



UTILIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS INIBIDORAS DA ENZIMA GLICOGÊNIO SINTASE QUINASE (GSK3) PARA REPARAÇÃO NATURAL DE LESÕES DENTÁRIAS

ALINE DE PAULA COSTA; YASMIN DE PAULA COSTA; LÍVIA GERALDI

RESUMO

As doenças dentárias são afecções comuns em cães e gatos podendo causar dores, desconfortos e comprometer a saúde do animal. Lesões como fraturas dentárias, cáries e lesões reabsortivas extensas podem desgastar ou expor a dentina ocasionando na exposição de polpa dentária e esta é altamente vascularizada e innervada, sendo o tratamento feito por meio da endodontia. Porém a formação de dentina terciária com objetivo de evitar a exposição e o desgaste da polpa dentária não é depositada nos locais do dano com os tratamentos utilizados atualmente assim sendo necessário o uso de seladores como agregado trióxido mineral (MTA), resinas, hidróxido de cálcio e outros, nas últimas etapas do tratamento. Substâncias como tideglusib, CHIR e BIO, as quais atuam por meio da inibição da enzima glicogênio sintase quinase (GSK-3), são capazes de realizar a restauração dentinária de forma natural, formando dentina reparadora (ou terciária) por meio da mobilização de células-tronco residentes na polpa dentária. Assim, a utilização destas substâncias vem se mostrando um método inovador na reparação de lesões dentárias em humano. Portanto, esses compostos também são uma promessa para ampliar o uso para o tratamento de lesões dentárias em animais. O presente estudo teve por objetivo realizar uma revisão de literatura contendo informações sobre as substâncias tideglusib, CHIR, BIO e NP928 atuando na regeneração dentária pelo mecanismo de inibição da enzima GSK 3 e apurar a possibilidade da utilização dessas substâncias em afecções dentárias em cães e gatos na odontologia veterinária. Nos trabalhos avaliados no nosso estudo, as três substâncias aumentaram a deposição de dentina reparadora por meio da estimulação de células tronco. Com isso, entendemos que as substâncias foram capazes de realizar a restauração da dentina reparadora/terciária podendo tornar-se uma evolução em grandes lesões dentária tanto na odontologia veterinária como para a odontologia humana, mas é necessário experimentos em outras espécies para melhores conclusões deste tratamento em animais.

Palavras-chave: Dentina reparadora; Tideglusib; CHIR; BIO; NP928.

1 INTRODUÇÃO

As principais afecções na cavidade oral em cães e gatos relatadas na literatura são a doença periodontal, gengivite, fratura dental, lesão reabsortiva osteoclástica dos felinos, fratura em sistema estomatognático, complexo gengivite-estomatite-faringite dos felinos, persistência de decíduos, cárie e neoplasias (VENTURINI, 2006). Lesões como fraturas dentárias, cáries e lesões reabsortivas extensas podem desgastar ou expor a dentina, ocasionando a exposição da polpa (COHEN & BURNS, 1994; HOLMSTROM, 1992).

A endodontia é a terapia para afecções da polpa dentária e tecido periapical. Os tipos de tratamentos endodônticos utilizados na odontologia humana e veterinária são: pulpectomia total e pulpectomia parcial, necropulpectomia, capeamento pulpar direto, apexificação, e cirurgia endodôntica (LEON-ROMAN & GIOSO, 2004). Nas últimas etapas desses

tratamentos, é realizado a obturação e restauração da porção do dente afetada (NEVES et al, 2016). Os seladores utilizados podem ser classificados em várias categorias: à base de eugenol, hidróxido de cálcio, ionômeros de vidro, resinas (DAVID & CLARKE, 1995) e o agregado trióxido mineral (MTA) de fabricação nacional (MTA Angelus®) (MENEZES et al, 2004).

Mas, segundo Neves et al. (2016), agregados minerais como o MTA auxiliam na formação de dentina terciária, porém, essa deposição não ocorre nos locais do dano. Além disso, devido ao fato de agregados minerais não serem biodegradáveis, o volume total de dentina nunca é restaurado no local de aplicação. Logo, a elaboração de uma técnica para estimular o processo natural de restauração da dentina, através da formação de dentina terciária, poderia reparar as grandes lesões que levam à necrose da polpa dentária. Neves et al. (2016), estudaram substâncias capazes de realizar a restauração dentinária de forma natural, pela formação de dentina reparadora (ou terciária), por meio da mobilização de células-tronco residentes na polpa dentária. Essas substâncias compreendem Tideglusib, CHIR (6-[[2-[[4-(2,4-diclorofenilo)-5-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-2-pirimidinil] amino] etil] amino]-3-piridinacarbonitrilo) e BIO (6-bromo-indirubina-3'-oxima), as quais inibem a atividade da enzima glicogênio sintase quinase 3 (GSK 3). Em 2021, Alaohali et al, sintetizaram um novo medicamento denominado NP928, pertence à família da tiadiazolidinona como o tideglusib com atividade semelhante. Entretanto, NP928 é mais solúvel em água, tornando-o mais adequado para administração direta em lesões pulpares.

O objetivo do presente trabalho é realizar uma revisão de literatura sobre as informações atualmente disponíveis sobre os medicamentos Tideglusib, CHIRs, BIO e NP928 que são inibidores da GSK 3, uma ação relacionada à regeneração dentária. A partir desses estudos, buscou-se investigar a possibilidade de utilização dessas substâncias no tratamento de lesões com exposição de polpa e outras afecções dentárias em cães e gatos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi elaborada a partir de uma revisão da literatura científica, realizada no período de fevereiro a novembro de 2019 e julho de 2024, por meio de consulta de livros e periódicos do acervo da Biblioteca do Centro Universitário de Belo Horizonte (UnibH – Campus Estoril), livros no Google Livros e artigos científicos por meio de buscas nas seguintes bases de dados: SciELO - Scientific Electronic Library Online, National library of Medicine, Pubmed, Pubvet, Science Direct, Google Acadêmico. Foram selecionados artigos em inglês, espanhol e português para colher informações sobre as funções bioquímicas da enzima GSK 3, da ação de seus inibidores em processos patológicos e na estimulação da regeneração dentária.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados trinta e três materiais que incluem artigos, trabalhos acadêmicos, relatório e manual referentes a GSK 3, anatomia do cão e gato, sinalização da WNT, estrutura do dente, tratamento de lesões dentárias e afecções da cavidade oral.

Porém, foram encontrados apenas seis estudos sobre o uso de substâncias para inibir a atividade da GSK 3 em lesões dentárias em humanos e dois para lesões dentárias em animais até data do nosso trabalho. Na tabela 1 está o resultado da pesquisa relacionadas ao tema do presente trabalho.

Tabela 1 –Resultado da pesquisa.

Estudo	Substâncias utilizadas na inibição da GSK 3	Resultado
Neves et al, 2016	Tideglusib CHIR (6-[[2-[[4-(2,4-diclorofenilo)-5-(5-metil-imidazol-2-il)-2-amino] etil] amino]-3-piridinacarbonitrilo) BIO (6-bromo-indirubina- 3'-oxima)	Estimula a formação de dentina terciária/reparadora de forma natural no local da lesão, através de células-tronco chamadas odontoblastos localizadas na polpa dentária. Células in vitro e in vivo (camundongos)
Kornsuthisophon et al, 2023	Tideglusib	Estimula a formação de dentina terciária/reparadora de forma natural no local da lesão, através de células-tronco chamadas odontoblastos localizadas na polpa dentária. Células in vitro
Rao et al, 2022	Tideglusib	Estimula a formação de dentina terciária/reparadora de forma natural no local da lesão, através de células-tronco chamadas odontoblastos localizadas na polpa dentária. Células in vitro
Alaohali et al, 2021	NP928	Estimula a formação de dentina terciária/reparadora de forma natural no local da lesão, através de células-tronco chamadas odontoblastos localizadas na polpa dentária. Células in vitro e in vivo (camundongos)
Karacic et al, 2023	Tideglusib CHIR (6-[[2-[[4-(2,4-diclorofenilo)-5-(5-metil-imidazol-2-il)-2-amino] etil] amino]-3-piridinacarbonitrilo)	Estimula a formação de dentina terciária/reparadora de forma natural no local da lesão, através de células-tronco chamadas odontoblastos localizadas na polpa dentária. Células in vitro de bovinos
Hamdy et al, 2024	Tideglusib	Estimula a formação de dentina terciária/reparadora de forma natural no local da lesão, através de células-tronco chamadas odontoblastos localizadas na polpa dentária. Células in vivo (coelhos)

Fonte: Elaborado pelos autores.

Afecções da cavidade oral

Segundo Domingues et al (1999), existem muitos relatos na literatura de afecções na cavidade oral em cães e gatos, tais como, as gengivites, periodontites, zonas de necrose, neoplasias, granuloma periapical, cálculos dentários, dentição decídua persistente, hipoplasia de esmalte, fratura dentária, desgaste e cárie dentária. Alguns distúrbios como abrasão, fraturas dentais, cáries e lesões reabsortivas extensas podem afetar a dentina desgastando ou expondo a mesma, ocasionando a exposição da polpa (COHEN & BURNS,1994; HOLMSTROM,1992). Ao expor a polpa pode ocorrer hemorragia e pulpite aguda, o que resulta em dor. Com o passar do tempo ocorre a invasão bacteriana e a obliteração dos vasos sanguíneos devido ao edema causado pelo processo inflamatório dentro do canal (cavidade inelástica), levando à necrose pulpar (COHEN & BURNS ,1994).

A fratura dentária é uma lesão traumática comum no dente, sendo a causa mais comum de doença endodôntica em animais. Dentes fraturados foram encontrados em 49,6% dos animais de companhia. Além disso, 10% dos cães têm dentes com exposição direta à

polpa (WSAVA, 2024). Estas lesões são classificadas como complicadas quando a linha de fratura expõe a polpa, e como não complicadas quando a polpa não é exposta. Mesmo em fraturas não complicadas, existe uma comunicação entre a polpa e a cavidade oral através dos túbulos dentinários. A patologia pulpar na fratura dentária está relacionada à infecção por bactérias orais, causando lesões profundas e reabsorção. A doença periodontal é causada pela deposição de placa bacteriana sobre os dentes, as bactérias são o principal fator etiológico no início da doença. Nos dentes afetados, as bactérias podem invadir a polpa através do ápice ou através de lesões reabsortivas externas, causando doença de polpa dentária (VERHAERT, 2008).

A cárie é uma doença menos comum em cães do que em humanos e não foi descrito em gatos. Ela é mais comum em dentes molares. Começa como uma desmineralização inorgânica do esmalte por ácidos produzidos por bactérias específicas da placa (cariogênicas). Uma vez atingida a dentina, as proteases das bactérias destroem ainda mais o tecido duro dental (VERHAERT, 2008). Na lesão de reabsorção odontoclástica felina é caracterizada por uma perda progressiva de substância dentária. É um processo destrutivo ativo de odontoclastos, no cemento e estruturas adjacentes promove áreas de erosão na superfície do dente, que podem alcançar a câmara pulpar (OLIVEIRA, 2013).

Tratamento de lesões de polpa dentária

O tratamento endodôntico é indicado sempre que as estruturas internas do dente são afetadas, como na exposição da polpa, pulpíte e necrose pulpar, com a finalidade de manter a saúde do tecido pulpar, ou parte dele, revertendo a afecção nos tecidos periapicais (DAVID & CLARKE, 1995; LEON-ROMAN & GIOSO, 2004). Os tipos de tratamentos endodônticos na literatura humana e veterinária utilizados são: A remoção da polpa viva que é denominada Pulpectomia Total e Pulpectomia Parcial, dependendo de quanto tecido foi removido durante o tratamento; a Necropulpectomia que consiste no esvaziamento do canal radicular quando a polpa estiver morta; o Capeamento Pulpar Direto que é a restauração realizada numa exposição (acidental ou intencional) do sistema endodôntico, onde não há remoção de tecido pulpar e a restauração é realizada diretamente na dentina exposta que ainda recobre a polpa. Se o capeamento pulpar (direto ou indireto) for realizado num dente imaturo, o dente continuará seu desenvolvimento, com a formação completa da raiz e o fechamento do ápice. Caso o contrário, na Apexificação, o procedimento é realizado num dente imaturo com necrose pulpar, quando se tenta promover algum grau de apicogênese, para no futuro realizar um Tratamento de Canal Convencional, uma vez que o dente apresentará o ápice fechado. A Cirurgia Endodôntica consiste no acesso cirúrgico do ápice seguida de sua amputação (Apicoectomia ou Apicectomia) (LEON-ROMAN & GIOSO, 2004).

Nas últimas etapas desses tratamentos, é realizado a obturação e a restauração da porção do dente afetada, pois a formação natural da dentina reparadora é insuficiente para recompor grandes lesões, como as que envolvem a perda de dentina, portanto, os agregados minerais artificiais são usados para preencher o dente e substituir a dentina perdida (NEVES et al, 2016). Os seladores podem ser classificados em várias categorias: à base de eugenol, hidróxido de cálcio, ionômeros de vidro, resinas (DAVID E CLARKE, 1995) e o MTA de fabricação nacional (MTA Angelus®) que apresenta excelentes resultados em pulpotomias de dentes permanentes de cães (MENEZES et al, 2004). Porém essa etapa convencional, os agregados minerais como o MTA (agregado trióxido mineral) geram deposição no interior do espaço pulpar e nos locais do dano (NEVES et al, 2016).

Glicogênio Sintetase Quinase (GSK 3)

A Glicogênio Sintase Quinase 3 (GSK 3) é uma enzima que participa de vários processos homeostáticos. A enzima tem duas isoformas: alfa (GSK 3A), de 51 KDa, e beta

(GSK 3B), de 46 KDa. As isoformas de GSK 3 são codificadas por genes diferentes, porém são reguladas de forma semelhante. A atividade da GSK 3 é regulada pela fosforilação e defosforilação de epítomos de serina e treonina, num processo dependente do balanço entre diversas quinases e fosfatases proteicas. Sua atividade também é regulada pela formação de complexos proteicos e por sua distribuição intracelular. A GSK 3 é uma enzima ativada através da fosforilação de resíduos de tirosina 216 (GSK 3B) ou tirosina 279 (GSK 3A). A enzima é inativada na fosforilação adicional dos resíduos de serina 9 (GSK 3B) ou do resíduo de serina 21 (GSK 3A). A GSK 3B é a isoforma mais abundante no organismo, altamente expressa no sistema nervoso central. A GSK3B participa do metabolismo energético, através da regulação da atividade da enzima glicogênio sintase (GS) importante no metabolismo do glicogênio intracelular e outras funções além do metabolismo celular, como a via de sinalização da insulina, a via da Akt e via canônica da Wnt (DINIZ, 2011).

Sinalização Wnt / β -catenina

A ativação da sinalização Wnt / β -catenina é uma resposta imediata a danos nos tecidos e parece ser essencial para estimular o reparo celular em todos os tecidos (NEVES, 2016). As WNTs constituem uma família de glicoproteínas secretadas, ricas em aminoácido cisteína, com aproximadamente 350-400 aminoácidos. Existem 19 membros conhecidos dessa família, os quais desempenham papéis essenciais na diferenciação, proliferação e sobrevivência celular (GILES et al., 2003; MACDONALD et al., 2009).

A transdução de sinal se inicia com a ligação das glicoproteínas WNTs a dois receptores de superfície celular: o receptor da família Frizzled (FZ) e receptores da família de proteínas relacionadas a receptor LDL, conhecidos como LRP, os quais atuam como co-receptores essenciais para a interação entre WNT e FZ. Os receptores FZ tem um domínio amino terminal onde ocorre a ligação das WNTs, sete domínios transmembranares e uma porção carboxi-terminal voltada para a face citoplasmática da membrana celular. As glicoproteínas WNTs quando estão ligadas aos receptores FZ estimulam a via canônica. Na via canônica, a proteína WNT deve se ligar ao receptor FZ na célula-alvo e promover o recrutamento da proteína Dishevelled (Dsh) próximo à membrana plasmática, onde interage com o receptor FZ, inativando o complexo de destruição APCAxina-GSK 3 β permitindo que a β -catenina seja translocada do citoplasma para o núcleo, mediado pela Gal-3, onde se liga aos fatores de transcrição TCF/LEF para promover a ativação da transcrição de genes alvo tais como MYC, CCND1 e MMP7. E os receptores LRP, na presença de WNTs ativadoras, LRP 5 e 6 são fosforilados por GSK3 β e CKI, o que também promove o recrutamento de proteínas Dsh bem como a translocação da axina para a membrana plasmática e a inativação do complexo de destruição (PAULO, 2016). Na ausência da Wnt, a β -catenina, interage com um complexo de degradação que contém APC, axina, GSK3 e CK1. Neste complexo, a β -catenina é fosforilada pela CK1 e pela GSK 3, o que desencadeia sua ubiquitinação e degradação via ubiquitina-proteossomo (ALBERTS et al, 2010).

Regeneração da lesão dentária com uso Inibidores GSK 3

Segundo os estudos analisados neste trabalho (Tabela 1), através da adição de moléculas como a Tideglusib, CHIR, BIO e NP928 pode fornecer uma maneira eficaz de estimular a formação de dentina reparadora através de células-tronco chamadas odontoblastos localizadas na polpa dentária. Isso acontece através da inativação da atividade GSK 3, reparando lesões dentárias de forma natural. De acordo com Ring et al. (2003), os primeiros inibidores sintéticos de GSK 3 relatados foram as aminopirimidinas (análogos de purinas), denominados como CHIRs. Pertencente a essa classe, o CHIR99021 inibe a GSK 3 na faixa de concentração nanomolar, sendo assim um potente inibidor. Além disso, estudos confirmam a alta seletividade de CHIRs em relação à GSK 3 e o aumento da autorrenovação e a

pluripotência em células estaminais embrionárias de camundongos mimetizando a ativação da via de sinalização Wnt sendo que o mesmo ocorre com o composto 6-bromo-indirubina3'-oxima (BIO) (BAIN et al., 2007; YING et al., 2008; LI et al., 2011). Já o tideglusib é um inibidor da GSK 3, atualmente em ensaios clínicos de fase II para o tratamento da doença de Alzheimer e paralisia supranuclear progressiva. A administração em modelos animais diminui a hiperfosforilação da Tau, reduz a carga da placa amilóide no cérebro, melhora o aprendizado e a memória e evita a perda neuronal (DOMÍNGUEZ, 2012).

4 CONCLUSÃO

O uso de inibidores da GSK 3 mostrou-se um método simples, econômico e inovador, inclusive com utilização de substâncias que já foram empregadas experimentalmente como o BIO e o CHIR99021 que foram amplamente utilizados para elevar a atividade Wnt e o Tideglusib para uso sistêmico no tratamento de distúrbios neurológicos, como a doença de Alzheimer. Também se constatou que são poucos os artigos que relataram sobre o uso de inibidores da GSK 3 para regeneração dental em animais. Logo, são necessários mais estudos para tratamento de lesões dentárias na odontologia veterinária, o que significa que o método é inédito.

REFERÊNCIAS

- ALBERTS, Bruce et al. **Biologia molecular da célula**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed Editora Ltda. 1263 p., 2010.
- ALAOHALI, A. et al. GSK3 Inhibitor-Induced Dentinogenesis Using a Hydrogel. **J Dent Res**. 2022, p.46-53.
- BAIN, J. et al. The selectivity of protein kinase inhibitors: a further update. **Biochem. J.**, v. 408, p. 297–315, 2007.
- DINIZ, Breno Sater de Oliveira. **Atividade da enzima Glicogênio Quinas 3 Beta (GSK3) em pacientes idosos com depressão maior: associações com parâmetros clínicos, psicopatológicos e cognitivos**. Tese (Doutorado em Ciência)-USP, São Paulo, 2011.
- COHEN, S.; BURNS, R.C. **Pathways of the Pulp**, Saint Louis: Ed. Mosby. 6ª ed. 753 p. 1994.
- DAVID; CLARKE. Endodontics of dogs and cats: an alternative to extraction. **Australian Veterinary Journal**. v. 72, n. 10, p. 383-389, 1995.
- DOMINGUES, L.M. et al. Tipo e frequência de alterações dentárias e periodontais em cães na região de Jaboticabal, SP. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 51, n.4, 1999.
- DOMÍNGUEZ, Juan Manuel et al. Evidence for Irreversible Inhibition of Glycogen Synthase Kinase-3 by Tideglusib. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 287, n. 2, p. 893–904, 2012.
- GILES, R et al. Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer. **Biochim Biophys Acta**. p.1- 24, 2003.
- HAMDY, Ebthal M. et al. Effect of Tideglusib Drug as Capping Material by Inducing Stem Cell Differentiation in Rabbit Teeth. **Al-Azhar Journal of Dentistry**. 2024.p. 1-12.

HOLMSTROM; Feline Endodontics. In: Harvey, C.E.; **The Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice**; Filadélfia, 1992, v.22, n.6, p.1433-1451.

KARACIC, J. et al. Exploring the staining potential of 1 GSK-3 inhibitors in bovine teeth: 2 a one-year laboratory investigation. **Swiss Dent J**, 2024, p. 1-17.

KORNSUTHISOPON, C. et al. Tideglusib enhances odontogenic differentiation in human dental pulp stem cells in vitro. **Int Endod J**. 2023, p. 369-384.

LEON-ROMA, M.A; GIOSO, M.A. Tratamento de canal convencional: opção à extração de dentes afetados endodonticamente – revisão. **Clínica Veterinária**, n.40, p.32-44, 2002.

LI, W. et al. Rapid induction and long-term selfrenewal of primitive neural precursors from human embryonic stem cells by small molecule inhibitors. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 2011.

MACDONALD, BT et al. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. **Dev Cell**. p. 9-26. 2009.

MENEZES, R et al. Microscopic analysis of dog dental pulp after pulpotomy and pulp protection with mineral trioxide aggregate and with Portland cement. **J Appl Oral Sci**. v.12, 2004.

NEVES, Vitor C. M et al. Promotion of natural tooth repair by small molecule GSK3 antagonists. **Scientific Reports**. p.1-7, 2016.

OLIVEIRA, Liliana Camargo de. 2013. **LESÃO REABSORTIVA DENTÁRIA EM GATOS: Revisão de Literatura**. Monografia (Pós-Graduação, Especialização em Clínica Médica de Felinos) - Equalis, São Paulo, 2013.

PAULO, Luiz Fernando Barbosa de. **Avaliação da expressão gênica e proteica da via de sinalização Wnt/ β -catenina em amostras de leucoplasia bucal e sua relação com fatores prognósticos com ênfase na transformação maligna**. 2016. Dissertação (Doutorado em Odontologia)- Faculdade de Odontologia da UFU, Uberlândia, 2016.

RAO, AC et al. Evaluating the Effect of Tideglusib-Loaded Bioactive Glass Nanoparticles as a Potential Dentine Regenerative Material. **Materials (Basel)**. 2022, p. 4567.

VENTURINI, M. 2006. **Estudo retrospectivo de 3055 animais atendidos no OdontoVet® (Centro Odontológico Veterinário) durante 44 meses**. Dissertação (Mestrado em Cirurgia)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

VERHART. British Small Animal Veterinary Congress 2008, 2008. **Anais eletrônicos...** Londres: 2008. Disponível em:<<https://www.vin.com>>. Acesso em: 30 ago. 2019

YING, Q. L. et al. The ground state of embryonic stem cell self-renewal. **Nature**, v. 453, 519– 523, 2008.

(WSAVA) World Small Animal Veterinary Association. World Small Animal Veterinary

Association. **Global Dental Guidelines**. Disponível em: <<https://www.wsava.org/Global-Guidelines/Global-Dental-Guidelines>>. Acesso em: 23 de julho, 2024.