

Zaburzenia szlaku sygnałowego Wnt w patogenezie schizofrenii

Disturbances of the Wnt signalling pathway in the pathogenesis of schizophrenia

Bożena Gabryel

Zakład Farmakologii, Katedra Farmakologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Neuropsychiatria i Neuropsychologia 2008; 3, 3–4: 133–140

Adres do korespondencji:

dr n. farm. Bożena Gabryel
Zakład Farmakologii, Katedra Farmakologii
Śląski Uniwersytet Medyczny
ul. Medyków 18, 40-752 Katowice
e-mail: bgabryel@interia.pl

Streszczenie

Teoria neurorozwojowa schizofrenii zakłada, że interakcje między czynnikami genetycznymi i środowiskowymi występujące na wczesnym etapie rozwoju mogą negatywnie wpływać na wzrost neuronów, ich uwarstwienie oraz ułożenie przestrzenne, co skutkuje poważnymi zaburzeniami cytoarchitektury mózgu. Szlak Wnt odgrywa podstawową rolę w prawidłowym rozwoju ośrodkowego układu nerwowego. Uważa się, że nieprawidłowości w sygnalizacji Wnt są przyczyną zmian w cytoarchitekturze mózgu obserwowanych w schizofrenii. W artykule dokonano przeglądu bieżących danych odnośnie do zaburzeń w kaskadzie sygnalizacyjnej Wnt, które mogą być przyczyną anomalii neurorozwojowych w schizofrenii.

W pierwszej części artykułu omówiono szlak kanoniczny wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału Wnt. Następnie dokonano przeglądu ostatnio opublikowanych prac dotyczących potencjalnej roli tej ścieżki sygnałowej w patogenezie schizofrenii. Na koniec przytoczono wyniki najnowszych badań przedklinicznych dotyczących wpływu neuroleptyków na główne białka szlaku Wnt.

Słowa kluczowe: schizofrenia, hipoteza neurorozwojowa, szlak sygnałowy Wnt, leki neuroleptyczne

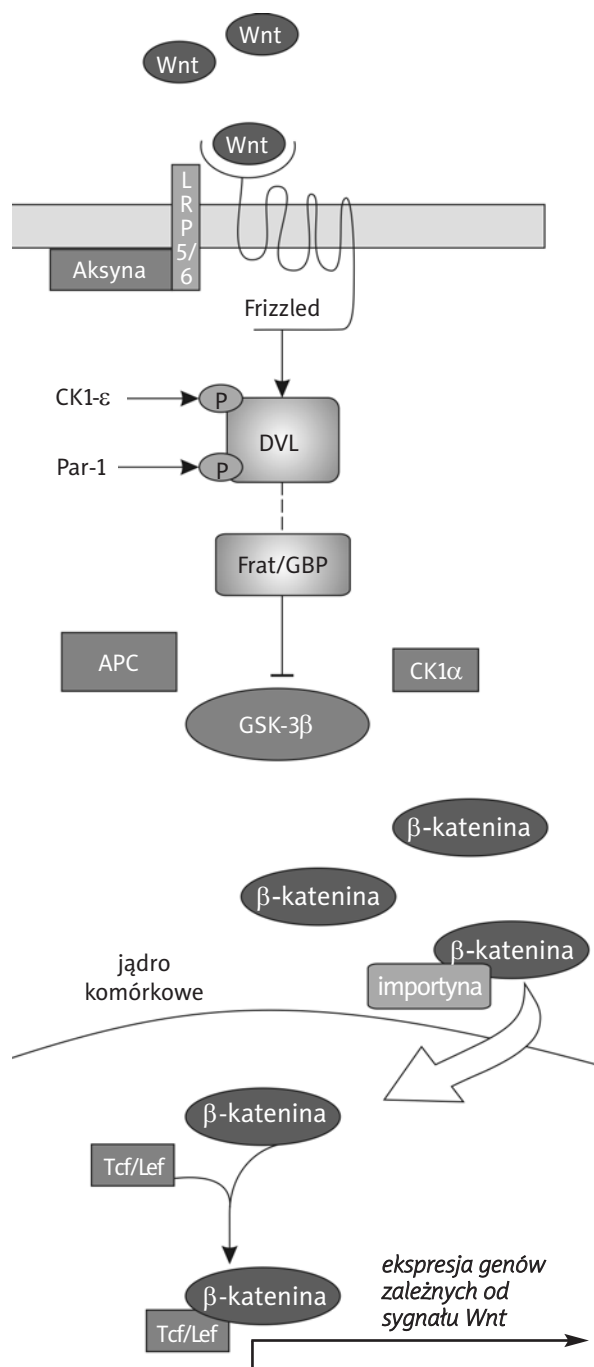
Abstract

The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia proposes that interactions between genetic and environmental events occurring during the critical early period of brain development may negatively influence neuronal growth, lamination and orientation, resulting in cytoarchitectural defects. The Wnt signalling pathway is essential for normal embryonic development of the central nervous system. Disturbances of Wnt signalling have been thought to be involved in producing the cytoarchitectural defects observed in schizophrenia. This article reviews current data on the alteration in the Wnt transduction cascade, which may represent an aberrant neurodevelopment in schizophrenia. Firstly, the canonical Wnt signalling cascade is described. Secondly, recently published studies on the potential role of the Wnt pathway in schizophrenia pathology are reviewed. Finally, the results of the latest experimental studies on the influence of antipsychotics on the main protein of the Wnt pathway are outlined.

Key words: schizophrenia, neurodevelopmental hypothesis, Wnt signalling, antipsychotic drugs

Pojawiające się w ostatnich latach liczne prace doświadczalne i kliniczne dotyczące szlaku sygnalizacji Wnt dowodzą znacznego zainteresowania środowiska medycznego jego rolą. Białka Wnt są grupą mało zmieniających się w procesie ewolucji białek sekrecyjnych, stanowiących molekuly sygnalizacyjne regulujące interakcje między komórkami w procesie embriogenezy. Białka Wnt wiążą się z receptorami rodziny Frizzled, których pobudzenie, poprzez kaskadę wielu przełączni-

ków w cytoplazmie, ostatecznie prowadzi do aktywacji β -kateniny, która wnika wówczas do jądra, tworząc kompleksy z wiążącym się z DNA białkiem Tcf (*T-cell factor*), aktywując transkrypcję docelowych genów Wnt (Nusse i wsp. 1999). Zaburzenia w obrębie tej ścieżki wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału leżą u podstaw zaburzeń rozwojowych, procesów onkogennych, a także schorzeń neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera czy choroba Huntingtona.



Ryc. 1. Szlak kanoniczny Wnt. Opis w tekście

Stosunkowo nowa jest teza o znaczeniu sygnalizacji Wnt w regulacji neurogenezy, neuroplastyczności i wrażliwości komórek nerwowych (Lie i wsp. 2005). Według koncepcji neurorozwojowej, postulowanej przez Lipską i Weinbergera (2002), u podstaw schizofrenii leżą nieprawidłowości w rozwoju mózgu, dlatego interesujący wydaje się udział szlaku wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału Wnt w jej patogenezie ze

względu na istotną rolę, jaką odgrywa w trakcie ontogenezy. W niniejszym artykule omówiono nieprawidłowości w obrębie ścieżki kanonicznej Wnt stwierdzone w schizofrenii. Szczególną uwagę zwrócono na dwa jej elementy – GSK-3 i β -kateninę – jako miejsca wewnątrzkomórkowego oddziaływania leków antypsychotycznych.

Szlak Wnt

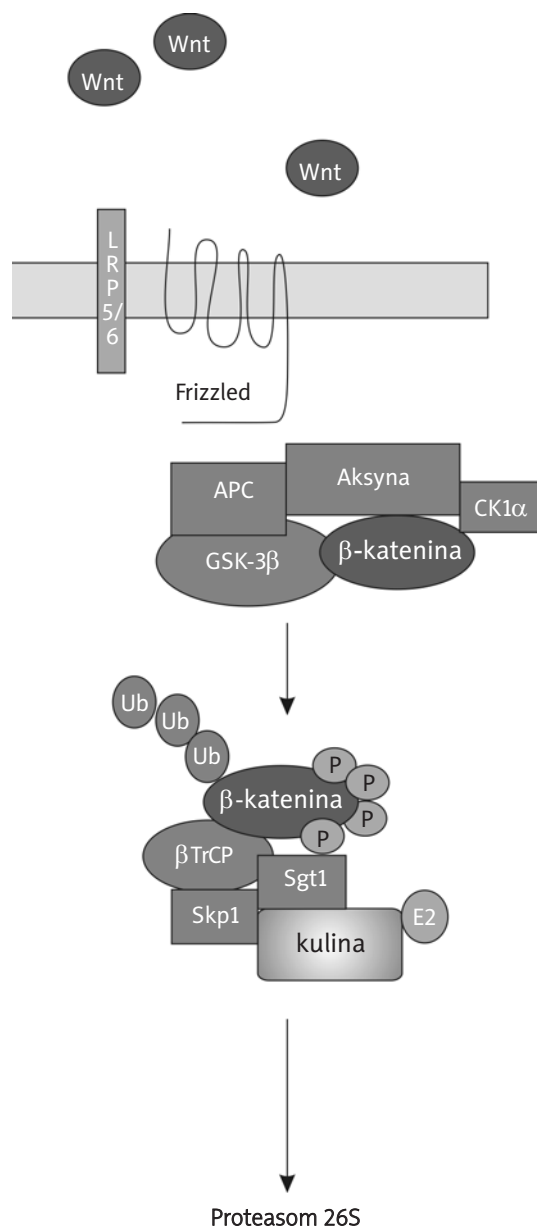
Termin Wnt powstał z połączenia nazw genów *wingless* (ang. bezskrzydły) oraz *int-1* występujących odpowiednio u *Drosophila* sp. i ssaków, które kodują bogate w cysteinę, sekrecyjne glikoproteiny Wnt (Du i wsp. 1995). Białka Wnt kodowane przez *wingless* i *int-1* wykazują podobną sekwencję aminokwasową. Do tej pory zidentyfikowano 19 glikoprotein należących do rodziny Wnt na podstawie zgodności w sekwencji aminokwasowej, mimo iż mogą one wykazywać odmienne właściwości funkcjonalne. Zostały one sklasyfikowane w dwie grupy: glikoproteiny onkogenne aktywujące opisaną poniżej ścieżkę kanoniczną, zależną od proto-onkogenu – β -kateniny (Wnt-1, -3A, -8, -8B) – oraz glikoproteiny pozbawione właściwości transformujących (aktywujące szlak niekanoniczny nieomówiony w niniejszej pracy) i działające antagonistycznie wobec białek pierwszej grupy (Wnt-4, -5a, -11). Białka z rodziny Wnt działają auto- i parakrynnie, pobudzając komórki do proliferacji, różnicowania i przeżycia, a w trakcie rozwoju układu nerwowego są zaangażowane w procesy, takie jak adhezja komórek i formowanie synaps (Cadigan i wsp. 2006; Ciani i Salinas 2005; Lamparska-Przybyś i wsp. 2006).

W komórce β -katenina pełni dwie podstawowe funkcje: składnika międzykomórkowych połączeń adhezyjnych i czynnika transkrypcyjnego w szlaku sygnałowym Wnt. W adhezji komórek β -katenina jest łącznikiem pomiędzy transbłonową cząsteczką E-kadheryny a cytoskieletem aktynowym za pośrednictwem α -kateniny (Kemler 1993). Natomiast działanie wolnej β -kateniny jako czynnika transkrypcyjnego w szlaku Wnt zależy od jej stężenia w cytoplazmie, który jest regulowany stopniem proteosomalnej degradacji.

Szlak kanoniczny rozpoczyna połączenie glikoproteiny Wnt z receptorem serpentynowym o siedmiu domenach transbłonowych – Frizzled (Fzd) (ryc. 1.). Sygnał zostaje przekazany do wnętrza komórki dopiero po związaniu kompleksu Wnt-Frizzled przez koreceptor LRP5/6 z rodziny receptorów LDL (*low-density*

lipoprotein), który uprzednio musi ulec fosforylacji przez CK I- γ (kinaza kazeinowa I- γ , *Casein Kinase I- γ*) (Fiol i wsp. 1987; Cadigan i wsp. 2006). Ten sygnał jest przenoszony na białko cytoplazmatyczne Dishevelled (Dvl), ulegające fosforylacji przy udziale kinaz Par-1 i CK1- ϵ . Fosforylacja Dvl zwiększa jego afinitę do kompleksu Frat1/GBP (*GSK binding protein*), hamującego kinazę serynowo-treoninową GSK-3 β (kinaza syntazy glikogenu 3, *glycogen synthase kinase-3*) (Hino i wsp. 2003). W konsekwencji nieufosforylowana, wolna β -katenina gromadzi się w cytozolu, a następnie przy udziale importyn ulega translokacji do jądra komórkowego (Brembeck i wsp. 2006). Poziom wolnej β -kateniny w cytoplazmie jest zatem regulowany przez aktywną GSK-3 β . Interakcja z czynnikami transkrypcyjnymi Tcf/Lef (*T-cell factor/lymphocyte enhance factor-1*) w jądrze komórkowym w wyniku utworzenia kompleksu transkrypcyjnego z udziałem domeny transaktywacji β -kateniny (której nie mają białka Tcf/Lef) powoduje wzrost ekspresji genów docelowych. W rezultacie uruchamiana jest ekspresja wielu genów m.in.: *c-jun*, *c-myc*, *fra-1*, cykliny D1, *groucho*, CBP/p300, nukleoplazmina, *frizzled* i folistatyna (Gould i wsp. 2007; Hurlstone i Clevers 2002). Geny te pełnią ważną funkcję w regulacji cyklu komórkowego, apoptozy, proliferacji i progresji nowotworowej. Zdolność β -kateniny do nasilania transkrypcji genów nie ogranicza się jednak tylko do tworzenia kompleksu z Tcf/Lef. Białko β -katenina oddziałuje także z licznymi receptorami jądrowymi, tj. receptorami estrogenowymi i androgenowymi, receptorami dla kwasu retinowego, witaminy D, tyroksyny i glukokortykoidów (Gould i wsp. 2007; Mendez i Garcia-Segura 2006).

Przy braku aktywacji ścieżki kanonicznej, β -katenina jest ubikwitynowana i degradowana w proteasomie 26S (ryc. 2.). W skład kompleksu ubikwitynującego β -kateninę wchodzi białka: APC (*adenomatous polyposis coli*), aksyna oraz kinazy: GSK-3 β i CK1 α (Davies i wsp. 2001). Fosforylacja β -kateniny na Ser45 przez CK1 α wyprzedza kolejne fosforylacje (Thr41, Ser37, Ser33) przez GSK-3 β . Ma ona na celu „naznaczenie” β -kateniny jako właściwego substratu dla GSK-3 β (Fiol i wsp. 1987; Liu i wsp. 2002). Ufosforylowana β -katenina jest rozpoznawana przez białko β -TrCP zawierające powtórzenia β -transducyny (ang. *β -transducin repeats-containing protein*), będące składnikiem ligazy E3 ubikwityny, którym jest w tym przypadku kompleks SCF (składa-



Ryc. 2. Szlak ubikwitynylacji β -kateniny. Opis w tekście

jący się oprócz β -TrCP z białek: Sgt1, Skp1 i kuliny) (Brembeck i wsp. 2006). Nie dochodzi zatem do translokacji β -kateniny do jądra komórkowego i aktywacji kompleksu transkrypcyjnego Tcf/Lef. Wobec braku β -kateniny, Tcf/Lef-1 pełni dwie zasadnicze funkcje: represora transkrypcji genów docelowych i aktywatora deacetylazy histonowej (HDAC, ang. *histone deacetylase*), co wpływa na zmniejszenie dostępności genów na skutek nasilenia deacetylacji histonów (Clevers i van de Wetering 1997).

Zaburzenia sygnalizacji Wnt w schizofrenii

Teoria neurorozwojowa schizofrenii zakłada, że interakcje między czynnikami genetycznymi i środowiskowymi występujące na wczesnym etapie rozwoju mogą negatywnie wpływać na wzrost neuronów, ich uwarstwienie oraz ułożenie przestrzenne, co skutkuje poważnymi zaburzeniami cytoarchitektury mózgu. Nieprawidłowości mające początek w okresie płodowym ulegają utrwaleniu w okresie okołoporodowym, a do ich pełnej ekspresji pod postacią objawów klinicznych schizofrenii dochodzi we wczesnej dorosłości (Arnold i Trojanowski 1996). Podstawowymi dowodami potwierdzającymi koncepcję neurorozwojową patogenezy schizofrenii są:

- zmiany morfologiczne mózgu stwierdzone u schizofreników (ubytki kory czołowej i hipokampa, poszerzenie komór, wyraźnie mniejsza liczba neuronów w warstwach VI kory przedczołowej, V kory obręczy i III kory ruchowej),
- deficyty neuromotoryczne, językowe i poznawcze występujące w dzieciństwie,
- komplikacje w okresie prenatalnym i okołoporodowym (niedotlenienie, głódzenie, infekcje wirusowe i bakteryjne, zwłaszcza podczas drugiego trymestru, niska masa urodzeniowa) stanowiące biologiczne czynniki ryzyka zachorowania,
- anomalie fizyczne dotyczące budowy rąk, uszu, stóp lub twarzy (wysoko sklepione podniebienie, fałd nakątny na powiece, pochylenie szczeliny oczu, nieprawidłowości w budowie łuków twarzowych), które częściej obserwuje się u chorych na schizofrenię niż w normalnej populacji (Brixey i wsp. 1993; Kozlovsky i wsp. 2002).

Najwięcej prac doświadczalnych i klinicznych dotyczących szlaku Wnt wskazuje na zaburzenia w schizofrenii ekspresji i aktywności GSK-3, stanowiącej kluczowy jego element. GSK-3 jest kinazą serynowo/treoninową fosforylującą liczne czynniki transkrypcyjne, enzymy i elementy cytoszkieletu. U ssaków występują dwie izoformy GSK-3: α i β kodowane przez geny zmapowane odpowiednio na chromosomie 19 i 3, o 85-procentowej zgodności sekwencji aminokwasowej i 98-procentowej homologii w obrębie domeny katalitycznej (Shaw i wsp. 1998). Mimo dużego podobieństwa (ale nie zawsze identycznej funkcji biologicznej) znacznie więcej prac badawczych jest poświęconych udziałowi izoformy β GSK w patogenezie schizofrenii.

Rola GSK-3 nie jest tylko ograniczona do szlaku Wnt/ β -katenina. Enzym ten jest umiejscowiony na skrzyżowaniu trzech kaskad wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału: szlaku Wnt, sygnalizacji insuliny oraz sygnału neurotrofinowego. Aktywność konstytutywna GSK-3 wynika z fosforylacji tyrozyny Tyr279/216 (odpowiednio dla izoformy α i β). Podlega ona dynamicznej regulacji poprzez kinazę Akt, która fosforyluje resztę serynową końca aminowego białka (Ser21/9), co skutkuje inhibicją enzymu. Defosforylacja ufosforylowanej GSK-3 β (p-GSK-3 β) zachodzi z kolei przy udziale fosfatazy białkowej 1 (PP 1, ang. *protein phosphatase 1*). Zahamowanie aktywności GSK-3 β następuje po pobudzeniu ścieżki PI-3K/Akt (kinazy 3-fosfatydyloinozytolu/Akt, ang. *phosphatidylinositol-3-kinase/Akt*) przez neurotrofiny i insulinę (Ding i wsp. 2000). W ścieżce Wnt/ β -katenina główną rolę w inaktywacji GSK-3 odgrywa natomiast białko Dvl (ryc. 1.). Jednak i w tym przypadku Akt może współdziałać z Dvl jako ważny regulator sygnalizacji Wnt. Jak wykazali Fukumoto i wsp. (2001), uaktywniona Akt może wiązać się do kompleksu aksyna-GSK-3 β w obecności Dvl, fosforylować GSK-3 β i zwiększać stężenie wolnej β -kateniny.

U ssaków podczas ontogenezy zachodzą istotne zmiany w ekspresji GSK-3, a zaburzenie aktywności enzymu w różnych jej okresach może mieć istotne znaczenie dla rozwoju schizofrenii. Stwierdzono, że w mózgu szczura w okresie embrionalnym ekspresja GSK-3 β pojawia się w 10. dniu (E10), osiągając najwyższy poziom między E10 a 10. dniem po urodzeniu (P10). Następnie stopniowo ulega ona obniżeniu i jest najniższa w okresie dorosłości (Leroy i Brion 1999). We wzrastających neuronach wysoką ekspresję GSK-3 β stwierdzono w perikarionach, proksymalnych dendrytach i stożkach wzrostu aksonów. Silna ekspresja GSK-3 β podczas okresu pre- i okołонатального jest związana z jej dużą aktywnością enzymatyczną. To z kolei wskazuje na nasiloną fosforylację substratów przeprowadzaną przez enzym, którymi (oprócz β -kateniny) są m.in.: neuronalna cząsteczka adhezyjna (N-CAM, ang. *neuronal cell adhesion molecule*), białko związane z mikrotubulami (MAP1B, ang. *microtubule associated protein*), synapsyna I, neurofilamenty (NFs), c-Jun, NFAT, CREB, eIFB- ϵ i białko szoku cieplnego 1 (HSF-1, ang. *heat shock factor 1*) (Kozlovsky i wsp. 2002; Gould i wsp. 2007). Także w dorosłym mózgu szczura potwierdzono obecność GSK-3 β w neuronach we wszystkich obszarach, ale nie w astrocytach. Immunoreaktywność en-

zemu wykryto zarówno w strukturach korowych, jak i podkorowych, mózdzku i pniu mózgu. Tak szeroki zakres ekspresji sugeruje, że w dorosłym mózgu GSK-3 β jest zaangażowana w regulacyjne ścieżki sygnalizacyjne wspólne dla wszystkich komórek neuronalnych.

W schizofrenii dochodzi do zmian w lokalizacji lub ekspresji różnych elementów ścieżki sygnałowej Wnt, głównie w obrębie kory mózgowej, podkadki i hipokampa (warstwy komórek piramidowych pola CA3 i CA4) w porównaniu z osobami zdrowymi (De Ferrari i Moon 2006). Mogą być one przyczyną defektów strukturalnych charakterystycznych dla schizofrenii. Glikoproteiny Wnt odgrywają podstawową rolę w prawidłowym rozwoju centralnego układu nerwowego przez kontrolę migracji i różnicowania neuronów oraz przebudowę połączeń synaptycznych (Cotter i wsp. 1998; Kozlovsky i wsp. 2000). Miyaoka i wsp. (1999) w badaniach *post mortem* wykazali u pacjentów schizofrenicznych wzrost liczby neuronów piramidowych zawierających Wnt-1 w hipokampie (CA3 i CA4). Zwiększenie immunoreaktywności białka Wnt-1 sugeruje zmiany plastyczności tej struktury w mózgu schizofrenicznym. W korze mózgowej chorych stwierdzono natomiast zahamowanie ekspresji genów odpowiedzialnych za syntezę endogennych inhibitorów przekazu sygnału Wnt, takich jak białko DKK3 (ang. *dickkopf-3*) i sFRP-2 (ang. *soluble Frizzled-related protein-2*) (Ftough i wsp. 2005). Skutkiem jest osłabienie aktywności enzymatycznej GSK-3 prowadzące do akumulacji β -kateniny, która po połączeniu z czynnikami transkrypcyjnymi Tcf/Lef, podczas rozwoju neuronalnego pobudza w nieodpowiednim czasie transkrypcję genów Wnt-zależnych (Kozlovsky i wsp. 2002).

Konsekwencją redukcji aktywności GSK-3 jest też zmniejszenie fosforylacji N-CAM, odgrywającej ważną rolę w procesach neurorozwojowych, tj. wzrost aksonów, stabilizacja synaps i migracja komórek (Mackie i wsp. 1989; Hall i wsp. 2002). Spadek ekspresji N-CAM może zatem stanowić wyjaśnienie zmian orientacji przestrzennej komórek w hipokampie charakterystycznych dla schizofrenii (Barbeau i wsp. 1995). GSK-3 fosforyluje również białko MAP1B, będące głównym składnikiem cytoszkieletu neuronów i zaangażowane w wydłużanie aksonów oraz polarność komórek neuronalnych. Zdolność MAP1B do wiązania z mikrotubulami w celu reorganizacji cytoszkieletu zależy od stanu jego ufosforylowania, który w wydłużanych aksonach i stożkach wzrostu podlega regulacji zarówno przez GSK-3 α , jak i GSK-3 β (García-Pérez

i wsp. 1999). W schizofrenii obserwowano wzrost nieufosforylowanej formy tej proteiny w podkadce hipokampa (Cotter i wsp. 1998).

Ostatnie dane pochodzące z badań farmakogenetycznych sugerują ponadto związek pomiędzy polimorfizmem powtórzeń sekwencji (CAA) $_n$ w obrębie intronu 1 genu kodującego GSK-1 β (3q 13.3) a typem schizofrenii. Shaw i wsp. (1998) stwierdzili częstsze występowanie schizofrenii paranooidalnej u heterozygot (CAA) $_3$ /(CAA) $_5$.

Niedawno Lovestone i wsp. (2007) zaproponowali interesującą koncepcję łączącą neurorozwojową i dopaminową teorię schizofrenii, według której wczesne osłabienie aktywności GSK-3 ma konsekwencje neurorozwojowe, które predysponują do choroby, natomiast wzrost aktywności GSK-3 w dorosłym mózgu wpływa (oprócz promowania apoptozy neuronów) na sygnalizację dopaminergiczną, powodując objawy psychotyczne i dysfunkcje poznawcze. To może zatem tłumaczyć zmiany w ekspresji mRNA i białka GSK-3, fosforylacji GSK-3 oraz jej aktywności enzymatycznej stwierdzone w badaniach *post mortem* mózgow chorych na schizofrenię (Cotter i wsp. 1998; Kozlovsky i wsp. 2000; Beasley i wsp. 2001). W schizofrenii u dorosłych stopniowo osłabieniu ulega proces fosforylacji reszt serynowych GSK-3 β (o ok. 40%), co prowadzi do nasilenia jej aktywności i zmniejszenia ekspresji β -kateniny. Redukcję ekspresji β -kateniny w polach CA3 i CA4 hipokampa w schizofrenii stwierdzili m.in. Cotter i wsp. (1998). Przez domeny powtórzeń DHR β -katenina wiąże się z receptorem NMDA, którego C-końcowa domena jest połączona z białkiem zakończeń postsynaptycznych PSD-95. Progresywne zmniejszenie stężenia β -kateniny może być zatem przyczyną zaburzeń w transmisji glutaminianergicznego w korze przedczołowej i hipokampie występujących w schizofrenii, a potwierdzonych osłabieniem ekspresji synaptofizyny i GAP 43 jako markerów synaptogenezy i *sproutingu*, czyli tworzenia i wzrostu nowych rozgałęzień aksonów (Eastwood i wsp. 2000; Lehner i wsp. 2003).

Dostępne są także dane świadczące o związku dysfunkcji innego elementu szlaku Wnt – białka Dvl – ze schizofrenią. Zidentyfikowano trzy izoformy Dvl: Dvl-1, -2 i -3, ale do tej pory nie odkryto, jak różnią się one funkcjonalnie (Semenov i Synder 1997). Istotne zaburzenia interakcji społecznych i sensomotorycznych wykryto natomiast u myszy z brakiem genu kodującego białko Dvl-1 (22q.11) (Lijam i wsp. 1997). U ludzi mikrodelecje w obrębie odcinka q11 chromosomu 22 charakterystyczne dla ze-

społu Di George'a są związane (w przybliżeniu) z 30-krotnym wzrostem ryzyka zachorowania na schizofrenię i często wykrywa się je u pacjentów schizofrenicznych (Bassett i wsp. 2001).

Wyniki ostatnio przeprowadzonych eksperymentów na myszach pozbawionych genu kodującego transporter dopaminy (model zwierzęcy schizofrenii) sugerują, że przyczyną wzrostu aktywności GSK-3 β obserwowanej u chorych ze schizofrenią może być deregulacja sygnalizacji Akt (Bealieu i wsp. 2005). W kilku badaniach kohortowych wykazano, że haplotyp izoformy kinazy Akt – Akt1 – jest związany z podatnością na schizofrenię. Także w badaniach *post mortem* mózgów schizofreników stwierdzono zmniejszenie ekspresji i aktywności tego enzymu (Emamian i wsp. 2004). Istotny w omawianym kontekście jest także fakt, że zahamowanie kinazy Akt następuje na skutek stymulacji receptorów dopaminergicznych D₂, powodując w efekcie końcowym nasilenie aktywności GSK-3 (Bealieu i wsp. 2005).

Aktywacja ścieżki kanonicznej Wnt przez leki antypsychotyczne

Ostatnie dane wskazują, że leki antypsychotyczne poprzez antagonizowanie aktywności dopaminergicznej i/lub serotoninerdycznej mogą wywierać wpływ na GSK-3 (Roh i wsp. 2007). Wyniki prac doświadczalnych potwierdzają, że zarówno typowe, jak i atypowe leki antypsychotyczne nasilają hamującą fosforylację GSK-3 na Ser21/9 oraz zwiększają ekspresję jądrowej β -kateniny (Kang i wsp. 2004).

Mechanizm prowadzący do korekcji zaburzeń równowagi pomiędzy kinazami Akt i GSK-3 jest odmienny dla neuroleptyków typowych i atypowych. Uważa się, że klasyczne neuroleptyki zapobiegają głównie redukcjom aktywności Akt poprzez blokowanie receptorów D₂. Neuroleptyki atypowe mogą z kolei albo aktywować kinazę Akt, albo też naśladować jej działanie przez zwiększenie fosforylacji substratów: GSK-3 α lub GSK-3 β (Kang i wsp. 2004). Atypowe antypsychotyki wyróżnia od leków typowych zredukowana afinicja i mniejsza specyficzność wobec receptorów D₂. Kilka z nich (olanzapinę, risperidon, kwetiapinę, ziprazidon) charakteryzuje także wysokie powinowactwo do receptorów serotoninerdycznych 5-HT_{2A}.

Wykazano, że typowy neuroleptyk haloperidol oraz neuroleptyki atypowe: risperidon i klopazyna, zwiększają ekspresję p-GSK-3 β i β -kateniny w korze przedczołowej oraz białek Div-3, β -kateniny i p-GSK-3 w neuronach dopa-

minowych w śródmózgowiu brzuszonym mózgu szczura po podaniu przewlekłym (Alimohamad i wsp. 2005). Raklopryd – antagonist receptorów dopaminergicznych D₂ – wykazywał podobny kierunek zmian do obserwowanych po podaniu neuroleptyków, co potwierdza, iż są one skutkiem blokady tych receptorów.

Sutton i wsp. (2007) po podaniu haloperidolu i klopazyny obserwowali zarówno w warunkach *in vivo* (szczury), jak i *in vitro* (komórki PC12 *pheochromocytoma* i SH-SY5Y *neuroblastoma*) także większe całkowite stężenie białka Dvl-3, kluczowego elementu szlaku Wnt hamującego GSK-3. Posługując się metodą immunoprecypitacji, autorzy wykryli, że Dvl-3 jest związane z receptorem dopaminowym D₂. Za pomocą podwójnego barwienia fluorescencyjnego potwierdzono, że zmiany w GSK-3 i β -kateninie występują w tej samej populacji neuronów i że neurony te wykazują ekspresję receptorów D₂ (Alimohamad i wsp. 2005). To sugeruje, iż leki antypsychotyczne przez wpływ na receptory D₂ mogą działać na białko Dvl, inicjując kaskadę zmian obejmujących aktywność GSK-3 oraz β -kateninę, co z kolei może osłabiać objawy psychotyczne u pacjentów schizofrenicznych.

Ostre lub przewlekłe podawanie *in vivo* atypowych neuroleptyków – risperidonu, klopazyny, kwetiapiny i olanzapiny – powoduje zahamowanie aktywności GSK-3 β w różnych strukturach mózgu (Alimohamad i wsp. 2005; Li i wsp. 2007). Ponadto leki, które wpływają na transmisję serotoninerdyczną, tj. selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny, inhibitory monoaminooksydazy i trójcykliczne antydepresanty, wzmacniają hamujący wpływ atypowych neuroleptyków na GSK-3 β (Li i wsp. 2007).

Co ciekawe, wzrost aktywności GSK-3 wykazano ostatnio w korze przedczołowej ofiar samobójstwa chorych na depresję. Wydaje się, że dwa typy receptorów serotoninerdycznych mogą odgrywać przeciwstawną rolę w regulacji GSK-3 β : stymulacja receptorów 5-HT_{2A} prowadzi do aktywacji kinazy, podczas gdy stymulacja receptorów 5-HT_{1A} ją hamuje. Efekt atypowych neuroleptyków i leków serotoninerdycznych sugeruje, że Akt i GSK-3 mogą działać jak łączniki sygnału dla transmisji dopaminergicznej i serotoninerdycznej i przyczyniać się do ich wpływu na te układy neuroprzekaznictwa (Li i wsp. 2004). Wobec braku wystarczających wyników badań behawioralnych odnośnie do funkcji GSK-3 w regulacji działania serotoniny, ta zintegrowana funkcja pozostaje jednak jedynie hipotezą.

Piśmiennictwo

1. Alimohamad H, Rajakumar N, Seah YH, Rushlow W. Antipsychotics alter the protein expression levels of beta-catenin and GSK-3 in the rat medial prefrontal cortex and striatum. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 533-542.
2. Arnold SE, Trojanowski JQ. Recent advances in defining the neuropathology of schizophrenia. *Acta Neuropathol* 1996; 92: 217-231.
3. Barbeau D, Liang JJ, Robitalille Y i wsp. Decreased expression of the embryonic form of the neural cell adhesion molecule in schizophrenic brains. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 2785-2789.
4. Bassett AS, Chow EW, AbdelMalik P i wsp. The schizophrenia phenotype in 22q11 deletion syndrome. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 1580-1586.
5. Beasley C, Cotter D, Khan N i wsp. Glycogen synthase kinase-3beta immunoreactivity is reduced in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Neurosci Lett* 2001; 302: 117-120.
6. Beaulieu JM, Sotnikova TD, Marion S i wsp. An Akt/beta-arrestin 2/PP2A signaling complex mediates dopaminergic neurotransmission and behavior. *Cell* 2005; 122: 261-273.
7. Brembeck FH, Rosário M, Birchmeier W. Balancing cell adhesion and Wnt signaling, the key role of beta-catenin. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16: 51-59.
8. Brixey SN, Gallagher BJ 3rd, McFalls JA Jr, Parmelee LF. Gestational and neonatal factors in the etiology of schizophrenia. *J Clin Psychol* 1993; 49: 447-456.
9. Cadigan KM, Liu YI. Wnt signaling: complexity at the surface. *J Cell Sci* 2006; 119: 395-402.
10. Ciani L, Salinas PC. WNTs in the vertebrate nervous system: from patterning to neuronal connectivity. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 351-362.
11. Clevers H, van de Wetering M. TCF/LEF factor earn their wings. *Trends Genet* 1997; 13: 485-489.
12. Cotter D, Kerwin R, al-Sarraj S i wsp. Abnormalities of Wnt signalling in schizophrenia-evidence for neurodevelopmental abnormality. *Neuroreport* 1998; 9: 1379-1383.
13. Davies G, Jiang WG, Mason MD. The interaction between beta-catenin, GSK3beta and APC after mitogen induced cell-cell dissociation, and their involvement in signal transduction pathways in prostate cancer. *Int J Oncol* 2001; 18: 843-847.
14. De Ferrari GV, Moon RT. The ups and downs of Wnt signaling in prevalent neurological disorders. *Oncogene* 2006; 25: 7545-7553.
15. Ding VW, Chen RH, McCormick F. Differential regulation of glycogen synthase kinase 3beta by insulin and Wnt signaling. *J Biol Chem* 2000; 275: 32475-32481.
16. Du SJ, Purcell SM, Christian JL i wsp. Identification of distinct classes and functional domains of Wnts through expression of wild-type and chimeric proteins in *Xenopus* embryos. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 2625-2634.
17. Eastwood SL, Cairns NJ, Harrison PJ. Synaptophysin gene expression in schizophrenia. Investigation of synaptic pathology in the cerebral cortex. *Br J Psychiatry* 2000; 176: 236-242.
18. Emamian ES, Hall D, Birnbaum MJ i wsp. Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3beta signaling in schizophrenia. *Nat Genet* 2004; 36: 131-137.
19. Fiol CJ, Mahrenholz AM, Wang Y i wsp. Formation of protein kinase recognition sites by covalent modification of the substrate. Molecular mechanism for the synergistic action of casein kinase II and glycogen synthase kinase 3. *J Biol Chem* 1987; 262: 14042-14048.
20. Ftouh S, Akbar MT, Hirsch SR, de Bellerocche JS. Down-regulation of Dickkopf 3, a regulator of the Wnt signalling pathway, in elderly schizophrenic subjects. *J Neurochem* 2005; 94: 520-530.
21. Fukumoto S, Hsieh CM, Maemura K i wsp. Akt participation in the Wnt signaling pathway through Dishevelled. *J Biol Chem* 2001; 276: 17479-17483.
22. García-Pérez J, Avila J, Díaz-Nido J. Implication of cyclin-dependent kinases and glycogen synthase kinase 3 in the phosphorylation of microtubule-associated protein 1B in developing neuronal cells. *J Neurosci Res* 1998; 52: 445-452.
23. Gould TD, Dow ER, O'Donnell KC i wsp. Targeting signal transduction pathways in the treatment of mood disorders: recent insights into the relevance of the Wnt pathway. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2007; 6: 193-204.
24. Hall AC, Brennan A, Goold RG i wsp. Valproate regulates GSK-3-mediated axonal remodeling and synapsin I clustering in developing neurons. *Mol Cell Neurosci* 2002; 20: 257-270.
25. Hino S, Michiue T, Asashima M, Kikuchi A. Casein kinase I epsilon enhances the binding of Dvl-1 to Frat-1 and is essential for Wnt-3a-induced accumulation of beta-catenin. *J Biol Chem* 2003; 278: 14066-14073.
26. Hurlstone A, Clevers H. T-cell factors: turn-ons and turn-offs. *EMBO J* 2002; 21: 2303-2311.
27. Kang UG, Seo MS, Roh MS i wsp. The effects of clozapine on the GSK-3-mediated signaling pathway. *FEBS Lett* 2004; 560: 115-119.
28. Kemler R. From cadherins to catenins: cytoplasmic protein interactions and regulation of cell adhesion. *Trends Genet* 1993; 9: 317-321.
29. Kozlovsky N, Belmaker RH, Agam G. Low GSK-3beta immunoreactivity in postmortem frontal cortex of schizophrenic patients. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 831-833.
30. Kozlovsky N, Belmaker RH, Agam G. GSK-3 and the neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* 2002; 12: 13-25.
31. Lamparska-Przybysz M, Wieczorek M, Majorek M, Guzenda P. Rola szlaku Wnt/ β -katenina w molekularnym mechanizmie procesów nowotworowych. *Współcz Onkol* 2006; 10: 497-501.
32. Lehner M, Taracha E, Wiśłowska A i wsp. Neurodevelopmental theories of schizophrenia-preclinical studies. *Psychiatr Pol* 2003; 37: 627-639.
33. Leroy K, Brion JP. Developmental expression and localization of glycogen synthase kinase-3beta in rat brain. *J Chem Neuroanat* 1999; 16: 279-293.
34. Li X, Zhu W, Roh MS i wsp. In vivo regulation of glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) by serotonergic activity in mouse brain. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29: 1426-1431.
35. Li X, Rosborough KM, Friedman AB i wsp. Regulation of mouse brain glycogen synthase kinase-3 by atypical antipsychotics. *Int J Neuropsychopharmacol* 2007; 10: 7-19.
36. Lie DC, Colamarino SA, Song HJ i wsp. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis. *Nature* 2005; 437: 1370-1375.
37. Lijam N, Sussman DJ. Organization and promoter analysis of the mouse dishevelled-1 gene. *Genome Res* 1995; 5: 116-124.
38. Lipska BK, Weinberger DR. A neurodevelopmental model of schizophrenia: neonatal disconnection of the hippocampus. *Neurotox Res* 2002; 4: 469-75.
39. Liu C, Li Y, Semenov M i wsp. Control of beta-catenin phosphorylation/degradation by a dual-kinase mechanism. *Cell* 2002; 108: 837-847.

40. Lovestone S, Killick R, Di Forti M, Murray R. Schizophrenia as a GSK-3 dysregulation disorder. *Trends Neurosci* 2007; 30: 142-149.
41. Mackie K, Sorkin BC, Nairn AC i wsp. Identification of two protein kinases that phosphorylate the neural cell-adhesion molecule, N-CAM. *J Neurosci* 1989; 9: 1883-1896.
42. Mendez P, Garcia-Segura LM. Phosphatidylinositol 3-kinase and glycogen synthase kinase 3 regulate estrogen receptor-mediated transcription in neuronal cells. *Endocrinology* 2006; 147: 3027-3039.
43. Miyaoka T, Seno H, Ishino H. Increased expression of Wnt-1 in schizophrenic brains. *Schizophr Res* 1999; 38: 1-6.
44. Nusse R. WNT targets. Repression and activation. *Trends Genet* 1999; 15: 1-3.
45. Roh MS, Seo MS, Kim Y i wsp. Haloperidol and clozapine differentially regulate signals upstream of glycogen synthase kinase 3 in the rat frontal cortex. *Exp Mol Med* 2007; 39: 353-360.
46. Semënov MV, Snyder M. Human dishevelled genes constitute a DHR-containing multigene family. *Genomics* 1997; 42: 302-310.
47. Shaw SH, Kelly M, Smith AB i wsp. A genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes. *Am J Med Genet* 1998; 81: 364-376.
48. Shaw PC, Davies AF, Lau KF i wsp. Isolation and chromosomal mapping of human glycogen synthase kinase-3 alpha and -3 beta encoding genes. *Genome* 1998; 41: 720-727.
49. Sutton LP, Honardoust D, Mouyal J i wsp. Activation of the canonical Wnt pathway by the antipsychotics haloperidol and clozapine involves dishevelled-3. *J Neurochem* 2007; 102: 153-169.