

# Rola inhibitorów kinazy syntazy glikogenu 3 (GSK3) w farmakoterapii chorób ośrodkowego układu nerwowego

The role of the glycogen synthase kinase 3 (GSK3) inhibitors in central nervous system diseases pharmacotherapy

Mariusz Bochnia<sup>1</sup>, Agnieszka Ernestowicz<sup>1</sup>, dr n. farm. Łukasz Szeleszczuk<sup>2</sup>, dr hab. n. farm. Dariusz M. Pisklak<sup>2</sup>, dr n. farm. Monika Zielińska-Pisklak<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Studenckie Koło Naukowe „FREE RADICALS” przy Zakładzie Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> Zakład Chemii Biomateriałów, Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

 [www.lekwpolsce.pl](http://www.lekwpolsce.pl)

**Słowa kluczowe:** kinaza syntazy glikogenu, inhibitory, lit, palinurin, tideglusib, AZD-1080, choroba Alzheimera, depresja, schizofrenia, cukrzyca.

**Streszczenie:** Na przestrzeni ostatnich dziesięcioleci naukowcy wykazali udział kinazy syntazy glikogenu 3 (GSK3) w genezie chorób ośrodkowego układu nerwowego. Jednym z pierwszych środków zastosowanych w celu zahamowania jej aktywności w leczeniu depresji był lit, który pomimo wielu niedoskonałości miał działanie terapeutyczne. Dalsze badania pozwoliły na projektowanie leków wchodzących w skuteczne interakcje z kinazą, jednakże niewiele z nich przeszło badania kliniczne. Kinaza syntazy glikogenu 3 do dziś stanowi duży znak zapytania w ukierunkowaniu farmakoterapii schorzeń takich jak choroba Alzheimera, depresja, choroba dwubiegunowa czy schizofrenia.

**Keywords:** glycogen synthase kinase, inhibitors, lithium, palinurin, tideglusib, AZD-1080, Alzheimer's disease, depression, schizophrenia, diabetes.

**Abstract:** Over the last decades researchers revealed a significant role of glycogen synthase kinase 3 in genesis of central nervous system diseases. Lithium was one of the first therapeutic remedies used as a GSK3 inhibitor in depression therapy, which proved therapeutic effect, despite of its imperfections. Further trials allowed developing drugs, which interact with the kinase, but only a few of them entered to clinical trials. Nowadays inhibition of glycogen synthase kinase 3 puts a question mark over the targeting pharmacotherapy of diseases such as Alzheimer's disease, depression, bipolar disorder or schizophrenia.

## Wprowadzenie

W ciągu ostatnich dekad obserwuje się ogromny postęp w leczeniu wielu chorób cywilizacyjnych. Zawdzięczamy to zarówno coraz skuteczniejszym formom terapii, jak i szybszej, dokładniejszej diagnostyce. W dobie poszukiwania nowych metod leczenia chorób związanych z dysfunkcją ośrodkowego układu nerwowego oraz nowotworowych, na szczególną uwagę zasługuje *kinaza syntazy glikogenu 3 (GSK3)*. Ten odkryty w 1980 r. enzym do dziś stanowi niezwykle interesujący obiekt badań naukowców poszukujących coraz skuteczniejszych metod terapii wielu schorzeń.

Kinazy białkowe są grupą enzymów katalizujących reakcje fosforylacji specyficznych wobec nich cząsteczek białek. Na skutek fosforylacji następuje zmiana konformacji cząsteczki białka, a w rezultacie – jego aktywności. Mechanizm ten zachodzi

w wielu szlakach metabolicznych. Kinazy białkowe, ze względu na ulegającą fosforylacji resztę aminokwasową, dzielimy na serynowo-treoninowe oraz tyrozynowe. Wiele z inhibitorów omawianych enzymów zostało wprowadzonych do lecznictwa (tab.1).

GSK3 należy do kinaz serynowo-treoninowych. W organizmie ludzkim istnieje pod postacią dwóch izoenzymów: **GSK3α** oraz **GSK3β** [1]. Wymienione formy wykazują podobieństwa w obrębie domen katalitycznych aż w 98%, natomiast różnią się w regionach: C- i N-końcowym. W toku ewolucji obserwuje się występowanie wymienionych izoenzymów w zróżnicowanych stosunkach ilościowych, co doprowadziło badaczy do stwierdzenia, że w różnym stopniu biorą one udział w rozwoju struktury mózgu, embriogenezie i złożoności zachowania.

Podstawową rolą omawianych kinaz jest udział w szlaku syntezy glikogenu po-

**Tabela 1.** Przykładowe inhibitory kinaz wprowadzone do lecznictwa

Nazwa substancji leczniczej	Nazwa handlowa	Podmiot odpowiedzialny	Mechanizm działania	Zastosowanie
Kabozantynib [15]	Cabometyx, Cometriq	Ipsen Pharma	Inhibitor kinazy tyrozynowej ALK	Leczenie nowotworów, m.in. tarczycy i nerek
Cerytynib [16]	Zykadia	Novartis Pharma	Inhibitor kinazy tyrozynowej C-Met	Leczenie drobnokomórkowego raka płuca
Bosutynib	Bosulif	Pfizer	Inhibitory kinazy tyrozynowej BCR-ABL	Leczenie przewlekłej białaczki szpikowej, związanej z występowaniem chromosomu Philadelphia
Dasatynib	Sprycel	Bristol-Myers Squibb		
Imatynib	Glivec	Novartis Pharma		
Nilotynib	Tasigna	Novartis Europharm		
Ponatinib [17]	Iclusig			

przez regulację aktywności syntazy glikogenu w procesie fosforylacji. Wiele przeprowadzonych badań zakłada również udział GSK3 w neurogenezie, łączności szlaków metabolicznych, takich jak Wnt (szlak regulacji embriogenezy, różnicowania i proliferacji komórek) czy PI3K (regulacja metabolizmu i procesów nowotworzenia).

Na przestrzeni lat tworzono hipotezy stawiające GSK3 w pozycji czynnika chorobotwórczego. Zakłada się udział tego enzymu w patogenezie cukrzycy, stanów zapalnych [2], nowotworów [3] oraz chorób ośrodkowego układu nerwowego, takich jak choroba Alzheimera [4-6], stwardnienie zanikowe boczne, schizofrenia [7-8] oraz depresja i choroba dwubiegunowa [9-14]. Niestety, badania teoretyczne nad mechanizmami chorobotwórczymi zakładają zarówno zwiększoną, jak i obniżoną aktywność kinazy, co sprawia, że pozostaje ona niezwykle trudnym celem terapeutycznym.

### Zastosowania inhibitorów GSK3 w terapii chorób układu nerwowego i nowotworowych

Inhibitory GSK3 będące związkami organicznymi można podzielić ze względu na miejsce wiązania do omawianej kinazy na ATP-kompetycyjne i niekompetycyjne, a także na związki pochodzenia naturalnego i syntetyczne. Jednym z typów inhibitorów GSK3 $\beta$  są jony metali, a pierwszym odkrytym z nich były jony litu.

#### Jony metali

**Sole litu** są związkiem stosowanym jako stabilizator nastroju przy długoterminowym leczeniu zaburzeń afektywnych dwubiegunowych. Wywierają podobny efekt biologicz-

ny jak inne inhibitory GSK3 $\beta$ . Na przykład kuracja litem zmniejsza fosforylację białek  $\tau$  oraz powstawanie  $\beta$ -amyloidu, co miałyby znaczenie w chorobie Alzheimera, redukuje też długość aksonów, pobudza tworzenie synaps, działa neuroprotekcynie [18]. Lit wywiera efekt terapeutyczny w epilepsji [19], zaburzeniach ruchu w chorobie Huntingtona [20], zaburzeniach neurologicznych w ataksji mózdkowo-rdzeniowej typu 1 [21] oraz spowalnia postęp chorobotwórczy w stwardnieniu zanikowo bocznym (ang. *amyotrophic lateral sclerosis*, ALS).

**Jony berylu, cynku, rtęci i miedzi oraz wolframian sodu** wykazują jeszcze większe powinowactwo do GSK3 $\beta$  niż jony litu. Szczególnym zainteresowaniem cieszy się cynk, którego niedobory pogłębiają stany depresyjne i lękowe. Podanie soli cynku wpływa korzystnie na terapię tych zaburzeń i przypuszczać można, że działanie to jest wywołane właśnie inhibicją GSK3 $\beta$  [22].

#### Substancje pochodzenia naturalnego

Interesujący jest fakt, iż również organizmy żywe mogą być potencjalnymi źródłami inhibitorów GSK3 $\beta$  – związki o właściwościach ATP-kompetycyjnych inhibitorów GSK3 $\beta$  zostały wyizolowane po raz pierwszy z organizmów wodnych, takich jak gąbki, mięczaki czy osłonice. Związkami tymi są m.in.: stosowany w medycynie chińskiej w leczeniu białaczki – **indirubin** (rys. 1A) [23] i jego pochodne izolowane z morskich mięczaków, a także wyizolowane z gąbek alkaloidy: **debromohymenialdizyna** (ang. *debromohymenialdisine*, **DBH**) i **hymenialdizyna** (ang. *hymenialdisine*, **HD**), czy pozyskane z osłonicy **meridianiny** [24].

## Związki syntetyczne

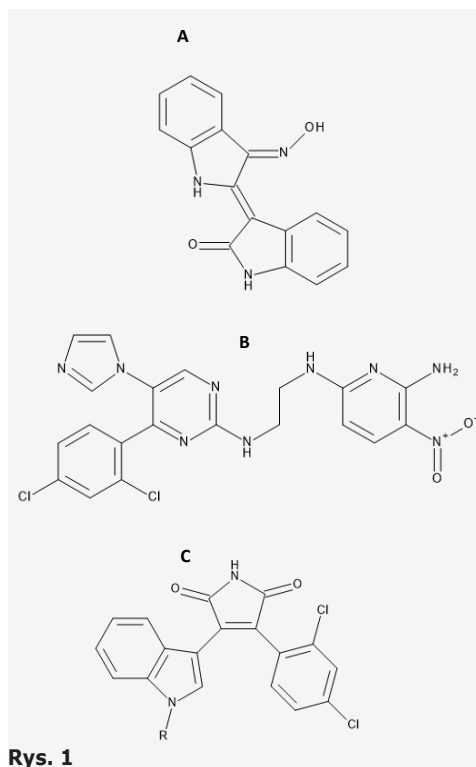
Pierwszymi syntetycznymi związkami hamującymi GSK3 kompetywnie wobec ATP były związki z grupy nazwanej **CHIR** (rys. 1B). Hamują one GSK3 selektywnie, niektóre z nich były testowane w systemach neuronalnych, głównie jako leki przeciwcukrzycowe. Wykazano ich wpływ na redukcję fosforylacji białek τ w kulturze neuronów oraz w mózgach szczurów [25], inhibicję przerostu neurytów neuronów mózdkowych i korzeni rdzeniowych oraz blokowanie przez nie receptorów NMDA w hipokampie w długoterminowej depresji.

Kolejnymi selektywnymi inhibitorami GSK3 są związki z grupy **SB** (rys. 1C) działające przeciw wielu czynnikom proapoptycznym, powodujące regenerację uszkodzonych neuronów, zmniejszające toksyczność poliglutaminy w chorobie Huntingtona [26] oraz hamujące przewlekłą depresję indukowaną przez NMDA.

Inny związek o potwierdzonym działaniu blokującym GSK3, **AR-A014418**, działała neuroprotekcynie, a w przeprowadzonych badaniach zmniejszała objawy depresji oraz manii [27-28].

Podobny strukturalnie do powyższego związek – **AZD-1080** (rys. 2A) – również jest inhibitorem GSK-3β; obecnie trwają badania nad wykorzystaniem go jako leku na raka endometrium [29].

Kolejne substancje inaktywują kinazy GSK3 oraz CDK. Pierwszą grupą są związki zwane **paullonami**. Alsterpaullon spowalnia postęp rdzeniowego zaniku mięśni [30], a kenpaullon zmniejsza produkcję β-amyloidu oraz promuje różnicowanie komórek prekursorowych w neurony dopaminergiczne, co potwierdza znaczenie inhibicji GSK3 w chorobie Parkinsona [31].



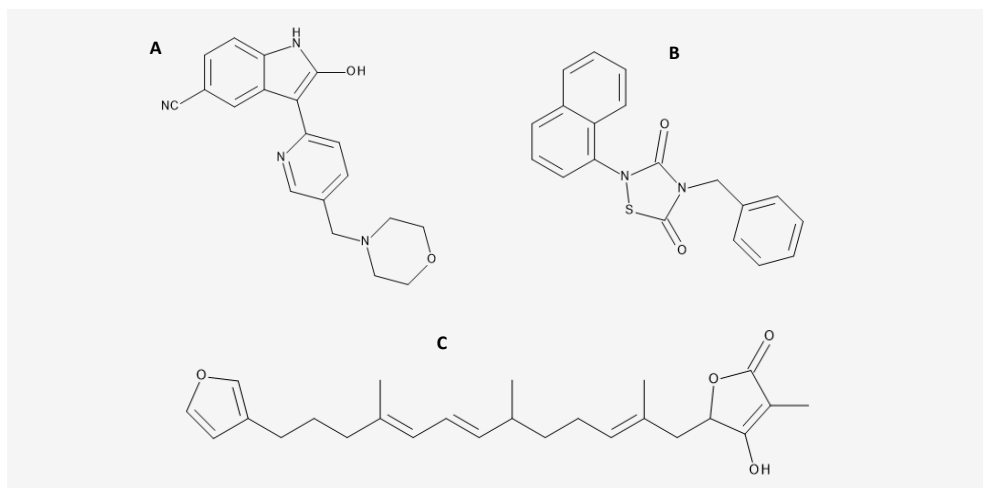
Rys. 1

A – indirubin, B – CHIR98014, C – SB216763

Wśród innych związków działających za pośrednictwem GSK3 na uwagę zasługuje **aloesine A**, substancja o udowodnionym działaniu antyproliferacyjnym w zróżnicowanych neuronach [32].

Wiele związków z grupy bisindolilma-leimidów pobudza odnawianie się komórek krwi z komórek macierzystych w białaczce [33], a jeszcze inny inhibitor GSK3, **TWS119**, może indukować różnicowanie neuronów z komórek macierzystych [34].

Syntetyczne inhibitory blokujące GSK3 w innym miejscu niż miejsce wiązania ATP są zazwyczaj bardziej specyficzne wobec GSK3, co byłoby korzystne w terapii, gdyż pozwalałoby na wybiórczą inhibicję kinazy, której aktywność jest zaburzona.



**Rys. 2.** A – AZD-1080, B – tideglusib, C – palinurin

Pierwszą grupą, która przyciągnęła uwagę świata naukowego, są **tiadiazol-diole (TDZD)**. Stosowanie TDZD w terapii kultury neuronów skutkowało redukcją fosforylacji białek  $\tau$ , a niektóre z TDZD miały działanie neuroprotektyjne i antydepresyjne. Najlepiej poznanymi spośród grupy TDZD są: **TDZD-8**, który jest najczęściej stosowany w badaniach w celu wyjaśnienia roli biologicznej i patologicznej GSK3, oraz **tideglusib** (rys. 2B), który był testowany w celu wyznaczenia dawki potrzebnej dla człowieka w chorobie Alzheimera [35]. Udało się wówczas udowodnić działanie poprawiające zdolności kognitywne, redukcję beta-amyloidu i hiperfosforylacji białek  $\tau$ . Tideglusib powodował też podwyższenie w mózгах myszy insulino-podobnego czynnika wzrostu IGF-1, który jest peptydem o właściwościach terapeutycznych w wielu chorobach neurodegeneracyjnych, m.in. w chorobie Alzheimera. Inhibicja GSK3 przez tideglusib ma także potencjonalnie korzystny wpływ w ostrym zawale mięśnia sercowego [36].

Ciekawe właściwości wykazują również pochodne **halometyloketonu (HMK)**, które są pierwszymi poznanymi nieodwracalnymi inhibitorami omawianego enzymu. Przenikają przez błony i powodują zmniejszenie hiperfosforylacji białek  $\tau$  w kulturze neuronów [37].

Niekompetycyjne wobec ATP inhibitory GSK3 pozyskać też można z naturalnych źródeł. Najważniejszymi z nich są izolowane z gąbek **menzamine A**, **palinurin** (rys. 2C) i **tricantin**, które obniżają hiperfosforylację białek  $\tau$  [38-39].

Inhibitorami GSK3 mogą też być, kompetycyjne wobec ich naturalnych substratów, peptydy. Ich cząsteczki są selektywne wobec konkretnej kinazy, a ich wiązanie w miejscu wiązania naturalnego substratu pozwala na odpowiednie nasilenie inhibicji GSK3 (zbyt silna inaktywacja kinazy byłaby niekorzystna). Peptyd **L803-mts** jest wnikałym do komórek ufosforylowanym peptydem o wysokiej selektywności wobec GSK3. Znana jest jego aktywność biologiczna w modelach cukrzycy, gdzie aktywność GSK3 była czynnikiem zmniejszającym działanie insuliny [40];

wykazywał również działanie neuroprotektyjne i przeciwdepresyjne.

## Podsumowanie

Zaburzona aktywność kinazy syntazy glikogenu 3 została stwierdzona w badaniach nad wieloma jednostkami chorobowymi, jednakże jej potencjał jako celu terapeutycznego nie został dotąd odpowiednio wykorzystany. Jeden z głównych problemów stanowi toksyczność związków uznawanych za skuteczne w blokowaniu lub pobudzaniu aktywności omawianego enzymu. Jak dotąd jedynie lit został wprowadzony do terapii celowanej w GSK3, jednak jego specyficzność jest zbyt niska. Spośród wymienionych powyżej inhibitorów jedynie AZD-1080 oraz tideglusib zostały poddane badaniom klinicznym. Podczas gdy AZD-1080 wykazał działanie nefrotoksyczne i został wykluczony z dalszych eksperymentów, tideglusib pomyślnie przeszedł pierwszą fazę badań klinicznych [41].

Przewidzenie działania danej substancji z omawianej grupy jest trudne ze względu na różnicowane mechanizmy patologiczne, w których bierze udział GSK3. Choć aktualne informacje pozwalają zrozumieć istotność roli tego enzymu, to niezbędne jest dalsze rozwijanie posiadanej wiedzy i poszukiwanie środków, które mogą stanowić przełom we współczesnej farmakoterapii chorób często uznawanych za znajdujące się poza zasięgiem medycyny i farmacji. Istnienie związków o potencjalnym działaniu terapeutycznym daje nadzieję na odkrycie nowej drogi, która być może poprowadzi współczesną medycynę do wynalezienia nowego, skutecznego leku na choroby neurodegeneracyjne lub/i nowotworowe. ©

## Piśmiennictwo:

- Woodgett JR. Molecular cloning and expression of glycogen synthase kinase-3/Factor A. *EMBO J.* 1990;9:2431-2438.
- Jope RS, Yuskaitis CJ, Beurel E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics. *Neurochem Res.* 2007;32:577-595.
- Aikin RA, Ayers KL, Therond PP. The role of kinases in the Hedgehog signalling pathway. *EMBO Rep.* 2008;9:330-336.
- Shiurba RA, Ishiguro K, Takahashi M, Sato K, Spooner ET, et al. Immunocytochemistry of tau phosphoserine 413 and tau protein kinase I in Alzheimer pathology. *Brain Res.* 1996;737:119-132.
- Mandelkow EM, Drewes G, Biernat J, Gustke N, Van Lint J, et al. Glycogen synthase kinase-3 and the Alzheimer-like state of microtubule-associated protein tau. *FEBS Letters.* 1992;314:315-321.
- Hernandez F, Perez M, Lucas JJ, Mata AM, Bhat R, et al. Glycogen Synthase Kinase-3 Plays a Crucial Role in Tau Exon 10 Splicing and Intracellular Distribution of SC35: IMPLICATIONS FOR ALZHEIMER'S DISEASE. *J Biol Chem.* 2004;279:177-186.
- Souza RP, Romano-Silva MA, Lieberman JA, Meltzer HY, Wong AH, et al. Association study of GSK3 gene polymorphisms with schizophrenia and clozapine response. *Psychopharmacology.* 2008;200:177-186.
- Emamian ES, Hall D, Birnbaum MJ, Karayiorgou M, Gogos JA, et al. Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3β signaling in schizophrenia. *Nature genetics.* 2004;36:131-137.
- Hernandez F, Nido JD, Avila J, Villanueva N. GSK3 inhibitors and disease. *Mini rev med chem.* 2009;9:1024-1029.
- Beurel E. Regulation by glycogen synthase kinase-3 of inflammation and T cells in CNS diseases. *Front mol neurosci.* 2011;4:18.
- Kwok JB, Hallupp M, Loy CT, Chan DK, Woo J, et al. GSK3B polymorphisms alter transcription and splicing in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2005;58:829-839.
- Eldar-Finkelman H. Glycogen synthase kinase 3: an emerging therapeutic target. *Trends Mol Med.* 2002;8:126-132.
- Martinez A, Castro A, Dorronsoro I, Alonso M. Glycogen synthase kinase 3 (GSK-3) inhibitors as new promising drugs for diabetes, neurodegeneration, cancer, and inflammation. *Med Res Rev.* 2002;22:373-384.
- Rowe MK, Wiest C, Chuang DM. GSK-3 is a viable potential target for therapeutic intervention in bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev.* 2007;31:920-931.
- Markowitz JN, Fancher KM, Cabozantinib: A Multi-targeted Oral Tyrosine Kinase Inhibitor. *Pharmacotherapy*, in press.
- Shaw AT, Kim TM, Crinò L, Gridelli C, Kiura K, Liu G, et al. Ceritinib versus chemotherapy in patients with ALK-rearranged non-small-cell lung cancer previously given chemotherapy and crizotinib (ASCEND-5): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, in press.
- Sorel N, Cayssials É, Brizard F, Chomel JC (2017). Treatment and molecular monitoring update in chronic myeloid leukemia management. *Ann Biol Clin (Paris)* in press.
- Rockenstein E, Tarrance M, Adame A, Mante M, Bar-on P, Rose JB, et al. Neuroprotective effects of regulators of the glycogen synthase kinase 3 beta signaling pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease are associated with reduced amyloid precursor protein phosphorylation. *J. Neurosci.* 2007;27:1981-1991.
- Busceti CL, Biagioni F, Aronica E, Rizzo B, Storto M, Battaglia G, et al. Induction of the Wntinhibitor, Dickkopf-1, is associated with neurodegeneration related to temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2007;48:694-705.
- Wood NI and Morton AJ. Chronic lithium chloride treatment has variable effects on motor behaviour and survival of mice transgenic for the Huntington's disease mutation. *Brain Res. Bull.* 2003;61:375-383.

Całość piśmiennictwa dostępna w redakcji.

Oddano do publikacji: 27.02.2018 Copyright© Medyk Sp. z o.o.

Corresponding author:  
Mariusz Bochnia  
mbochnia4348@gmail.com