakcji poprzez wiązanie się z cząsteczką enzymu albo pośrednio poprzez hamowanie aktywności kinaz (-) i aktywację fosfataz. Rycinę opracowano na podstawie prac [42,47].

dwóm rodzajom hamowania ujemnego sprzężenia zwrotnego przez catecholaminy [6]. Po pierwsze, aktywność TH jest hamowana przez zdolność wszystkich catecholamin do konkutowania z BH4 o wiązanie atomu żelaza w miejscu katalitycznym enzymu, co hamuje interakcję tego kofaktora z miejscem wiązania w TH. Wiązanie dopaminy powoduje zmianę konformacji TH i przejście w stan R, przez co blokuje wiązanie substratów do aktywnego miejsca. Do zahamowania przez dopaminę niezbędna jest fosforylacja Arg37 i Arg38. Jest to klasyczne, kinetyczne, łatwo odwracalne hamowanie i działa jak czujnik lokalnego stężenia catecholamin. Po drugie, catecholaminy mogą wiązać się prawie nieodwracalnie z  $Fe^{2+}$  w miejscu katalitycznym TH, co zmniejsza aktywność enzymu i powoduje jego stabilizację [6]. Utrata wiązania dopaminy pozwala zredukować  $Fe^{2+}$  w BH4, przywracając w ten sposób enzym do stanu w pełni aktywnego. TH podlega hamowaniu w mechanizmie sprzężenia zwrotnego przez różne catecholaminy, ale fizjologicznie istotną rolę pełnią dopamina, noradrenalina i adrenalina, ponieważ mają najwyższe powinowactwo do miejsca wiązania BH4 [29]. Reasumując, catecholaminy hamują aktywność TH, konkurując z BH4 o katalityczne miejsce wiązania tego enzymu [30].

#### WPLYW WYSIŁKU FIZYCZNEGO NA CZYNNIKI BIORĄCE UDZIAŁ W REGULACJI AKTYWNOŚCI TH I REGULACJĘ STĘŻENIA DOPAMINY

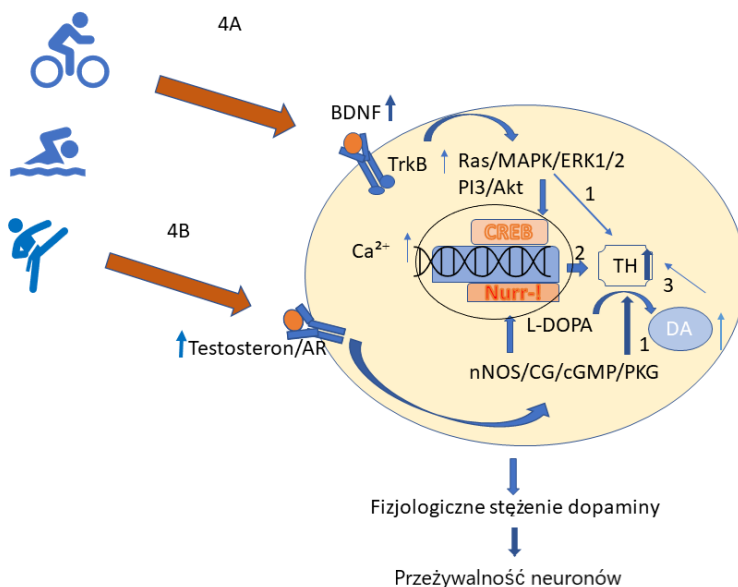
Utrzymanie odpowiedniego stężenia dopaminy w OUN przez TH jest istotne w prawidłowym działaniu funkcji motorycznych, kontroli motorycznej i funkcji kognitywnych. Zjawiska te zostały potwierdzone w licznych badaniach pacjentów z PD oraz z wykorzystaniem modeli zwierzę-

cych parkinsonizmu. Obserwowany w tych badaniach drastyczny spadek poziomu dopaminy oraz aktywności TH powodował zaburzenia motoryczne oraz kognitywne [3]. Znaczne obniżenie stężenia dopaminy, prowadzące do neurodegeneracji neuronów dopaminergicznych w strukturach pozapiramidowych obserwowano w badaniu z pozytonowym tomografem emisyjnym (PET). Zmiany te korelowały z zaburzeniami motorycznymi i stopniem zaawansowania choroby, co potwierdza istotną rolę dopaminy w regulacji funkcji motorycznych i kognitywnych [49,50]. Długotrwałe uprawiana (przez kilka miesięcy) różnego typu wzmożona aktywność fizyczna, taka jak: ćwiczenia rozciągające, karate, długotrwały trening na bieżni mechanicznej, chodzenie po górach, taniec czy nawet boks powodowały poprawę funkcji motorycznych. Te korzystne zmiany przypisuje się indukowanym wysiłkiem zmianom adaptacyjnym w organizmie, a szczególnie w mózgu u pacjentów z PD [32]. Coraz więcej pojawia się takich badań u pacjentów ze średniozaawansowanym PD poddanych intensywnemu długotrwałemu procesowi treningowemu. W tych badaniach także obserwowano poprawę stanu neurologicznego, funkcji motorycznych oraz kognitywnych [49,50]. Ten korzystny kierunek zmian obserwowany był w doświadczeniach z wykorzystaniem modeli zwierzęcych. I tak trening wytrzymałościowy u zwierząt z symptomami parkinsonizmu (szczury i myszy) wywołał poprawę aktywności motorycznych [51,52].

Z badań molekularnych i biochemicznych na ludziach i zwierzętach wynika, że proces treningowy wywołuje zmiany metabolizmu mediatorów: serotoniny, dopaminy i noradrenaliny, czynników troficznych i hormonów oraz aktywację systemu antyoksydacyjnego i zmniejszenie procesów prooksydacyjnych w prążkowiu, substancji czarnej czy mózdzku, czyli regionach mózgowia współuczestniczących w sterowaniu ruchu [14,41,53-55]. Długotrwały trening wytrzymałościowy u szczurów powodował wzrost syntezy dopaminy i aktywności TH poprzez zmianę post-transkrypcyjną (poziomu mRNA TH) oraz obniżenie metabolizmu dopaminy w układzie nigrostriatalnym [41]. Ponadto wykazano, że długotrwały intensywny proces treningowy powoduje wzrost poziomu transportera DAT i gromadzenia się 35Fluro-DOPA w układzie pozapiramidowym u pacjentów z PD [49].

Zarówno poziomy czynników neurotroficznych jak i hormonów, które biorą udział w regulacji TH i tym samym stężeniu dopaminy są podwyższone we krwi i mózgu w odpowiedzi na wysiłki fizyczne. Żołądź i wsp. w 2019 roku wykazali wzrost BDNF w surowicy u pacjentów po procesie treningowym [32]. Ten sam efekt, wzrostu stężenia BDNF we krwi obserwowano również u osób zdrowych i wytrenowanych po wysiłku fizycznym do odmowy [55]. Badania na szczurach potwierdziły, że proces treningowy powoduje wzrost ekspresji BDNF i jego receptorów TrkB oraz TH w układzie nigrostriatalnym (pozapiramidowym) i wzrost stężenia dopaminy [51]. Wywołana wysiłkiem fizycznym wyżej opisana regulacja została potwierdzona u myszy, którym wyciszono gen kodujący BDNF, co spowodowało utratę neuronów dopaminergicznych i spadek aktywności TH, a co za tym idzie, obniżenie stężenia dopaminy. Badania te potwierdzają protekcyjną rolę BDNF w ochronie neu-

#### 4. Proces treningowy/powtarzany wysiłek fizyczny



**Rycina 5.** Mechanizmy regulacji aktywności hydroksylazy tyrozynowej (TH) i stężenia dopaminy oraz wpływ wysiłku fizycznego poprzez regulację szlaków zależnych od BDNF i testosteronu w OUN.

Aktywność TH regulowana jest przez trzy główne mechanizmy: 1) post-translacyjny, z chwili na chwilę, poprzez fosforylację seryny 40, 31, 19, 8 w cząsteczce enzymu przez kinazy białkowe PKA, PKC, ERK1/2, AKT/IP3K, PKG, które zwiększają konwersję L-DOPA do dopaminy. 2) post-transkrypcyjny podlegający na długotrwałej regulacji poprzez zmiany transkrypcyjne spowodowane aktywacją czynników transkrypcyjnych: CREB i Nurr-1 i miRNA oraz 3) mechanizm regulacji zwrotnej z udziałem dopaminy. 4) Wysiłek fizyczny powoduje wzrost: 4A) poziomu BDNF aktywując zależny od receptora TrkB szlak sygnałowy MAPK/ERK1/2/IP3K/AKT odpowiedzialny za przeżycie neuronów i hamowanie apoptozy oraz fosforylację czynnika transkrypcyjnego CREB, który ulega translokacji do jądra i powoduje wzrost transkrypcji genu TH (2) 4B) testosteronu powodując aktywację szlaku NO/nNOS/sCG/cGMP /PKG i zależną od Ca<sup>2+</sup> i kalmoduliny kinazę białkową CaMK-II która może uczestniczyć w post-translacyjnej i post-transkrypcyjnej aktywacji TH i prowadzić do wzrostu stężenia dopaminy.

ronów dopaminergicznych przed neurodegeneracją oraz jej udział w regulacji aktywności TH i stężenia dopaminy [32]. Neuroprotektoryjne działanie BDNF jest wynikiem aktywacji szlaku TrkB/MAPK/ERK1/2/PI3K/Akt co wpływa także na hamowanie procesu apoptozy, obniżenie neurotoksyczności glutaminianu i stresu oksydacyjnego oraz zaangażowanie szlaku NO/cGMP/PKG w proces fosforylacji TH i jej aktywację [56]. Ponadto długotrwały trening wytrzymałościowy powoduje wzrost ekspresji zarówno receptora TrkB jak i ekspresję mRNA hydroksylazy tyrozynowej. Z kolei indukowany wysiłkiem fizycznym wyższy poziom BDNF może łatwiej połączyć się z receptorem TrkB. To wywołuje uruchomienie kaskady wewnątrzkomórkowych sygnałów aktywowanych mitogenami kinaz białkowych MAPK/ERK1,2 i zależną od wapnia i kalmoduliny kinazę białkową (CaMK-II), które są odpowiedzialne za fosforylację CREB. CREB łączy się z odpowiednią sekwencją w genie TH zwiększając jego transkrypcję, co prowadzi do zwiększenia konwersji L-tyrozyny do L-DOPA i zwiększoną syntezę dopaminy oraz blokuje proces apoptozy, sprzyjając przeżyciu neuronów dopaminergicznych [52] (Ryc. 5).

Obserwowane indukowane wysiłkiem fizycznym zwiększenie poziomu testosteronu u ludzi prowadziło do zwiększenia aktywności TH poprzez wzrost stężenia wapnia i kalmoduliny (Ca<sup>2+</sup>/CaM) w mózgu [14]. Wiadomo, że indukowany wysiłkiem fizycznym wzrost jonów wapnia we krwi powoduje ich szybką dyfuzję do OUN, czego konsekwencją jest wzrost syntezy dopaminy i serotoniny w mózgu poprzez aktywację zależnej od jonów Ca<sup>2+</sup> i kalmoduli-

ny kinazy białkowej II (CaMK-II) [14]. To z kolei powoduje zwiększenie aktywności TH poprzez jej fosforylację przez CaMK-II, PKG [11,14,41].

O współdziałaniu testosteronu w zależną od szlaku NO/nNOS/sCG/cGMP regulację aktywności TH przekonuje fakt, że wywołany kastracją niedobór testosteronu wpływa na obniżenie stężenia dopaminy w prądkowiu i zmniejszenie aktywności motorycznej w zwierzęcym modelu parkinsonizmu. Występowanie tych mechanizmów stwierdzono w różnych regionach mózgu, w tym w prądkowiu [11,14,41].

Zigmond i Smeyne (2014) wykazali, że wysiłek fizyczny zwiększa także poziom czynników troficznych (BDNF, GDNF), które są zaangażowane w regulację aktywności TH i transportera dopaminy (DAT) [53]. Należy przypuszczać, że ten mechanizm może również współuczestniczyć w regulacji wzrostu stężenia dopaminy w mózgu u chorych na PD, a tym samym zapobiegać zaburzeniom ruchowym i dalszemu rozwojowi choroby lub obniżyć tempo jej rozwoju.

#### TRANSPORT ORAZ MAGAZYNOWANIE DOPAMINY

Utrzymanie odpowiedniego stężenia dopaminy w układzie nerwowym jest bardzo ważne, gdyż prowadzi do wytwarzania toksycznych katecholochinonów [48]. Neurony minimalizują generowanie tych toksycznych metabolitów poprzez utrzymanie syntezy dopaminy na niemal optymalnych poziomach, zapewniając „na żądanie” wzrost jej



syntezy. Natomiast nadmiar dopaminy szybko jest usuwana z cytozolu neuronów dopaminergicznych przez pęcherzykowy transporter monoamin (VMAT 2) do pęcherzyków synaptycznych. Do tej funkcji VMAT 2 wykorzystuje energię z hydrolizy ATP i gradient pH [47]. Niskie pH w pęcherzykach synaptycznych zabezpiecza dopaminę przed rozkładem, a uwalniana z pęcherzyków do przestrzeni synaptycznej łączy się z receptorami dopaminergicznymi (D1 do D5) zlokalizowanymi na sąsiednich zakończeniach presynaptycznych i postsynaptycznych [47]. Z przestrzeni synaptycznej dopamina usuwana jest przez transporter dopaminy (DAT), który przenosi ją z powrotem do wnętrza komórki, gdzie pakowana jest do pęcherzyków synaptycznych w zakończeniach nerwowych [47]. Z tego powodu TH jest pod ścisłą kontrolą na poziomie post-transkrypcyjnym i post-translacyjnym.

## PODSUMOWANIE

Dopamina uczestniczy w regulacji funkcji motorycznych, psychologicznych i kognitywnych a drastyczne obniżenie poziomu dopaminy w układzie pozapiramidowym powoduje upośledzenie tych funkcji, co szczególnie obserwuje się u pacjentów z PD. Najistotniejszym mechanizmem odpowiedzialnym za utrzymanie odpowiedniego stężenia dopaminy w OUN jest tempo jej syntezy, którą kontroluje TH. Jak wykazały liczne badania BDNF i testosteron są ważnymi czynnikami regulującymi aktywność TH. Zwiększona aktywność fizyczna, w szczególności długotrwałe powtarzany wysiłek fizyczny zwiększając poziom testosteronu i BDNF we krwi, aktywuje zależne od nich szlaki sygnałowe i zwiększa aktywność TH, a tym samym podnosi poziom dopaminy w układzie pozapiramidowym. BDNF i testosteron łącząc się ze swoimi receptorami uruchamiają kaskadę wewnątrzkomórkowych sygnałów aktywowanych mitogenami: kinazę białkową MAPK/ERK1,2 i zależną od wapnia i kalmoduliny kinazę białkową (CaMK-II), które fosforylują seryny (40, 31, 19, 8) w TH lub fosforylują czynniki transkrypcyjne. Czynniki transkrypcyjne ulegają przemieszczeniu do jądra komórkowego, gdzie łączą się z odpowiednią sekwencją w genie TH zwiększając transkrypcję genu TH, co prowadzi do zwiększenia konwersji L-tyrozyny do L-DOPA i powstania dopaminy. Szlaki aktywowane przez testosteron i BDNF mogą współuczestniczyć w blokowaniu proces apoptozy, sprzyjając w przeżyciu neuronów dopaminergicznych (Ryc. 5).

## PIŚMIENNICTWO

1. van Loon, GR (1983) Plasma dopamine: Regulation and significance. *Fed Proc* 42: 3012-3018
2. Hussain T, Lokhandwala MF (2003) Renal dopamine receptors and hypertension. *Exp Biol Med* 228: 134-142
3. Chalimoniuk M, Langfort J (2021) Dopamina jako mediator układu pozapiramidowego współuczestniczący w regulacji ruchu. *Kosmos* 69: 655-661
4. Flatmark T (2000) Catecholamine biosynthesis and physiological regulation in neuroendocrine cells. *Acta Physiol Scand* 168: 1-17
5. Brady ST, Siegel GJ, Wayne Albers R, Price DL, Benjamins J, Fisher S, et al. (2012) *Basic Neurochemistry - Principles of Molecular, Cellular and Medical Neurobiology*, 8th Edition. Academic Elsevier Publishers, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, str. 467-481

6. Drożak J, Bryła J (2005) Dopamine: not just a neurotransmitter. *Postepy Hig Med Dosw* 59: 405-420
7. Dunkley PR, Bobrovskaya L, Graham ME, von Nagy-Felsobuki E, Dickson PW (2004) Tyrosine hydroxylase phosphorylation: Regulation and consequences. *J Neurochem* 91: 1025-1043
8. Zhang S, Huang T, Ilangovan U, Hinck AP, Fitzpatrick PF (2014) The solution structure of the regulatory domain of tyrosine hydroxylase. *J Mol Biol* 426: 1483-1497
9. Salvatore MF, Pruetz BS, Spann SL, Dempsey C (2009) Aging reveals a role for nigral tyrosine hydroxylase ser31 phosphorylation in locomotor activity generation. *PLoS ONE* 4: e8466
10. Nakashima A, Hayashi N, Kaneko YS, Mori K, Sabban EL, Nagatsu T. et al. (2009) Role of N-terminus of tyrosine hydroxylase in the biosynthesis of catecholamines. *J Neural Transm* 116: 1355-1362
11. Sutoo D, Akiyama K, Yabe K (2002) Comparison analysis of distributions of tyrosine hydroxylase, calmodulin and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in a triple stained slice of rat brain. *Brain Res* 933: 1-11
12. Daubner SC, Le T, Wang S (2011) Tyrosine hydroxylase and regulation of dopamine synthesis. *Arch Biochem Biophys* 508: 1-12
13. Sutoo D, Akiyama K, Yabe K (2001) Quantitative imaging of tyrosine hydroxylase and calmodulin in the human brain. *J Neurosci Res* 63: 369-376
14. Sutoo D, Akiyama K (2003) Regulation of brain function by exercise. *Neurobiol Dis* 13: 1-14
15. Lenartowski R, Goc A (2011) Epigenetic, transcriptional and posttranscriptional regulation of the tyrosine hydroxylase gene. *Neuroscience* 29: 873-883
16. Tank AW, Xu L, Chen X, Radcliffe P, Sterling CR (2008) Post-transcriptional regulation of tyrosine hydroxylase expression in adrenal medulla and brain. *Ann N Y Acad Sci* 1148: 238-248
17. Nagamoto-Combs K, Piech KM, Best JA, Sun B, Tank AW (1997) Tyrosine hydroxylase gene promoter activity is regulated by both cyclic AMP-responsive element and AP1 sites following calcium influx. Evidence for cyclic AMP-responsive element binding protein-independent regulation. *J Biol Chem* 272: 6051-6058
18. Zetterström RH, Solomin L, Jansson L, Hoffer BJ, Olson L, Perlmann T (1997) Dopamine Neuron Agenesis in *Nurr1*-Deficient Mice. *Science* 276: 248-250
19. Satoh J-i, Kuroda Y (2002) The constitutive and inducible expression of *Nurr1*, a key regulator of dopaminergic neuronal differentiation in human neural and non-neural cell lines. *Neuropathology* 22: 219-232
20. Jacobsen KX, MacDonald H, Lemonde S, Daigle M, Grimes DA, Bulman DE et al. (2008) A *Nurr1* point mutant, implicated in Parkinson's disease, uncouples ERK1/2-dependent regulation of tyrosine hydroxylase transcription. *Neurobiol Dis* 29: 117-122
21. He L, Hannon GJ (2004) MicroRNAs: Small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet* 5: 522-531
22. Bilen J, Liu N, Burnett BG, Pittman RN, Bonini NM (2006) MicroRNA pathways modulate polyglutamine-induced neurodegeneration. *Mol Cell* 24: 157-163
23. Kim J, Inoue K, Ishii J, Vanti WB, Voronov SV, Murchison E et al. (2007) A microRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons. *Science* 317: 1220-1224
24. Junn E, Lee KW, Byeong SJ, Chan TW, Im JY, Mouradian MM (2009) Repression of  $\alpha$ -synuclein expression and toxicity by microRNA-7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 13052-13057
25. Margis R, Margis R, Rieder CRM (2011) Identification of blood microRNAs associated to Parkinson's disease. *J Biotechnol* 152: 96-101
26. Mellios N, Huang HS, Grigorenko A, Rogaev E, Akbarian S (2008) A set of differentially expressed miRNAs, including miR-30a-5p, act as post-transcriptional inhibitors of BDNF in prefrontal cortex. *Hum Mol Genet* 17: 3030-3042
27. Fragkouli A, Doxakis E (2014) miR-7 and miR-153 protect neurons against MPP<sup>+</sup>-induced cell death via upregulation of mTOR pathway. *Front Cell Neurosci* 8: 182

28. Muñoz-Gimeno M, Espinosa-Parrilla Y, Guidi M, Kagerbauer B, Sipilä T, Maron E et al. (2011) Human microRNAs miR-22, miR-138-2, miR-148a, and miR-488 are associated with panic disorder and regulate several anxiety candidate genes and related pathways. *Biol Psychiatry* 69: 526–533
29. Ramsey AJ, Fitzpatrick PF (2000) Effects of phosphorylation on binding of catecholamines to tyrosine hydroxylase: Specificity and thermodynamics. *Biochemistry* 39: 773–778
30. Ramsey AJ, Fitzpatrick PF (1998) Effects of phosphorylation of serine 40 of tyrosine hydroxylase on binding of catecholamines: Evidence for a novel regulatory mechanism. *Biochemistry* 37: 8980–8986
31. Małczyńska P, Piotrowicz Z, Drabarek D, Langfort J, Chalimoniuk M (2019) Rola mózgowego czynnika neurotroficznego (BDNF) w procesach neurodegeneracji oraz w mechanizmach neuroregeneracji wywołanej wzmożoną aktywnością fizyczną. *Postepy Biochem* 65: 2–8
32. Zoladz JA, Pilc A (2010) The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: From animal to human studies. *J Physiol Pharmacol* 61: 533–541
33. Zoladz JA, Pilc A, Majerczak J, Grandys M, Zapart-Bukowska J, Duda K (2008) Endurance training increases plasma brain-derived neurotrophic factor concentration in young healthy men. *J Physiol Pharmacol* 59: 119–132
34. Palasz E, Wysocka A, Gasiorowska A, Chalimoniuk M, Niewiadomski W, Niewiadomska G (2020) BDNF as a promising therapeutic agent in Parkinson's disease. *Int J Mol Sci* 21: 1170
35. Jin W (2020) Clinical medicine regulation of BDNF-TrkB signaling and potential therapeutic strategies for Parkinson's disease. *J Clin Med* 17: 257
36. Kumar V, Zhang MX, Swank MW, Kunz J, Wu GY (2005) Regulation of dendritic morphogenesis by Ras-PI3K-Akt-mTOR and Ras-MAPK signaling pathways. *J Neurosci* 25: 11288–11299
37. Finkbeiner S, Tavazoie SF, Maloratsky A, Jacobs KM, Harris KM, Greenberg ME (1997) CREB: A major mediator of neuronal neurotrophin responses. *Neuron* 19: 1031–1047
38. Xing J, Kornhauser JM, Xia Z, Thiele EA, Greenberg ME (1998) Nerve growth factor activates extracellular signal-regulated kinase and p38 mitogen-activated protein kinase pathways to stimulate CREB serine 133 phosphorylation. *Mol and Cell Biol* 18: 1946–1955
39. Du J, Hull EM (1999) Effects of testosterone on neuronal nitric oxide synthase and tyrosine hydroxylase. *Brain Res* 836: 90–98
40. Wesolowska-Waliszewska J (2012) Wpływ niedoboru testosteronu na zależną od szlaku NO/sCG/cGMP regulację stężenia dopaminy prązkowia w doświadczalnym modelu parkinsonizmu. Praca doktorska. Wojskowy Instytut Medyczny. Warszawa
41. Langfort J, Chalimoniuk M, Kania D, Lukacova N and Chrapusta SJ (2013) Endurance training counteracts MPTP treatment-related changes in midbrain contents of dopamine and dopamine metabolites and in parvalbumin expression. XX World Congress on Parkinsons Disease and Related Disorders, Geneva, 135: 8–11
42. Perez RG, Hastings TG (2004) Could a loss of  $\alpha$ -synuclein function put dopaminergic neurons at risk? *J Neurochem* 89: 1318–1324
43. Ichimura T, Isobe T, Okuyama T, Takahashi N, Araki K, Kuwano R. et al. (1988) Molecular cloning of cDNA coding for brain-specific 14-3-3 protein, a protein kinase-dependent activator of tyrosine and tryptophan hydroxylases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 85: 7084–7084
44. Muslin AJ, Xing H (2000) 14-3-3 Proteins: Regulation of subcellular localization by molecular interference. *Cell Signal* 12: 703–709
45. Kleppe R, Toska K, Haavik J (2001) Interaction of phosphorylated tyrosine hydroxylase with 14-3-3 proteins: Evidence for a phosphoserine 40-dependent association. *J Neurochem* 77: 1097–1107
46. Itagaki C, Isobe T, Taoka M, Natsume T, Nomura N, Horigome T. et al. (1999) Stimulus-coupled interaction of tyrosine hydroxylase with 14-3-3 proteins. *Biochemistry* 38: 15673–15680
47. Kaźmierczak A, Adamczyk A, Strosznajder JB (2007) Udział alfa-synukleiny w funkcji układu dopaminergicznego. *Postepy Biol Komórki* 34: 377–390
48. Hastings TG, Zigmond MJ (1994) Identification of catechol-protein conjugates in neostriatal slices incubated with (3H)dopamine: impact of ascorbic acid and glutathione. *J Neurochem* 63: 1126–1132
49. Pirker W, Djamshidian S, Asenbaum S, Gerschlager W, Tribl G, Hofmann M et al. (2002) Progression of dopaminergic degeneration in Parkinson's disease and atypical parkinsonism: A longitudinal  $\beta$ -CIT SPECT study. *Mov Disord*. 17: 45–53
50. Ziebell M, Khalid U, Klein AB, Aznar S, Thomsen G, Jensen P et al. (2012) Striatal dopamine transporter binding correlates with serum BDNF levels in patients with striatal dopaminergic neurodegeneration. *Neurobiol Aging* 33: 428.e1–428.e5
51. Kania D (2015) Wpływ treningu wytrzymałościowego na syntezę i metabolizm dopaminy w śródmózgowiu w doświadczalnym modelu parkinsonizmu. Akademia Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach, Katowice
52. Palasz E, Niewiadomski W, Gasiorowska A, Wysocka A, Stepniewska A, Niewiadomska G (2019) Exercise-induced neuroprotection and recovery of motor function in animal models of Parkinson's disease. *Front Neurol* 110: 1143
53. Zigmond MJ, Smeyne RJ (2014) Exercise: Is it a neuroprotective and if so, how does it work? *Parkinsonism Relat Disord* 1: S123–S127
54. Piotrowicz Z, Chalimoniuk M, Płoszczyca K, Czuba M, Langfort J (2020) Exercise-induced elevated BDNF level does not prevent cognitive impairment due to acute exposure to moderate hypoxia in well-trained athletes. *Int J Mol Sci* 21: 1–18
55. Chalimoniuk M, Chrapusta SJ, Lukačova N, Langfort J (2015) Endurance training upregulates the nitric oxide/soluble guanylyl cyclase/cyclic guanosine 3',5'-monophosphate pathway in the striatum, midbrain and cerebellum of male rats. *Brain Res* 1618: 29–40
56. Numakawa T, Suzuki S, Kumamaru E, Adachi N, Richards M, Kunugi H (2010) BDNF function and intracellular signaling in neurons. *Histol Histopathol* 25: 237–258



# Post-translational and post-transcriptional mechanisms of activity regulation of tyrosine hydroxylase in the central nervous system – the effect of physical exercise

Iwona Przybylska<sup>1</sup>✉, Damian Kania<sup>2</sup>, Piotr Tymosiewicz<sup>1</sup>, Józef Langfort<sup>3</sup>, Małgorzata Chali-moniuk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiotherapy, Faculty of Physical Education and Health in Białą Podlaska

<sup>2</sup>Institute of Physiotherapy and Health Sciences, The Jerzy Kukuczka Academy of Physical Education in Katowice,

<sup>3</sup>Institute of Sport Sciences, The Jerzy Kukuczka Academy of Physical Education in Katowice

✉Corresponding author: iwona.przybylska@awf-bp.edu.pl

Key words:

Numerous studies indicate that dopamine (DA) is an important regulator of motor, psychological and cognitive functions. Maintaining the appropriate concentration of DA is a condition for the proper functioning of these functions. Tyrosine hydroxylase is involved in the control of DA synthesis. The aim of this study is to discuss the regulation of TH activity with the participation of three main mechanisms: 1) post-translational immediate regulation by phosphorylation of various sites in the enzyme molecule and 2) post-transcriptional with the participation of transcription factors and specific miRNAs, and 3) a DA mediated feedback mechanism. Important factors which are directly or indirectly involved in these regulations of TH activity and DA concentration are BDNF, testosterone, alpha-synuclein and protein kinases. A drastic reduction in DA levels in the extrapyramidal system causes drastic impairment of motor, psychological and cognitive functions. On the other hand, increased physical activity, in particular prolonged repetitive physical exercises by increasing the level of testosterone and BDNF in the blood, may activate signaling pathways dependent on them, increasing the activity of tyrosine hydroxylase, and thus increase the level of dopamine in the extrapyramidal system.

