

INIBIDORES DA GSK–3: UMA NOVA ESTRATÉGIA PARA A REGENERAÇÃO DENTAL

Caroline Orejana Ghizzi Bentos*
Airton Vicente Pereira**

RESUMO: A enzima GSK–3 (glicogênio sintase quinase 3) regula múltiplas etapas da bioquímica celular e alterações em sua atividade estão envolvidas em diversas doenças. Desde a década de 1990, a GSK–3 tornou-se importante sítio–alvo para o desenvolvimento de novos fármacos e vários inibidores foram avaliados para o tratamento de diversas patologias como *diabetes* e doença de Alzheimer. O tideglusibe é um inibidor da GSK–3 planejado para o tratamento da doença de Alzheimer. Recentemente, ficou demonstrado que esse fármaco pode induzir a reparação natural da polpa dental por meio da ativação de células estaminais, levando à regeneração do material dentário da área danificada. Esse processo de regeneração natural representa uma inovação entre as técnicas de restauração dentária ao estimular a multiplicação das células da polpa dental e conduzir à vedação de pequenas cavidades. O objetivo desse artigo é apresentar uma revisão do papel da enzima GSK–3, seus inibidores e os efeitos do tideglusibe na regeneração dental.

PALAVRAS–CHAVE: Inibidores da GSK–3; Tideglusibe; Regeneração dental; Cárie.

GSK–3 INHIBITORS: A NEW STRATEGY FOR DENTAL REGENERATION

ABSTRACT: The enzyme *glycogen synthase kinase 3* (GSK–3) regulates several stages in cell biochemistry and the alterations in its activity involve many diseases. Since the 1990s, GSK–3 became a target site for the development of new drugs and several inhibitors were evaluated for the treatment of pathologies, such as diabetes and Alzheimer disease. Tideglusib is a GSK–3 inhibitor for the treatment of Alzheimer disease. It has been recently demonstrated that the drug may induce the natural repair of the dental pulp through the activation of stamina cells by regenerating dental material of the damaged area. The natural regeneration process is an innovation among dental restoration techniques since it stimulates the multiplication of dental pulp cells and blocks small cavities. The role of GSK–3, its inhibitors and the effects of tideglusib in dental regeneration are investigated.

KEYWORDS: GSK–3 inhibitors; Tideglusibe; Dental regeneration; Caries.

INTRODUÇÃO

A cárie dentária é considerada um problema de saúde pública (ANTUNES et al., 2016), sendo definida como um processo de desmineralização dos dentes provocado por ácidos orgânicos provenientes do metabolismo bacteriano de sacarídeos fermentáveis. Esse processo de dissolução da superfície externa (esmalte) evolui de forma gradual e o primeiro sinal clínico é uma mancha branca na superfície do dente (FERREIRA et al., 2009). Na ausência de tratamento, a cárie evolui para a camada mais interna (dentina), alcança a polpa dentária e conduz rapidamente à destruição de grande parte do dente, acompanhado de processos inflamatório e infeccioso.

Entre os micro–organismos, o *Streptococcus mutans* é considerado o principal agente etiológico de cárie

* Discente do curso de Farmácia – Formação Generalista pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Brasil.
E–mail: carolorejanaa@gmail.com

** Doutor em Química pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR). Docente (Associado B) no Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) Brasil.

dentária (CAUFIELD et al., 2005). Essa bactéria possui a capacidade de metabolizar polissacarídeos em ácidos orgânicos e formar um biofilme na superfície do dente usando glucanos aderentes produzidos a partir da sacarose pela ação de glicosiltransferases (GTF). A GTF é uma enzima que metaboliza a sacarose em seus monômeros constituintes (glicose e frutose). A glicose é utilizada na biossíntese de polissacarídeos extracelulares (insolúveis e adesivos) que aumentam a adesão e a espessura da placa bacteriana (LYNCH et al., 2013).

O diagnóstico e a estimativa da profundidade das lesões cáries são fundamentais para se estabelecer o tratamento. As lesões cáries no esmalte podem ser não cavitadas (incipientes) ou cavitadas, progredindo lentamente ou rapidamente. A cavitação é um fator essencial na progressão da lesão cáries porque, uma vez que a superfície apresente uma cavidade, o biofilme pode alcançar o interior da lesão. Essas lesões são classificadas de acordo com o Sistema Internacional de Avaliação e Detecção de Cáries (ICDAS) em códigos (0 a 6) de acordo com o grau de progressão (AL et al., 2007; JABLONSKI-MOMENI et al., 2008).

O esmalte do dente é dissolvido pelos ácidos orgânicos, oriundos do metabolismo de açúcares, produzidos na placa dentária. As lesões incipientes com microporosidades no tecido do esmalte podem ser efetivamente tratadas deslocando-se o equilíbrio no sentido da remineralização com a aplicação de flúor. A aplicação de flúor confere maior resistência ao esmalte dos dentes à ação dos ácidos desmineralizantes. O flúor possui a capacidade de inibir a desmineralização (perda de cálcio e fosfato) nas superfícies dos dentes e acelerar o processo de remineralização. Na presença de flúor no biofilme bacteriano, enquanto a hidroxiapatita é dissolvida, simultaneamente a fluorapatita é formada (CURY et al., 2009).

Atualmente, as cáries nas superfícies proximais são tratadas com técnicas minimamente invasivas sem a necessidade de aberturas cavitárias e remoção de tecido saudável ao redor da lesão. O procedimento baseia-se no preenchimento dos poros do esmalte afetado pela cárie com uma resina fluida,

impedindo a progressão da lesão cáries (TUMENAS et al., 2014).

Os dentes têm capacidade limitada de regeneração, podem produzir uma pequena extensão de dentina, mas não podem recuperar as cavidades maiores (HUANG, 2011). Em casos mais graves, pode ser necessário um tratamento restaurador quando as lesões cavitárias progrediram até expressiva parte da dentina.

Na câmara pulpar dos dentes, há células tronco capazes de formar odontoblastos que produzem a dentina. Entretanto, essa produção é pequena e insuficiente para regenerar eventuais lesões. O enxerto de células tronco e a aplicação de laser de baixa energia são estratégias investigadas para estimular a produção de dentina (MOURA-NETTO et al., 2016).

Recentemente, foi evidenciado que o fármaco tideglusibe, um inibidor da GSK-3 utilizado para o tratamento da doença de Alzheimer, promove a renovação celular na área da lesão cáries. O fármaco é veiculado em uma esponja de colágeno que é degradada enquanto a dentina substitui o material, conduzindo a uma reparação natural.

2 METODOLOGIA

O presente artigo foi elaborado a partir de uma revisão da literatura científica, realizado no período de abril a agosto de 2017, mediante a consulta a livros e periódicos do acervo da Biblioteca da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) – campus de Uvaranas e artigos científicos selecionados por meio de busca no banco das seguintes bases de dados: Bireme – Biblioteca Virtual em Saúde, LILACS – Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde, SciELO – Scientific Electronic Library Online, Pubmed, Medline e Google Acadêmico, para se obter as informações sobre as funções bioquímicas da enzima GSK-3, da ação de seus inibidores em processos patológicos e na estimulação da regeneração dental.

A proposta desse artigo foi motivada pelo estudo do fármaco tideglusibe, um inibidor da GSK-3,

uma enzima com ampla ação no organismo, podendo uma delas ser a ação na cárie dentária, cuja inibição conduz à regeneração dental. Além disso, a inibição dessa enzima é um mecanismo útil no tratamento de doenças como Alzheimer e transtorno bipolar.

Como estratégia de levantamento de dados, foram utilizados os mesmos descritores em todos os bancos de dados. As palavras-chave utilizadas na busca foram GSK-3, inibidores da GSK-3, cárie e regeneração dental. Os dois autores realizaram as buscas independentemente nas mesmas bases de dados e os artigos foram selecionados de acordo com os critérios inclusão previamente estabelecidos.

Foram excluídos artigos repetidos, aqueles que não tivessem seus conteúdos disponíveis de forma completa e/ou que não fizessem referência direta ao tema pesquisado. Uma vez selecionado, todo o material foi lido na íntegra, buscando-se encontrar consensos, divergências e perspectivas atuais em torno do tema analisado. Após essa etapa, foram analisados os dados.

3 RESULTADOS

Na literatura revisada, observados os descritores, foram encontrados artigos majoritariamente em inglês. A maioria dos artigos foi encontrada na busca pelo PUBMED, nesse caso, todos na língua inglesa.

No total, 80 referências compõem essa revisão. Após busca e armazenamento de dados, verificou-se que são poucos os artigos que relataram sobre o uso de inibidores da GSK-3 para regeneração dental, a maioria abrangeu sobre o efeito da inibição da enzima na doença de Alzheimer e a atuação da GSK-3 no organismo, suas isoformas, e os efeitos de sua inibição em diversas etapas bioquímicas.

Várias pesquisas mostram a importância da inibição da enzima GSK-3 em distúrbios importantes, incluindo desordens metabólicas, como aterosclerose, *diabetes*, doença cardíaca, distúrbios neurológicos, como Parkinson, Alzheimer, esclerose

lateral amiotrófica, esquizofrenia, transtorno bipolar e distúrbios do humor, câncer, envelhecimento (senescência celular, células-tronco do câncer, controle de pluripotência e diferenciação de células-tronco), distúrbios imunológicos entre outros (GAO et al., 2012; JUHASZOVA et al., 2009; SHIMURA et al., 2011, FU et al., 2011; KAWAZOE et al., 2012).

Há artigos de revisão como o de Cohen e Frame (2001) que descrevem estudos realizados com a GSK-3 mostrando que a enzima é expressa de forma geral no organismo e que, inicialmente, foi identificada como um regulador da síntese de glicogênio. Porém, à medida que surgiram mais pesquisas, observou-se que a GSK-3 exerce ampla influência reguladora em mais de 50 alvos e que a inibição da síntese de glicogênio não era sua principal função.

A GSK-3 é descrita como uma serina-treonina quinase que fosforila mais de uma centena de substratos e pode participar na regulação de diversas funções celulares. Na Figura 1 é apresentado um resumo de diferentes efeitos da GSK-3 na atividade da enzima glicogênio sintase, bem como a influência de outras enzimas e compostos na sua atividade. Nelson e Cox (2014) descrevem que a enzima pode existir em formas fosforiladas e desfosforiladas. A sua forma ativa, a glicogênio sintase alfa, é não fosforilada. Para que a GSK-3 possa fosforilar a maioria dos seus substratos, dois sinais devem coincidir temporalmente e espacialmente: indução da fosforilação inicial do substrato e ativação da enzima. O sítio ativo (resíduos 181, 200, 97 e 85) liga-se ao fosfato terminal do ATP e o transfere para o substrato (GOKHALE; TILAK, 2013).

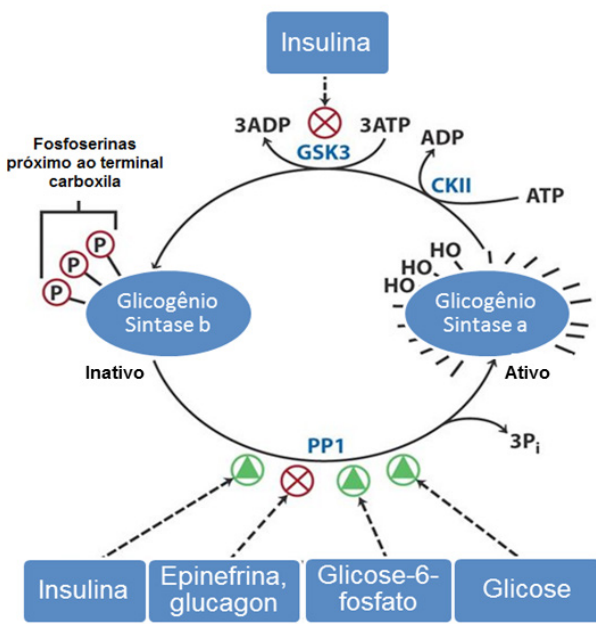


Figura 1. Efeitos de GSK-3 na atividade da enzima glicogênio sintase. A forma ativa da glicogênio sintase (forma a) possui resíduos de aminoácidos serina que são fosforilados pela GSK-3, tornando-a inativa (forma b). A própria ação da GSK-3 depende da fosforilação prévia pela caseína-cinase (CK II). Outros hormônios atuam na regulação da GSK-3: a insulina ativa a glicogênio sintase (forma b) mediante bloqueio da GSK-3 e ativação da PP1 (músculo) e fosfatase (fígado); a epinefrina e o glucagon promovem a dissociação da PP1 da partícula de glicogênio. A glicose-6-fosfato ao se ligar a glicogênio sintase (forma a) torna-a um bom substrato para a PP1, ocasionando a sua defosforilação. A ligação da glicose ao glicogênio sintase (forma a) também favorece a defosforilação. Fonte: Nelson e Cox (2014).

A versatilidade da GSK-3 resulta em sítios potenciais que podem ser suscetíveis a alterações associadas a diversos processos patológicos, anteriormente citados. Os múltiplos mecanismos regulatórios da GSK-3 são particularmente adaptáveis para incorporação em novas vias de sinalização sem perturbar as já existentes (BEUREL et al., 2015).

Seguindo essa linha de pensamento, Eldar-Finkelman e Martinez (2011) descrevem que inibidores da enzima GSK-3 passaram a ser desenvolvidos à medida que tal enzima começou a ser considerada como alvo terapêutico. Essa descoberta trouxe a GSK-3 à atenção de muitos pesquisadores, bem como de empresas farmacêuticas, que buscavam alvos

terapêuticos para a doença de Alzheimer.

Beurel et al. (2015) destacam que há duas isoformas de GSK-3, alfa (α) e beta (β). A isoforma regula os processos relacionados à longevidade, enquanto a isoforma regula o envelhecimento. As estruturas moleculares das duas isoformas são muito semelhantes, mas apresentam “caudas” moleculares diferentes. A GSK-3 α quando ativada regula negativamente pelo menos três vias de pró-envelhecimento: mTOR, Wnt e P53. Por outro lado, GSK-3 β pode promover a formação de placas constituídas principalmente pelo peptídeo β -amiloide e emaranhados neurofibrilares que consistem predominantemente em tau hiperfosforilado, uma proteína de ligação aos microtúbulos, as duas principais causas reconhecidas atualmente da doença de Alzheimer (SUN et al., 2002; PHIEL et al., 2003; LI et al., 2003; SU et al., 2004).

Do mesmo modo, Hanger et al. e Muñoz-Montano et al. (1992; 1997), ao analisarem o funcionamento do cérebro de paciente com doença de Alzheimer, identificaram GSK-3 β como a principal quinase responsável pela hiperfosforilação de tau, levando à formação de emaranhados neurofibrilares observados nos cérebros de pacientes com a doença. Portanto, isoforma parece contribuir em longo prazo para a neurodegeneração relacionada com a idade.

Quanto aos inibidores, Ryves e Harwood (2001) destacam que o lítio (na forma de sal), um estabilizante de humor utilizado no distúrbio bipolar, foi o primeiro inibidor da GSK-3. Os íons lítio atuam competitivamente com os íons magnésio, mas não com o ATP ou o substrato da enzima. Há ainda várias classes de inibidores, que são divididos em ATP competitivos e não competitivos e a homologia dos sítios de ligação do ATP das isoformas GSK-3 α e GSK-3 β constitui um obstáculo para o desenvolvimento de inibidores seletivos. Entre os inibidores ATP-competitivos há compostos naturais (alcaloides) e sintéticos (aminopiridinas, arilindolmaleimidas, aminotiazóis, paulonas) enquanto tricantina, palinurina e manzamina A são exemplos de ATP não competitivos (ELDAR-FINKELMAN; MARTINEZ, 2011).

A descoberta de inibidores da GSK-3 atraiu significativa atenção para potenciais agentes terapêuticos e também como uma ferramenta para se compreender a base molecular da doença de Alzheimer e outras tauopatias. Um esforço importante foi feito nos últimos anos para sintetizar inibidores da GSK-3 altamente seletivos e potentes. Alguns deles mostraram eficácia *in vivo* em vários modelos com animais de doença de Alzheimer (GENTLES et al., 2009; MEDINA; AVILA, 2010), e alguns deles avançaram para testes clínicos (MEDINA; CASTRO, 2008).

A GSK-3 também foi recentemente implicada no processamento de proteína de precursor amiloide (APP)/produção de A β , morte celular apoptótica e aprendizagem e memória. Assim, a inibição de GSK-3 representa um sítio-alvo de fármacos muito atraente e promissor em vários distúrbios neurodegenerativos (MARTINEZ et al., 2011). Além disso, representa um mecanismo importante na ação estabilizadora do humor no transtorno bipolar, demonstrando que é um sítio-alvo viável para intervenções terapêuticas seguras (OLIVEIRA, et al., 2010).

Compostos hipoglicemiantes da classe das tiazolidinodionas (TDZDs) como troglitazona e rosiglitazona (Figura 2), utilizados no tratamento do diabetes, possuem potente ação sensibilizante à insulina que poderia ser resultante da inibição da GSK-3 β mediada por receptores ativados por proliferadores

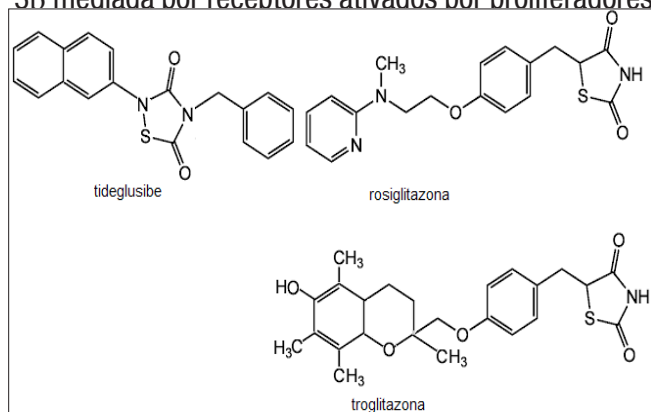


Figura 2: Estruturas de inibidores da GSK-3 da classe das tiazolidinodionas.

Fonte: os autores (2017).

Um dos compostos da classe das TDZDs, conhecido como tideglusibe (Figura 2), foi planejado para o tratamento da doença de Alzheimer e da paralisia supranuclear progressiva, atuando como um inibidor reversível da GSK-3 β (TOLOSA et al., 2014; HOGLINGER et al., 2014; DEL SER et al., 2013). A proposta da ligação de tiazolidinedionas como o tideglusibe à isoforma, envolve a interação com o sítio de ligação do substrato por ligações de hidrogênio por meio dos aminoácidos arginina 96 e lisina 205 e interações de elétrons $\pi\pi$ com a tirosina 216 da estrutura da enzima (SILVA et al., 2014).

Os primeiros inibidores sintéticos da GSK-3 relatados foram as aminopirimidinas, análogos de purinas, planejados pela empresa Chiron e denominados como CHIRs. Dessa classe, potentes inibidores como o CHIR99021 inibem a GSK-3 na faixa de concentração nanomolar (RING et al., 2003). Além disso, estudos confirmaram a alta seletividade de CHIRs em relação à GSK-3 (BAIN et al., 2007). Esses compostos também reduziram potencialmente a fosforilação de tau em cultura de células neuronais e em cérebro de ratos (SELENICA et al., 2007). Da mesma forma que o composto 6-bromo-indirubina-3'-oxima (BIO), compostos CHIRs aumentaram a autorrenovação e a pluripotência em células estaminais embrionárias de camundongos mimetizando a ativação da via de sinalização Wnt (YING et al., 2008; LI et al., 2011). Além disso, compostos CHIRs reduziram a morte neuronal em modelo de isquemia cerebral em ratos (KELLY et al., 2004) e aumentaram os níveis de proteínas de sobrevivência em neurônios motores na atrofia muscular espinhal (MAKHORTOVA et al., 2011). Esses resultados motivaram a pesquisa dos compostos BIO e CHIR99021 juntamente com o tideglusibe na regeneração de odontoblastos para o tratamento da cárie.

Em um estudo coordenado por Neves et al. (2017), foram testados inibidores da molécula de GSK-3, BIO (2'Z, 3'E)-6-bromoindirubina-3'-oxima, CHIR99021 (6-[[2-[[4-(2,4-diclorofenilo)-5-(5-

metil-1H-imidazol-2-il)-2-pirimidinil] amino] etil] amino]-3-piridinacarbonitrilo) e o tideglusibe (4-benzil-2-(naftaleno-1-il)-1,2,4] tiadiazolidina-3,5-diona) para estimular a regeneração da dentina terciária após a exposição da polpa induzida experimentalmente. Esponjas de colágeno biodegradáveis foram utilizadas como veículo para administrar, nos dentes molares de camundongos, baixas doses dos inibidores da GSK-3.

Estudos sobre a inibição da GSK3 e replicação celular também já haviam sido conduzidos com outros tipos de células. Mussmann et al. (2007) realizaram o tratamento de ilhotas de células beta pancreáticas com inibidores GSK-3 e observaram aumento na replicação de 2-3 vezes maior em relação ao controle. Esse resultado levou a proposta de que a GSK-3 atua como um regulador da replicação e sobrevivência das células beta.

No procedimento experimental, realizado por Neves et al. (2017), a perfuração foi realizada nos dois primeiros molares superiores dos animais e as esponjas foram inseridas e deixadas por 4-6 semanas antes da remoção. Para proteger a polpa da contaminação externa e estimular o reparo da dentina, a lesão foi oclusa com o agregado de trióxido de minério (MTA). Foram administrados os inibidores nas seguintes concentrações BIO: 200, 100, 50 nM; CHIR99021: 10, 8, 5 µM; tideglusibe: 200, 100, 50 nM.

Neves et al. (2017) observaram que a mineralização com os inibidores da enzima foi, em média, duas vezes maior do que apenas aplicando esponjas de colágeno e 1,7 vezes maior que o tratamento com agregado de MTA (controle positivo). Após a descalcificação, as seções de cada molar e foram coradas para revelar a formação da dentina. A nova dentina formada nas condições experimentais (com os inibidores da GSK-3) mostrou-se como uma dentina densa localizada centralmente no local da lesão e ausência de esponja de colágeno. Em quatro semanas, o reparo com o MTA evidenciou a presença de nova dentina, enquanto o tratamento apenas com a esponja de colágeno indicou uma formação esparsa de dentina na polpa dentária. BIO e CHIR conduziram a

formação de dentina madura, enquanto o tratamento com tideglusibe resultou no reparo completo com polpa dentária vital após seis semanas. Os autores enfatizam que a esponja de colágeno utilizada como veículo dos fármacos é degradada ao longo do tempo, sendo substituída por uma nova dentina, levando ao reparo natural, completo e efetivo. Este processo rápido e simples de reparação dos dentes pode fornecer uma nova abordagem para a restauração na clínica dentária (NEVES et al., 2017).

Em ensaios pré-clínicos, foi observado que tideglusibe reduziu uma série de alterações da doença de Alzheimer, incluindo fosforilação de tau, deposição de amiloide, perda de neurônio e gliose no córtex entorrinal e hipocampo, para reverter um déficit de memória espacial em camundongos transgênicos (SERENÓ et al., 2009; MORALES-GARCIA et al., 2012).

4 DISCUSSÃO

A enzima GSK-3, descoberta na década de 1970, permaneceu ignorada pela indústria farmacêutica como alvo molecular de fármacos até a metade da década de 1990, quando o seu papel na transdução do sinal de insulina foi estabelecido e a sua relação com a doença de Alzheimer começou a ficar evidente. No final da década de 1990, vários potentes inibidores de GSK-3 foram identificados em ensaios *in vitro* evidenciando o potencial terapêutico no tratamento de *diabetes* (COHEN; GOEDERT, 2004).

Um aspecto importante observado é que a isoforma GSK-3 β está envolvida em várias reações bioquímicas, portanto, os inibidores terapêuticamente úteis não devem afetar processos essenciais. A GSK-3 está envolvida em múltiplos caminhos e regula muitos substratos. Diferentes ambientes em diferentes tecidos/células podem regular a enzima de diferentes maneiras, o que influencia diferentes alvos posteriores. A este respeito, é importante definir e comparar os mecanismos de sinalização GSK-3 em cada tipo de célula. Isso permitirá delinear como as atividades de supressão e promoção da GSK-3 são

contrabalançadas e ajudam a desenvolver potenciais terapêuticos.

Há várias doenças em que a administração de inibidores de GSK-3 pode ser farmacologicamente útil. A inativação de GSK-3 mostra efeitos importantes como ativação de fatores de transcrição importantes para regular a resposta inflamatória inata e adaptativa. Entretanto, na maioria dos casos, o objetivo terapêutico parece não atingir alto grau de inibição de GSK-3, o que provavelmente acarretaria em toxicidade pelas múltiplas funções da enzima.

Para maior êxito, novos fármacos devem influenciar especificamente substratos da GSK-3 que estão desregulados em determinada patologia, ou ainda, compostos que possam inibir a GSK-3, ainda que fracamente, mas o suficiente para prevenir a autoativação em processos patológicos (BEUREL et al., 2015).

Um fato que merece ser destacado sobre o emprego de inibidores da enzima GSK-3 é que o mecanismo desses fármacos em diversas patologias ainda precisa ser estabelecido, e agora se amplia como um novo campo de pesquisa: a regeneração dental. O fármaco tideglusibe é apresentado como uma nova estratégia para a restauração da dentina ao estimular a formação de dentina por meio da mobilização de células estaminais residentes da polpa do dente. Esse processo de regeneração natural representa uma inovação entre as técnicas de restauração dentária ao estimular a multiplicação das células da polpa dental e conduzir à vedação de pequenas cavidades.

O que se verifica com a revisão da literatura é que o emprego de inibidores de GSK-3 no tratamento de cáries e regeneração dental é um marco inicial que deve impulsionar novas pesquisas nessa área, visto que a maioria das pesquisas foca no uso desses inibidores no tratamento da doença de Alzheimer.

5 CONCLUSÃO

Os resultados da pesquisa sobre a enzima GSK-3 evidenciam sua importância na regulação

de várias reações bioquímicas e os efeitos dos seus inibidores no tratamento principalmente de doenças neurodegenerativas. Entretanto, pode-se destacar que a pesquisa com os inibidores da GSK-3 na regeneração dental abre uma nova perspectiva terapêutica para o tratamento da cárie e fármacos como o tideglusibe poderão estar na prática clínica em breve. Ao se identificar a GSK-3 como um novo alvo molecular para regeneração dental, novas moléculas poderão ser planejadas tendo o tideglusibe como composto protótipo para modificações moleculares na busca de fármacos mais eficazes, bem como estimular pesquisas com a avaliação de outros inibidores já existentes como a mesma finalidade.

6 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação Araucária, pela bolsa de Iniciação Científica concedida a acadêmica BENTOS, C. O. G.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, J. L. F. et al. A saúde bucal na agenda de prioridades em saúde pública. **Rev. Saúde Pública**, v. 50, p. 57, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v50/pt_0034-8910-rsp-S1518-87872016050007093.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2017.
- BAIN, J. et al. The selectivity of protein kinase inhibitors: a further update. **Biochem. J.**, v. 408, p. 297-315, 2007.
- BEUREL, E.; GRIECO, F. S.; JOPE, R. S. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): regulation, actions, and diseases. **Pharmacol Ther.**, p. 114-131, 2015 apr. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25435019>>. Acesso em: 20 jul. 2017.
- CAUFIELD, P. W.; LI, Y.; DASANAYAKE, A. Dental caries: an infectious and transmissible disease. **Compend. Contin. Educ Dent.**, v. 26, n. 5 Suppl 1, p. 10-16, maio 2005.

COHEN, P.; FRAME, S. The renaissance of GSK3. **Nat Rev Mol Cell Biol.**, v. 2, p. 769–776, 2001.

COHEN, P.; GOEDERT, M. GSK-3 inhibitors: development and therapeutic potential **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, p. 479–487, 2004.

CURY, J. A.; LIVIA, M. A. T. E. Remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? **Braz. oral res.**, São Paulo, v. 23, supl.1, jun. 2009.

DEL SER, T.; STEINWACHS, K. C.; GERTZ, H. J.; ANDRES, M. V.; CARRILLO, B. G.; MEDINA, M. Treatment of Alzheimer's Disease with the GSK-3 Inhibitor Tideglusib: A Pilot Study. **J Alzheimers Dis.**, v. 33, p. 205–215, 2013.

ELDAR-FINKELMAN, H.; MARTINEZ, A. GSK-3 inhibitors: preclinical and clinical focus on CNS. **Front. Mol. Neurosci.**, v. 4, p. 32, out. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3204427/>>. Acesso em: 19 jun. 2017.

FEJERSKOV, O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, Copenhagen, v. 25, n. 1, p. 5–12, fev. 1997.

FERREIRA, J. M. S.; ARAGÃO, A. K. R.; ROSA, A. D. B.; SAMPAIO, F. C.; MENEZES, V. A. Therapeutic effect of two fluoride varnishes on white spot lesions: a randomized clinical trial. **Braz Oral Res.**, v. 23, n. 4, p. 446–451, out./dez. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bor/v23n4/v23n4a15.pdf>>. Acesso em: 19 jun. 2017.

FU, Y.; HU, D.; QIU, J.; XIE, X.; YE, F.; LU, W. G. Over expression of glycogen synthase kinase-3 in ovarian carcinoma cells with acquired paclitaxel resistance. **Int J Gynecol Cancer.**, v. 21, p. 439–444, abr. 2011.

GENTLES, R. G.; HUA, S.; DUBOWCHIK, G. M. Recent advances in the discovery of GSK-3 inhibitors and a perspective on their utility for the treatment of Alzheimer's disease. **Annu. Rep. Med. Chem.**, v. 44, p. 3–26, 2009.

GREWAL, H.; VERMA, M.; KUMAR, A. Prevalence and dental caries and treatment needs in the rural child

population of Nainital district, Uttaranchal, **J Indian Soc Pedod Prevent Dent.**, v. 27, n. 4, p. 224–226, 2009.

GRIMES, C. A.; JOPE, R. S.; CREB DNA binding activity is inhibited by glycogen synthase kinase-3 beta and facilitated by lithium. **J. Neurochem.** v. 78, p. 1219–1232, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1947002/>>. Acesso em: 18 jun. 2017.

GOKHALE, K. M.; TILAK, B. P. Role of Glycogen Synthase Kinase (GSK-3) in Type-2 Diabetes and GSK-3 Inhibitors as Potential Anti-Diabetics. **Int. J. Pharm. Phytopharmacol. Res.**, v. 3, n. 3, p. 196–199, 2013.

GUSHI, L. L. et al. Cárie dentária e necessidades de tratamento em adolescentes do estado de São Paulo, 1998 e 2002. **Rev. Saúde Pública.** São Paulo, abr. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102008005000015>>. Acesso em: 15 jul. 2017.

ELDAR-FINKELMAN, H.; MARTINEZ, A. GSK-3 Inhibitors: Preclinical and Clinical Focus on CNS. **Front Mol Neurosci.**, v. 4, p. 32, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3204427/>>. Acesso em: 10 jun. 2017.

HANGER, D. P.; HUGHES, K.; WOODGETT, J. R.; BRION, J. P.; ANDERTON, B. H. Glycogen synthase kinase-3 induces Alzheimer's disease-like phosphorylation of Tau: generation of paired helical filament epitopes and neuronal localisation of the kinase. **Neurosci. Lett.**, v. 147, p. 58–62, 1992.

HOGLINGER, G. U.; HUPPERTZ, H. J.; WAGENPFEIL, S.; ANDRES, M. V.; BELLOCH, V.; LEON, T. Tideglusib reduces progression of brain atrophy in progressive supranuclear palsy in a randomized trial. **Mov Disord.**, v. 29, p. 479–487, 2014.

HUANG, G. T. J. Dental Pulp and Dentin Tissue Engineering and Regeneration – Advancement and Challenge. **Front Biosci (Elite Ed)**, v. 3, p. 788–800, 2011.

JABLONSKI-MOMENI, A.; STACHNISS, V.; RICKETTS, D. N.; HEINZEL-GUTENBRUNNER, M.; PIEPER, K. Reproducibility and accuracy of the ICDAS-II detection

- of occlusal caries in vitro. **Caries Res.**, v. 42, p. 79–87, 2008.
- JUHASZOVA, M.; ZOROV, D. B.; YANIV, Y.; NUSS, H. B.; WANG S.; SOLLITT S. J. Role of glycogen synthase kinase–3[beta] in cardioprotection. **Circ Res.**, v. 104, p. 1240–1252, 2009.
- KAWAZOE H.; BILIM V. N.; UGOLKOV A. V.; YUUKI K.; NAITO S.; NAGAOKA A.; KATO T.; TOMITA Y. GSK–3 inhibition *in vitro* and *in vivo* enhances antitumor effect of sorafenib in renal cell carcinoma (RCC). **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 423, p. 490–495, 2012.
- KELLY, S. et al. Glycogen synthase kinase 3 beta inhibitor Chir025 reduces neuronal death resulting from oxygen–glucose deprivation, glutamate excitotoxicity, and cerebral ischemia. **Exp. Neurol.**, v. 188, p. 378–386, 2004.
- LEHMANN, J. M.; MOORE, L. B.; SMITH–OLIVER, T. A.; WILKISON, W. O.; WILLSON, T. M.; KLIEWER, S. A. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator–activated receptor gamma (PPAR gamma). **J Biol Chem.** v. 270, n. 22, p. 12953–12956, 1995.
- LI, W. et al. Rapid induction and long–term self–renewal of primitive neural precursors from human embryonic stem cells by small molecule inhibitors. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 108, 2011.
- LYNCH, D. J. et al. Cariogenicity of Streptococcus mutans Glucan–Binding Protein Deletion Mutants. **Oral Health Dent Manag.**, v. 12, n. 4, p. 191–199, dez. 2013.
- MAKHORTOVA, N. R. et al. A screen for regulators of survival of motor neuron protein levels. **Nat. Chem. Biol.**, v. 7, p. 544–552, 2011.
- MATEO, I. et al. Epistasis between Tau phosphorylation regulating genes (CDK5R1 and GSK–3) and Alzheimer’s disease risk. **Acta Neurol. Scand.**, v. 120, p. 130–133, 2009.
- MEDINA, M.; AVILA, J. Glycogen synthase kinase–3 (GSK–3) inhibitors for the treatment of Alzheimer’s disease. **Curr. Pharm. Des.**, v. 16, 2790–2798, 2010.
- MEDINA, M.; CASTRO, A. Glycogen synthase kinase–3 (GSK–3) inhibitors reach the clinic. **Curr. Opin. Drug Discov. Devel.**, v. 11, p. 533–543, 2008.
- MORALES–GARCIA, J. A. et al. Glycogen synthase kinase 3 inhibition promotes adult hippocampal neurogenesis in vitro and in vivo. **ACS Chem Neurosci.**, v. 3, n. 11, p. 963–971, nov. 2012.
- MOURA–NETTO, C.; FERREIRA, L. S.; MARANDUBA, C. M.; MELLO–MOURA, A. C. V.; MARQUES, M. M. Low–intensity laser phototherapy enhances the proliferation of dental pulp stem cells under nutritional deficiency. **Braz. Oral. res.**, São Paulo, v. 30, n.1, 2016.
- MUÑOZ–MONTAÑO, J. R.; MORENO, F. J.; AVILA, J.; DIAZ–NIDO, J. Lithium inhibits Alzheimer’s disease–like Tau protein phosphorylation in neurons. **FEBS Lett.**, v. 411, p. 183–188, 1997.
- MUSSMANN, R. et al. Inhibition of GSK3 promotes replication and survival of pancreatic beta cells. **J Biol Chem.** v. 282, n. 16, p. 12030–12037, abr. 2007.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger.** 6. ed. Porto Alegre, 2014.
- NEVES, V. C. M.; BABB, R.; CHANDRASEKARAN, D.; SHARPE P. T. Promotion of natural tooth repair by small molecule GSK3 antagonists. **Scientific Reports.** jan. 2017.
- OLIVEIRA, J. L.; et al. Nefrotoxicidade por Lítio. Artigo de Revisão. **Rev Assoc Med Bras.**, Fortaleza, v. 56, n. 5, p. 600–606, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ramb/v56n5/v56n5a25>>. Acesso em: 30 jul. 2017.
- PHIEL, C. J. et al. GSK–3 regulates production of Alzheimer’s disease amyloid– peptides. **Nature**, v. 423, p. 435–439, 2003.
- RING, D. B. et al. Selective glycogen synthase kinase 3 inhibitors potentiate insulin activation of glucose transport and utilization in vitro and in vivo. **Diabetes**, v. 52, p. 588–595, 2003.
- SELENICA, M. L. et al. Efficacy of small–molecule glycogen synthase kinase–3 inhibitors in the postnatal rat model of tau hyperphosphorylation. **Br. J. Pharmacol.**, v. 152, p. 959–979, 2007. 10.1038/sj.bjp.0707471.

SERENÓ, L. et al. A novel GSK-3 beta inhibitor reduces Alzheimer's pathology and rescues neuronal loss in vivo. **Neurobiol Dis.**, v. 35, n. 3, p. 359-367, set. 2009.

SHIMURA, T. Acquired radioresistance of cancer and the AKT/GSK3beta/cyclin D1 overexpression cycle. **J Radiat Res.**, v. 52, p. 539-544, 2011.

SILVA, T. et al. Alzheimer's disease, enzyme targets and drug discovery struggles: from natural products to drug prototypes. **Ageing Res. Rev.**, v. 15, p. 116-145, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568163714000452>>. Acesso em: 20 jun. 2017.

SU, Y. et al. Lithium, a common drug for bipolar disorder treatment, regulates amyloid- β precursor protein processing. **Biochemistry.**, v. 43, p. 6899-6908, 2004.

SUN, X. et al. Lithium inhibits amyloid secretion in COS7 cells transfected with amyloid precursor protein C100. **Neurosci Lett.**, v. 321, n. 1-2, p. 61-64, mar. 2002.

TOLOSA, E. et al. A phase 2 trial of the GSK-3 inhibitor tideglusib in progressive supranuclear palsy. **Mov Disord.**, v. 29, p. 470-478, 2014.

TUMENAS, I.; PASCOTTO, R.; SAADE, J. L.; BASSANI, M. Odontologia Minimamente Invasiva Minimally. **Rev assoc paul cir dent.** v. 68, n. 4, p. 283-295, 2014.

YING, Q. L. et al. The ground state of embryonic stem cell self-renewal. **Nature**, v. 453, 519-523, 2008. 10.1038/nature06968.

Recebido em: 31 de agosto de 2017

Aceito em: 26 de outubro de 2017