


NANOPARTÍCULAS DE PRATA NO TRATAMENTO DA CÁRIE EM DENTIÇÃO DECÍDUA: ALTERNATIVAS AO DIAMINO FLUORETO DE PRATA E IMPACTOS GENÉTICOS

 <https://doi.org/10.56238/sevened2024.034-002>

Gabriela Paschoalini Romagni
Mestre

Fernanda Almirante Buzinaro
Mestranda

Sandrine Bittencourt Berger
Doutora

Regina Célia Poli
Doutora

E-mail: regina.frederico@cogna.com.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4631-4606>

RESUMO

O tratamento da cárie dentária na dentição decídua pode ser realizado a partir de produtos que controlem o processo cariioso reduzindo a atividade bacteriana. Produtos à base de nanopartícula de prata vêm sendo estudados para a paralisação da doença cárie, sem ocasionar o escurecimento dentário. Os efeitos das nanopartículas no ambiente e saúde humana não estão totalmente esclarecidos, assim o objetivo deste estudo é descrever o papel do diamino floreto de prata e cariostáticos experimentais e seus efeitos sobre a expressão dos genes BMP-7, TNF- α e TGF- β .

Palavras-chave: Cariostático. Cárie dentária. Dente decíduo. Expressão gênica.



1 INTRODUÇÃO

O tratamento da cárie dentária na dentição decídua pode ser realizado a partir de produtos que controlem o processo cariioso reduzindo a atividade bacteriana, enquanto aguarda-se a mudança dos hábitos inadequados do paciente de higiene e nutrição (DITTERICH *et al.*, 2006). Neste contexto, os materiais odontológicos devem ser de fácil aplicação (ALMEIDA; CAVALCANTI; VALENÇA, 2011) visto a dificuldade de manejo da criança, com poucos efeitos colaterais, alta eficiência, e baixo custo (BURGESS; VAGHELA, 2018).

Levando em consideração esses aspectos, o diamino fluoreto de prata (DFP) tem sido utilizado em todo o mundo (BURGESS; VAGHELA, 2018) como uma solução que detém o processo cariioso, além de ser um agente preventivo para o desenvolvimento de futuras lesões (ROSENBLATT; STAMFORD; NIEDERMAN, 2009). A efetividade desse produto a base de prata no tratamento de lesões cariosas é respaldada por literatura científica (ROSENBLATT; STAMFORD; NIEDERMAN, 2009, GAO, *et al.*, 2016a, CHENG, 2017).

Apesar dos diversos benefícios, o DFP possui como principal desvantagem o escurecimento dos dentes, causando prejuízo estético (BURGESS; VAGHELA, 2018). Desta forma, produtos à base de nanopartícula de prata vêm sendo estudados (GUZMÁN; DILLE; GODET, 2009, CHALOUPKA; MALAM; SEIFALIAN, 2010, SANTOS, *et al.*, 2014, TARGINO, *et al.*, 2014, ZHANG, *et al.*, 2015, GUO, *et al.*, 2016b, SCARPELLI, *et al.*, 2017, SCHWASS, *et al.*, 2018, NAGIREDDY, *et al.*, 2019, XU, *et al.*, 2019) como uma alternativa ao uso do DFP, pois apresentam-se eficientes na paralização da doença cárie, sem ocasionar o inconveniente estético de escurecimento dentário (SANTOS, *et al.*, 2014). As nanopartículas de prata (AgNps) ganharam um interesse significativo devido às suas notáveis propriedades antimicrobianas (SANTOS, *et al.*, 2014), com amplo espectro e algumas preocupações sobre questões de segurança e toxicidade.

Os efeitos das nanopartículas no ambiente e saúde humana não estão totalmente esclarecidos (ATALAY; ÇELİK; AYAZ, 2018). A maior parte dos estudos deram maior ênfase na citotoxicidade das AgNPs, demonstrando que concentrações entre 0,05-0,70% não apresentaram citotoxicidade contra células humanas (MARTINEZ-GUTIERREZ, *et al.*, 2013). Todavia, os estudos a respeito da caracterização desse material sob o aspecto de modulação de genes, são escassos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a expressão dos genes BMP-7, TNF- α e TGF- β , de um cariostático experimental a base de nanopartículas de prata, em células de fibroblastos de camundongo L929.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DIAMINO FLUORETO DE PRATA

A cárie dentária pode ser definida como uma dissolução química dos tecidos dentários duros, causada por subprodutos ácidos provenientes dos processos metabólicos do biofilme que recobrem a

superfície dentária afetada (SELWITZ; ISMAIL; PITTS, 2007). Atualmente, é considerada uma doença biofilme sacarose dependente complexa, pois o açúcar proveniente da dieta, assume um papel determinante no processo carioso (SHEIHAM; JAMES, 2015). Tradicionalmente, o tratamento mais indicado para essa doença consiste na remoção do tecido desmineralizado e restauração da cavidade (BURGESS; VAGHELA, 2018).

Historicamente, no Japão, mulheres casadas utilizavam uma solução chamada ohaguro, que pigmentava os dentes em uma tonalidade escura, caracterizando seu estado civil. Essa solução possuía íons ferro em sua composição, e após algum tempo, observou-se um menor índice de lesões cariosas nessas mulheres (MACIEL, 1988, JUNIOR; SOUZA; ROSENBLATT, 2012). Em 1969, a solução do diamino fluoreto de prata foi introduzido na prática odontológica por Yamaga e Yokomizo, para a prevenção e paralisação de cárie dentária (COUTINHO, 2002).

O DFP, cuja fórmula química é representada por $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$, é uma solução alcalina incolor que contém em sua composição prata e fluoreto, formando um complexo com amônia (CHU; LO, 2008). A amônia tem por objetivo a manutenção da concentração constante da solução por um determinado período (ROSENBLATT; STAMFORD; NIEDERMAN, 2009, MEI; LO; CHU, 2016). Os compostos de prata são utilizados a muito tempo tanto em medicina quanto em odontologia por suas propriedades antimicrobianas (ROSENBLATT; STAMFORD; NIEDERMAN, 2009, PENG; BOTELHO; MATINLINNA, 2012). O fluoreto na solução produz fluorohidroxiapatita (MEI, *et al.*, 2013), utilizado na odontologia de diversas maneiras objetivando a prevenção da doença cárie (CHU; LO, 2008). Portanto, devido à combinação dessas características, foi sugerido que prata e fluoretos apresentem a capacidade de interromper a progressão da lesão cariosa e simultaneamente, impedir o desenvolvimento de novas lesões de cárie (ROSENBLATT; STAMFORD; NIEDERMAN, 2009).

O $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$, atua na porção inorgânica, através da reação do fluoreto de sódio com a hidroxiapatita, e também, na parte orgânica das proteínas pelo nitrato de sódio (NISHINO; MASSLER, 1977, RODRIGUES; OLIVEIRA; ANDO, 1989, ROCHA *et al.*, 1999). Em 1976, Shimizu e Kawagoe (SHIMIZU; KAWAGOE, 1976) descreveram o mecanismo de ação do DFP, dividindo-o em três, onde o primeiro ocorre a partir da obstrução dos túbulos dentinários, alterando sua morfologia em relação a diminuição do calibre, além de apresentar prata em seu interior. Essa obliteração dificulta a invasão bacteriana e difusão de seus ácidos. O segundo mecanismo, caracteriza-se por sua ação cariostática, envolvendo o DFP e o componente mineral do substrato; a ação do flúor proporciona um aumento de resistência ao tecido dentinário, conseqüentemente diminuindo a penetração ácida em camadas mais profundas do elemento dentário. O terceiro, pela ação do diamino fluoreto de prata com a proteína dentinária, que ocasiona uma maior resistência à colagenase e à tripsina. (OPPERMANN; JOHANSEN, 1980)

A prata possui grande variabilidade de ação, podendo atuar com organismos vivos, regiões intracelulares ou até em atividades vitais das células. Estudos realizados por Lansdown (2002; 2006) (LANSDOWN, 2002, LANSDOWN, 2006) demonstram interação da prata com grupos sulfidríla das proteínas e DNA, modificando as ligações com hidrogênio, impedindo processos celulares vitais, como a respiração, divisão e síntese (LANSDOWN, 2002, LANSDOWN, 2006). Além disso, a prata possui a propriedade de inibir a formação do biofilme. (WU et al., 2007)

Técnicas minimamente invasivas têm apresentado crescente aceitação (KIDD, 2004) permitindo tratamentos com poucos recursos (SCHWASS, *et al.*, 2018), possibilitando o atendimento em locais de baixo nível socioeconômico, tornando-se uma forma simples de resolução do problema cárie (GAO, *et al.*, 2016b). Além disso, as técnicas menos invasivas são mais eficazes em pacientes pouco colaboradores (SCHWASS, *et al.*, 2018).

Embora seja um material muito utilizado e considerado de fácil aplicação e minimamente invasivo, não possui um protocolo padronizado completamente estabelecido (CONTRERAS et al., 2017, FRANCELINO, et al., 2019). Recomenda-se a realização de uma profilaxia prévia, realização de isolamento relativo bem executado e proteção dos tecidos moles adjacentes com vaselina. Em seguida, produto deverá ser aplicado com o auxílio de um microbrush durante 3 minutos, e em seguida, realizar lavagem do elemento em questão (SANTOS *et al.*, 2008). As aplicações realizadas semestralmente possuem maior eficácia do que quando feitas anualmente (CLARK; SLAITON, 2014; FUNG et al., 2016; FUNG et al., 2018). Apesar dessas evidências, não foi estabelecido ainda um consenso sobre a frequência e número de aplicações. (GAO et al., 2016a).

O $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ é capaz de realizar a paralisação do processo cariioso de forma efetiva (GAO, *et al.*, 2016b). É facilmente aplicado nos dentes, não exigindo grande treinamento do operador (BURGESS; VAGHELA, 2018), possuindo baixo custo e poucos efeitos colaterais (SCHWASS, *et al.*, 2018). Além disso, não caracteriza um procedimento invasivo (NAGIREDDY, *et al.*, 2019), pois elimina o uso de instrumentos rotatórios, reduzindo o risco de transmissão de doenças (NAGIREDDY, *et al.*, 2019) por aerossóis infecciosos através do ar (JONES; BROUSSEAU, 2015), além de proporcionar uma maior aceitação em pacientes pediátricos (SCHWASS, *et al.*, 2018).

O DFP é muito usado nos serviços públicos e privados de saúde (PENG; BOTELHO; MATINLINNA, 2012) sendo indicado para pacientes pediátricos que não cooperam com procedimentos restauradores complexos e com alta atividade de cárie em dentes decíduos (CHU; LO, 2008, SHAH, *et al.*, 2014).

O diamino fluoreto de prata encontra-se disponível no mercado em concentrações de 10%, 12%, 30% e 38%. (JUNIOR; SOUZA; ROSENBLATT, 2012). Porém, estudos indicam que a solução de 38% se mostra mais eficaz no tratamento preventivo da cárie dentária (LO; CHU; LIN, 2001, CHU; LO; LIN, 2002, LLODRA, *et al.*, 2005, SANTOS, *et al.*, 2014, BURGESS; VAGHELA, 2018). Essa

concentração é mais eficiente na inibição da atividade da colagenase e na prevenção da degradação do colágeno do que em baixas concentrações (SHARMA; PURANIK; K.R., 2015, ZHAO, *et al.*, 2018).

Apesar de apresentar diversos benefícios, o diamino fluoreto de prata apresenta como principal desvantagem, o escurecimento dos dentes cariados em tons de marrom escuro a preto (HIRAISHI, *et al.*, 2010), causando prejuízo estético e insatisfação aos pacientes e responsáveis (BURGESS; VAGHELA, 2018). Por esse motivo, durante o tratamento deve ser anexado ao registro do tratamento um consentimento livre e esclarecido informando que as estruturas dentárias acometidas pela doença ficarão escurecidas (BURGESS; VAGHELA, 2018).

Essa pigmentação é causada pela oxidação da prata ionizada em prata metálica, limitando o uso dessa solução em pacientes mais exigentes em relação a estética. Além desse inconveniente, o material apresenta um sabor metálico desagradável. Também, pode produzir gengivite transitória devendo-se evitar o contato com tecido mole a partir do uso de dique de borracha, roletes de algodão ou proteger o tecido gengival com vaselina (MEI; LO; CHU, 2016).

2.2. NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Na busca por um produto que agregue vantagens ao diamino fluoreto de prata (DFP) sem prejuízo estético, as nanopartículas de prata (AgNPs) vêm ganhando destaque (PENG; BOTELHO; MATINLINNA, 2012). Um agente cariostático a base de nanopartículas de prata tem sido estudado, onde evidências sugerem não ocasionar alteração de coloração dos dentes acometidos pela doença após sua aplicação (SANTOS, *et al.*, 2014, TARGINO, *et al.*, 2014, ESPINDOLA-CASTRO, *et al.*, 2020). Esse agente tem apresentado baixa toxicidade para células vivas e possui eficácia antibiótica semelhante ao DFP contra *Streptococcus mutans* (TARGINO, *et al.*, 2014).

Os compostos que possuem prata na composição, a muito tempo são aplicados na odontologia devido a sua atividade antimicrobiana. A princípio, foram utilizados em sua forma iônica, e mais recentemente, na forma de nanopartículas (PENG; BOTELHO; MATINLINNA, 2012). As AgNPs, são agentes antimicrobianos, e devido as suas propriedades físicas e químicas, como forma, hidrofobicidade e superfície de carga, são usados em muitos campos, como no tratamento de infecções e produção de materiais dentários (MORONES, *et al.*, 2005, QING, *et al.*, 2018). Esses metais nanoparticulados e óxidos metálicos possuem efeitos bactericidas importantes sobre a cárie dentária (NGUYEN; HIORTH, 2015, SCARPELLI, *et al.*, 2017).

Estudos indicam que o mecanismo de ação das AgNPs depende de sua capacidade de penetrar na parede celular bacteriana (SANTOS, *et al.*, 2014, DURAN, *et al.*, 2016). A passagem de AgNPs menores que 10 nanômetros (nm) de diâmetro para o interior da matriz citoplasmática, poderá ocasionar interferência em uma série de processos celulares (MORONES, *et al.*, 2005). Essa penetração para o interior das células, poderá resultar em peroxidações lipídicas diretas e indiretas que

destroem a membrana celular, levando a interrupção da replicação do DNA, e inibindo a respiração celular (TARGINO, *et al.*, 2014, DURAN, *et al.*, 2016).

As características fundamentais das nanopartículas metálicas dependem de suas formas, tamanhos, configurações, cristalinidade e estrutura (AHMED, *et al.*, 2017). Podem ser sintetizadas de várias maneiras, que inclui formas de redução química, fotoquímica, técnicas de aerossol de irradiação a laser (EVANOFF JR; CHUMANOV, 2005), ou aproveitando os processos biológicos naturais (VAIDYANATHAN, *et al.*, 2009), sendo que modo de produção influenciará no tamanho e formato das AgNPs.

Sabe-se que, quanto menores as nanopartículas se apresentam, menor será sua área de superfície e maior a sua reatividade em relação a prata iônica. Ou seja, essa característica aumenta exponencialmente quando o tamanho da partícula é diminuído (PAL; TAK; SONG, 2007, GUZMÁN; DILLE; GODET, 2009, BURGESS; VAGHELA, 2018, SCHWASS, *et al.*, 2018). Além disso, à medida que essas partículas diminuem, na faixa de 6 a 9 nm, exibem uma cor amarelo pálido, convenientemente próxima da cor da dentina (GUZMÁN; DILLE; GODET, 2009).

Sendo assim, o uso de cariostático a base de nanopartículas de prata não ocasionará o escurecimento do tecido dental desmineralizado provocado pela precipitação da prata (SANTOS, *et al.*, 2014, TARGINO, *et al.*, 2014, ESPINDOLA- CASTRO, *et al.*, 2020). Esse produto agrega vantagens conhecidas do DFP como interromper a progressão clínica da lesão cariiosa, adiar cuidados restauradores definitivos em crianças não colaboradoras (SCHWASS, *et al.*, 2018), efeito antimicrobiano e ação remineralizante (SCARPELLI, *et al.*, 2017). Além disso, possui um protocolo de aplicação simples, não sendo necessários equipamentos dentários completos ou ambiente clínico, levando também à uma diminuição no risco de infecção (NAGIREDDY, *et al.*, 2019). Ressalta-se que este produto não ocasiona lesões nos tecidos moles orais (NAGIREDDY, *et al.*, 2019) e não possui sabor metálico (SANTOS, *et al.*, 2014, NAGIREDDY, *et al.*, 2019).

Embora o cariostático a base de nanopartículas de prata se mostre promissor, não apresentam ainda a mesma consolidação literária em comparação ao DFP, principalmente no que diz respeito às propriedades biológicas desse material. Por esse motivo, existe a necessidade de novos estudos abordando essa temática.

2.3 PCR EM TEMPO REAL

A Reação em cadeia da polimerase (PCR - Polimerase Chain Reaction) foi desenvolvida em 1983, por Kary B. Mullis, sendo considerada um grande avanço nas técnicas de biologia molecular (MULLIS, 1990). Em 1993, o pesquisador recebeu o prêmio Nobel de química devido ao alcance conquistado pela técnica. A PCR se baseia na replicação *in vitro* em larga escala da molécula de DNA,

permitindo a realização de diversas análises a partir de um fragmento molde (WENG; RUBIN; BRISTOW 2006, YANG; ROTHMAN, 2004).

A reação de PCR possibilitou a ampliação da análise do material genético, expandindo sua aplicabilidade para diversos setores como na medicina, biotecnologia, odontologia, entre outros. Para a obtenção de diversas cópias de uma sequência específica do ácido nucléico, são realizados ciclos com alterações térmicas, replicando condições fisiológicas do organismo. Para que o processo de duplicação ocorra, é necessária a utilização de uma fita molde, nucleotídeos, primers e enzima DNA polimerase (YANG; ROTHMAN, 2004).

A técnica de PCR convencional se divide basicamente em três etapas: desnaturação, pareamento e extensão. Os ciclos são repetidos inúmeras vezes, e sua avaliação é realizada posteriormente através da eletroforese em gel de agarose. Um avanço biotecnológico possibilitou a utilização da PCR em tempo real (qPCR), técnica que apresenta maior sensibilidade, especificidade e rapidez, permitindo resultados em 2 a 3 horas. A maior diferença entre os dois testes, é que a qPCR faz uso de sondas fluorescentes, que permitem a visualização dos resultados em tempo real. Durante o ensaio, essas sondas promovem a emissão da fluorescência, que aumenta de maneira proporcional à amplificação do DNA. (PAIVA-CAVALCANTI; LORENA; GOMES, 2008)

Um exemplo de sonda que pode ser utilizado durante a qPCR é o sistema de sonda hidrolisável como a TaqMan (Applied Biosystems, Perkin-Elmer Corp.), que é direcionada especificamente para a região onde se deseja realizar a amplificação. Durante o ensaio, ocorre a degradação da sonda, levando a emissão de um fluorocromo, que absorve energia e libera luz (YANG; ROTHMAN, 2004). A partir desse sinal luminoso, ocorre a leitura por um detector e amplificador de sinal, que traçam um gráfico com as informações obtidas após cada ciclo da qPCR (MORTARINO, *et al.*, 2004).

Os valores de quantificação são expressos em fold change. Tem sido proposto o cálculo do valor da expressão relativa sem correção da eficiência, denominado “método do Cq comparativo”. Este método não utiliza a correção da eficiência da reação, pois se baseia no requisito de que tanto gene de interesse (GDI) como gene de controle interno -referência (GDR) apresentam uma eficiência ~100% e similares entre elas, com limites de tolerância de 5-10% (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001). Vale ressaltar que, o Cq é o número do ciclo onde a fluorescência atravessa um limiar estabelecido, sendo utilizado como valor de quantificação da reação. Para este cálculo, estabelece-se uma amostra, linhagem celular, equivalente tecidual normal ou valor grupal (por exemplo, média do grupo controle) como calibrador (valor 1). O cálculo é realizado mediante a equação (1.5):

$$\text{Fold change} = 2^{-\Delta\Delta Cq} \quad (1.5)$$

Onde $\Delta\Delta Cq = [(Cq \text{ GDI amostra} - Cq \text{ GDR amostra}) - (Cq \text{ GDI calibrador} - Cq \text{ GDR calibrador})]$ e o número 2 representa uma eficiência de 100%.

A qPCR possui diversas vantagens como a reprodutibilidade, capacidade de quantificação e velocidade da técnica, já que essa modalidade elimina a etapa da eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida, convencionalmente utilizada durante a PCR convencional (SUNDSFJORD, *et al.*, 2004, YANG; ROTHMAN, 2004). Além disso, permite o monitoramento em tempo real do produto que está sendo amplificado durante a técnica.

2.4 FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADOR BETA (TGF- β)

O Fator de transformação do crescimento beta (TGF- β – Transforming growth factor beta) é uma proteína extracelular essencial para a sobrevivência, pois desempenha importantes funções nas atividades celulares, como a proliferação, desenvolvimento, inflamação e imunidade do hospedeiro. (CLARK; COKER, 1998, MORIKAWA; DERYNCK; MIYAZONO, 2016)

O TGF- β se une a receptores específicos na membrana celular, induzindo a geração de novos tecidos, atuando como sinalizadores moleculares que modulam o comportamento das células. Após o início dessa cascata intracelular, podem atuar de maneira autócrina ou parácrina, sendo alterados pela matriz extracelular, células vizinhas e outras citocinas, agindo diretamente sobre as células alvo (CLARK; COKER, 1998, KIM *et al.*, 2012)

Esse fator de crescimento pertence a Superfamília TGF- β 1, que também agregam activinas, miostatinas e as proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) (SEERGER; MUSSO; SOZZANI, 2015), possuem fundamental importância no reparo tecidual, sendo muito avaliados devido ao seu potencial terapêutico (BARRIENTOS *et al.*, 2008). O TGF- β apresenta grande destaque, por participar do reparo de injúrias teciduais, atraindo macrófagos e fibroblastos para o local da injúria (ROUSSELLE; BRAYE; DAYAN, 2018).

O TGF- β 1 possui cinco diferentes formas, codificados por 23 genes diferentes (BURT; LAW, 1994), sendo que apenas três isoformas são expressas em mamíferos, denominadas de TGF- β 1, β 2, β 3. Esses são responsáveis por sinalizar a inflamação, angiogênese, reepiteliação e formação de tecido de granulação (WERNE; GROSE, 2003).

Fatores de crescimento como TGF- β e as BMPs (proteínas ósseas morfogenéticas) têm sido avaliados em sua capacidade de induzir e mediar a diferenciação das células-tronco em células pré-odontoblastos (GANESH; MASSAGUÉ, 2018). O TGF- β possui ação quimiotática e guia a diferenciação celular e a síntese da matriz extracelular (GALLER *et al.*, 2015).

2.5 PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS ÓSSEAS (BMPs)

As proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs - Bone Morphogenetic Protein) são fatores de crescimento multifuncionais (JIN *et al.*, 2003), reguladoras de formação de cartilagem e osso, pertencentes a superfamília do Fator de crescimento transformador β (TGF- β) (YAMASHIRO *et al.*,

2003). Essas proteínas estão presentes em seres vertebrados e invertebrados, e sua conservação evolucionária indica atuação direta no desenvolvimento adequados dos animais. (GONÇALVES; GUIMARÃES; GARCIA, 1998).

A análise da identidade das BMPs permite sua classificação em subgrupos de acordo com suas identidades sequenciais. A BMP-2 e BMP-4 possuem 80% de homologia entre si, já a BMP-5, BMP-6, BMP-7 e BMP-8 apresentam 78% de aminoácidos similares (RENGACHARY, 2002). A BMP-3 forma sozinha um subgrupo, com 45% da sequência homologa ao BMP-2. A BMP-1 se diferencia do restante por não pertencer a superfamília do TGF- β , sendo considerada como pró- colageno C proteinase. (GONÇALVES; GUIMARÃES; GARCIA, 1998).

Essas proteínas desempenham grande importância no que diz respeito à diferenciação celular, atuando no crescimento e diferenciação de vários tipos teciduais (COOK; RUEGER, 1996). São encontradas na matriz orgânica dentinária e óssea, podendo também ser sintetizados a partir de terapia de gene recombinantes, usando vetor viral (GONÇALVES; GUIMARÃES; GARCIA, 1998). Estudos determinaram que as propriedades biológicas das BMPs ou TGF- podem induzir o desenvolvimento de tecido dentinário reparativo (SIX; LASFARGUES; GOLDBERG, 2002)

BMPs são responsáveis pela morfogênese de tecidos dentais e de suporte, incluindo gengiva, osso alveolar, ligamento periodontal e cimento. Quando implantada em sítio extraósseo, pode estimular uma neoformação óssea possibilitando um reparo osteogênico pós-natal (GONÇALVES; GUIMARÃES; GARCIA, 1998). Além disso, quando aplicados diretamente no tecido pulpar, são capazes de estimular a regeneração de tecido dentinário (NAKASHIMA; REDDI, 2003; NAKASHIMA; AKAMINE, 2005).

Dentre essas proteínas, a BMP-2, BMP-4 e BMP-7 foram consideradas indutoras de dentina reparativa. O BMP-7 possui associação à diferenciação osteogênica (FENG, *et al.*, 2013). Quando esse gene é expresso em células ósseas, (WU, *et al.*, 2008, YAGYUU, *et al.*, 2010, HONDA *et al.*, 2011) é sugerido que essas células apresentam a capacidade de produzir matriz mineralizada. Devido ao seu alto potencial indutor e terapêutico frente ao reparo de tecido ósseo e dental, as BMPs tem sido alvo de pesquisas na área de bioengenharia.

2.6 FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNF-A)

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) descoberto em 1975 por Carswell *et al.* (1975), é uma importante citocina relacionada à processos inflamatórios e imunes, podendo atuar em diferentes partes do organismo. Desempenha papel importante na regulação da homeostase óssea em doenças articulares imunes e inflamatórias crônicas (OSTA; BENEDETTI; MIOSSEC, 2014), sendo secretados por macrófagos, linfócitos e monócitos (IINO *et al.*, 1990). Quando liberado em baixas concentrações, essa citocina age em células

endoteliais, propiciando uma vasodilatação e consequente secreção de quimioquinas, possibilitando um processo local inflamatório para o combate aos quadros infecciosos (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 1998). Por esse motivo, o principal efeito fisiológico atribuído à essa citocina, é a promoção de uma resposta imune e inflamatória, a partir do recrutamento de neutrófilos e monócitos para o local da infecção, ativando-os (VITALE; RIBEIRO, 2007).

A resposta imunológica é controlada por vários processos inflamatórios, o que inclui a citocina TNF- α . Sua atuação ocorre a partir de várias vias, como a ativação do fator nuclear kappa-B (NF- κ B) envolvido na inflamação e apoptose (AGGARWAL, 2003). Em doenças inflamatórias ósseas, sua atuação é bem estabelecida (BITON; BOISSIER; BESSIS, 2011, OSTA; BENEDETTI; MIOSSEC, 2014), regulando a reabsorção óssea, já que o TNF- α favorece a remodelação nesse tecido (SASTRY *et al.*, 1999).

Estudo realizados com o TNF- α , verificaram que sua expressão ocorre em casos de periodontite (GARLET, 2010, NAPIMOGA *et al.*, 2014, da COSTA *et al.*, 2015). Quando utilizado o inibidor dessa citocina, observou-se que o TNF- α contribui para a perda de células microvasculares na retinopatia diabética (BEHL *et al.*, 2010). Além disso, também acelera a perda de cartilagem durante a cicatrização de fraturas em camundongos com diabetes tipo 1 (ALBLOWI *et al.*, 2009, KAYAL *et al.*, 2010, ALBLOWI *et al.*, 2013, LIM *et al.*, 2017). Esses achados sugerem que o TNF- α está associado à perda óssea alveolar no diabetes tipo 1 com periodontite, e que tratamento com um antagonista dessa citocina, pode atenuar a perda óssea alveolar (KIM *et al.*, 2017).

O fator de necrose tumoral alfa também está presente em processos inflamatórios pulpares, desempenhando papel importante na resposta imunológica frente a infecção (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2002). O TNF- α , propicia respostas imunológicas nos odontoblastos, fibroblastos e monócitos do tecido pulpar (FOUAD; ACOSTA, 2010, HE *et al.*, 2012). As concentrações e tempos distintos dessas citocinas podem produzir efeitos diferentes nessas células. Por exemplo, quando as células pulpares permanecem expostas ao TNF- α por mais que três dias, podem prejudicar sua capacidade de diferenciação em odontoblastos (YANG *et al.*, 2012). Ou seja, o TNF- α pode inibir o processo de reparo e regeneração dentinária e pulpar durante a inflamação (YANG *et al.*, 2012). Quando a exposição ocorre em um menor intervalo de tempo (3 dias), a ação dessa citocina poderá ser benéfica, induzindo a expressão de genes relacionados a mineralização em células pulpares (PAULA-SILVA *et al.*, 2009, YANG *et al.*, 2012, HUANG *et al.*, 2015). Por esse motivo, presume-se que essa mineralização pode auxiliar na defesa do hospedeiro, levando ao reparo de tecidos pulpares com inflamação precoce (YANG *et al.*, 2012).



REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN A. H.; POBER J. S. Citocinas. In: *Imunologia celular e molecular. Revinter.*, 1998, p.253-276.
- AGGARWAL B. B. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat. Rev. Immunol.*, v.3, p.745–756, 2003. DOI: 10.1038/nri1184.
- AHMED, K. B. R. *et al.* Silver nanoparticles: Significance of physicochemical properties and assay interference on the interpretation of in vitro cytotoxicity studies. *Toxicol. in Vitro.*, v.38, p.179-192, 2017. DOI: doi.org/10.1016/j.tiv.2016.10.012.
- ALBLOWI, J. *et al.* Chemokine expression is upregulated in chondrocytes in diabetic fracture healing. *Bone.*, v.53, n.1, p.294–300, 2013. DOI: 10.1016/j.bone.2012.12.006.
- ALBLOWI, J. *et al.* High levels of tumor necrosis factor- α contribute to accelerated loss of cartilage in diabetic fracture healing. *Am. J. Pathol.*, v.175, n.4, p.1574–1585, 2009. DOI: 10.2353/ajpath.2009.090148.
- ALMEIDA, L. D. F.; CAVALCANTI Y. W.; VALENÇA A. M. In vitro antibacterial activity of silver diamine fluoride in different concentrations. *Acta odontol. latinoam.*, v.24, n.2, p.127-131, 2011.
- ATALAY, H.; ÇELİK, A.; AYAZ, F. Investigation of genotoxic and apoptotic effects of zirconium oxide nanoparticles (20 nm) on L929 mouse fibroblast cell line. *Chem. biol. interact.*, v.296, p.98-104, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.09.017.
- BARRIENTOS, S. *et al.* Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.*, v.16, n.5, p.585-601, 2008. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x.
- BEHL, Y. *et al.* FOXO1 plays an important role in enhanced microvascular cell apoptosis and microvascular cell loss in type 1 and type 2 diabetic rats. *Diabetes.*, v.58, n.4, p.917–925, 2009. DOI: 10.2337/db08-0537.
- BITON J.; BOISSIER M. C.; BESSIS N. TNF α : activator or inhibitor of regulatory T cells? *Joint Bone Spine.*, v.79, p.119–123. DOI:10.1016/j.jbspin.2011.09.017.
- BLEICHER F. Odontoblast physiology. *Exp. Cell. Res.*, v.15, n.325(2), p.65-71, 2014. DOI: 10.1016/j.yexcr.2013.12.012.
- BURGESS, J. O.; VAGHELA, P. M. Silver Diamine Fluoride: A Successful Anticariogenic Solution with Limits. *Adv. Dent. Res.* v.29, n.1, p.131-134, 2018. DOI: 10.1177/0022034517740123.
- BURT, D. W.; LAW A. S. Evolution of the transforming growth factor-beta superfamily. *Prog. Growth Factor Res.*, v.5, n.1, p.99-118, 1994. DOI: 10.1016/0955- 2235(94)90020-5.
- CARSWELL, E. A. *et al.* An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of 31 tumor. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 72:3666, 1975.
- CHALOUPKA, K.; MALAM, Y.; SEIFALIAN, A. M. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends biotechnol.*, v.28, n.11, p.580-588, 2010. DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.07.006.



CHU, C. H.; LO, E. C. Promoting caries arrest in children with silver diamine fluoride: a review. *Oral Health Prev. Dent.*, v.6, n.4, p.315-321, 2008.

CHU, C. H., LO, E. C.; LIN, H. C. Effectiveness of silver diamine fluoride and sodium fluoride varnish in arresting dentin caries in Chinese pre-school children. *J. Dent. Res.*, v.81, n.11, p.767-770, 2002.

CLARK, D. A.; COKER, R. Transforming growth factor-beta (TGF-beta). *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, v.30, n.3, p. 293-298, 1998, DOI: 10.1016/s1357- 2725(97)00128-3.

CLARK, M. B.; SLAITON, R. L. Fluoride Use in Caries Prevention in the Primary Care Setting. *Pediatrics.*, v.134, n.3, p.626-633, 2014. DOI: 10.1542/peds.2014-1699.

CLEMENS, J.; GOLD, J.; CHAFFIN J. Effect and acceptance of silver diamine fluoride treatment on dental caries in primary teeth. *J. Public. Health Dent.*, v.78, n.1, p.63-68, 2018. DOI: 10.1111/jphd.12241.

CONTRERAS, V. *et al.* Effectiveness of silver diamine fluoride in caries prevention and arrest: a systematic literature review. *Gen.Dent.*, v.65, n.3, p.22-29, 2017.

COTRAN R. S.; KUMAR V.; COLLINS T. Robbins pathologic basis of disease. *W.B. Saunders.*, v. 6, 50 –112, 2002.

COOK, S. D.; RUEGER, D. C. Osteogenic protein-1: biology and applications. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, v.324, p.29-38, 1996.

COOPER, P. R. *et al.* Inflammation-regeneration interplay in the dentine-pulp complex. *J. Dent.*, v.38, n.9, p.687-697, 2010. DOI: 10.1016/j.jdent.2010.05.016.

COUTINHO, T. C. L. Estudo in vitro do potencial cariostático dos selantes resinosos, dos cimentos ionoméricos, do diamino fluoreto de prata e do verniz fluoretado aplicados em superfícies oclusal de molares permanentes humanos. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, p.133, 2002.DOI: 10.11606/T.25.2002.tde-10032005-165045

da COSTA, T. A. *et al.* Inflammation biomarkers of advanced disease in nongingival tissues of chronic periodontitis patients. *Mediators. Inflamm.*, 983782, 2015. DOI: 10.1155/2015/983782.

CHENG, L. L. Limited evidence suggesting silver diamine fluoride may arrest dental caries in children. *J. am. dent. assoc.*, v.148, n.2, p.120-122, 2017. DOI: 32 doi.org/10.1016/j.adaj.2016.11.022.

da ROSA W. L. O.; PIVA E.; da SILVA A. F. Disclosing the physiology of pulp tissue for vital pulp therapy. *Int. Endod. J.*, v.51, n.8, p.829-846, 2018. DOI: 10.1111/iej.12906.

DARMAWIKARTA, D. *et al.* Factors associated with dental care utilization in early childhood. *Pediatrics.*, v.133, p.1594-600, 2014. DOI: 10.1542/peds.2013- 3725

DITTERICH, R. G. *et al.* Diamino Fluoreto de Prata: uma revisão de literatura. *Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde.*, v.12, n.2, p.45-55, 2006. DOI: 10.5212/Publ.Biologicas.v.12i2.0005.

DURAN, N. *et al.* Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine.*, v.12, n.3, p.789-799, 2016. DOI: doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.016.



ESPINDOLA-CASTRO, L. F. *et al.* Dentin Staining Caused by Nano-silver Fluoride: A Comparative Study. *Oper. Dent.*, v.45, n.4, p.435-441, 2020. DOI: 10.2341/19-109-L.

EVANOFF JR, D. D.; CHUMANOV, G. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays. *ChemPhysChem.*, v.6, n.7, p.1221-1231, 2005.

FENG, X. *et al.* TNF- α triggers osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells via the NF- κ B signaling pathway. *Cell. Biol. Int.*, v.27, n.12, p. 1267-1275, 2013 DOI: 10.1002/cbin.10141.

FRANCELINO, V. C. M. *et al.* Eficácia do diamino fluoreto de prata aplicado em diferentes concentrações: revisão de literatura. *Rev. UNINGÁ*, v.56, n.S5, p.12-22, 2019.

FOUAD, A. F.; ACOSTA, A. W. Periapical lesion progression and cytokine expression in an LPS hyporesponsive model. *Int. Endod. J.*, v.34, n.7, p. 506–513, 2010. DOI: 10.1046/j.1365-2591.2001.00423.x.

FUNG, M. H. T. *et al.* Arresting Dentine Caries with Different Concentration and Periodicity of Silver Diamine Fluoride. *JDR Clin. Trans. Res.*, v.1, p.143-152, 2016. DOI: 10.1177/2380084416649150

FUNG, M. H. T. *et al.* Randomized Clinical Trial of 12% and 38% Silver Diamine Fluoride Treatment. *J. Dent. Res.*, v.97, n.2, p.171-178, 2018. DOI: 10.1177/0022034517728496

GALLER, K. M. *et al.* Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *J. Endod.*, v.41, p.363-368, 2015. DOI: 10.1016/j.joen.2014.11.021.

GANESH, K; MASSAGUÉ, J. TGF- β Inhibition and Immunotherapy: Checkmate. *Immunity.*, v.17, n48(4), p.626-628, 2018. doi: 10.1016/j.immuni.2018.03.037.

GARLET, G. P. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re- appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J. Dent. Res.*, v.89, 33
n.12, p.1349–1363, 2010. DOI: 10.1177/ 0022034510376402.

GAO, S. S. *et al.* Caries remineralisation and arresting effect in children by professionally applied fluoride treatment - a systematic review. *BMC Oral Health.*, v.16, n.1, p.1-9, 2016a. doi: 10.1186/s12903-016-0171-6.

GAO, S. S. *et al.* Clinical Trials of Silver Diamine Fluoride in Arresting Caries among Children: A Systematic Review. *JDR Clin. Trans. Res.*, v.1, n.3, p.201-210, 2016b. DOI: 10.1177/2380084416661474.

GONÇALVES, E. A. L.; GUIMARÃES, S. A. C.; GARCIA, R. B. Proteínas morfogenéticas ósseas: terapêutica molecular no processo de reparo tecidual. *Rev. Odontol. Univ.*, v.12, n.3, p.299-304, 1998.

GUZMÁN, M. G.; DILLE, J.; GODET, S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *Int. J. Chem. Biomol. Eng.*, v.2, n.3, p.104-111, 2009. DOI: 10.1016/j.nano.2011.05.007.

HE, W. X. *et al.* Smad protein mediated transforming growth factor beta1 induction of apoptosis in the MDPC-23 odontoblast-like cell line. *Arch. Oral. Biol.*, v.50, p.929– 936, 2005. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2005.03.004



- HIRAISHI, N. *et al.* Antimicrobial efficacy of 3.8% silver diamine fluoride and its effect on root dentin. *J.endod.*, v.36, n.6, p.1026-1029, 2010. DOI: doi.org/10.1016/j.joen.2010.02.029.
- HONDA, M. J. *et al.* Stem cells isolated from human dental follicles have osteogenic potential. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.111, n.6, p.700- 708, 2011. DOI: 10.1016/j.tripleo.2010.08.004.
- HUANG, Y. *et al.* Lipopolysaccharide stimulation improves the odontoblastic differentiation of human dental pulp cells. *Mol. Med. Rep.*, v.11, n.5, p.3547–3552, 2015. DOI: 10.3892/mmr.2014.3120.
- IINO, K. *et al.* Cholesteatoma debris as an activador of human monocytes. *Acta. Otolaryngol.*, v.110, p.410-415, 1990.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-5:2009. Biological evaluation of medical devices – Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity. 2009.
- IOHARA, K. *et al.* Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. *J. Dent. Res.*, v.83, n.8, p.590- 595, 2004. DOI: 10.1177/154405910408300802.
- JIN, Q. M. *et al.* Gene therapy of Bone Morphogenetic Protein for periodontal tissue engineering. *J. Periodontol.*, v.74, n.2, p.202-213, 2003. DOI: 10.1902/jop.2003.74.2.202.
- JONES, R. M.; BROSSEAU, L. M. Aerosol transmission of infectious disease. *J. 34 Occup. Environ. Med.*, v.57, n.5, p.501-508, 2015.
- JUNIOR, V. E. S.; SOUZA, P. R.; ROSENBLATT, A. Um recurso para paralisar e prevenir cárie em crianças: diamino fluoreto de prata. *RFO*, v.17, n.2, p.228- 233, 2012. DOI: 10.5335/rfo.v17i2.1851
- KAYAL, R.A. *et al.* TNF- α mediates diabetesenhanced chondrocyte apoptosis during fracture healing and stimulates chondrocyte apoptosis through FOXO1. *J. Bone Miner. Res.*, v.25, n.7, p.1604–1615, 2010. DOI: 10.1002/jbmr.59.
- KIDD, E. A. M. How ‘clean’ must a cavity be before restoration?. *Caries res.*, v.38, n.3, p.305-313, 2004. DOI: doi.org/10.1159/000077770.
- KIM, J. H. *et al.* Tumor necrosis factor- α antagonist diminishes osteocytic RANKL and sclerostin expression in diabetes rats with periodontitis. *PLoS. One.*, v.12 n.12 p. e0189702, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0189702.
- KIM, S.G. *et al.* Effects of growth factors on dental stem/progenitor cells. *Dent. Clin. North Am.*, v.56, n.3, p.563-575, 2012. DOI: 10.1016/j.cden.2012.05.001.
- LANSDOWN, A. B. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Curr. Probl. Dermatol.*, v.33, p.17-34, 2006. DOI: 10.1159/000093928.
- LANSDOWN, A. B. Silver. Its antibacterial properties and mechanism of action. *J Wound Care.*, v.11, n.4, p.125-130, 2002. DOI: 10.12968/jowc.2002.11.4.26389.



- LARA, V. S. *et al.* Dentin-induced in vivo inflammatory response and in vitro activation of murine macrophages. *J. Dent. Res.*, v.82, p.460–465, 2003. DOI: 10.1177/154405910308200611.
- LIM, J. C. *et al.* TNF α contributes to diabetes impaired angiogenesis in fracture healing. *Bone.*, v.99, p.26–38, 2017. DOI: 10.1016/j.bone.2017.02.014.
- LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods.*, v.25, n.4, p.402-408, 2001. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
- LLODRA, J. C. *et al.* Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first permanent molars of schoolchildren: 36-month clinical trial. *J. Dent. Res.*, v.84, n.8, p.721-724, 2005. DOI: doi.org/10.1177/154405910508400807.
- LO, E. C.; CHU, C. H.; LIN, H. C. A community-based caries control program for pre-school children using topical fluorides: 18-month results. *J. Dent. Res.*, v.80, n.12, p.2071-2074, 2001.
- MACIEL, S. M. Estudo clínico da ação do diamino fluoreto de prata à 10% sobre superfícies oclusais de molares decíduos. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, p.200, 1988, 35
- MARTINEZ-GUTIERREZ, F. *et al.* Antimicrobial activity, cytotoxicity and inflammatory response of novel plastics embedded with silver nanoparticles. *Future Microbiol.*, v.8, n.3, p.403-411, 2013. DOI: doi.org/10.2217/fmb.13.5.
- MEI, M. L. *et al.* Inhibitory effect of silver diamine fluoride on dentine demineralisation and collagen degradation. *J. Dent.*, v.41, n.9, p.809-817, 2013. DOI: 10.1016/j.jdent.2013.06.009.
- MEI, M. L.; LO, E. C.; CHU, C. H. Clinical Use of Silver Diamine Fluoride in Dental Treatment. *Compend. Contin. Educ. Dent.*, v.37, n.2, p.93-98, 2016.
- MORIKAWA, M.; DERYNCK, R.; MIYAZONO, K. TGF- β and the TGF- β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, v.2, n.8, p.1-24. doi: 10.1101/cshperspect.a021873.
- MORONES, J. R. *et al.* The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, v.16, n.10, p.2346-2353, 2005. DOI: 10.1088/0957-4484/16/10/059.
- MORTARINO, M. *et al.* Quantitative PCR in the diagnosis of Leishmania. *Parasitol.*, v.46, p.163-167, 2004.
- MULLIS, K. B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am.*, v.262, p.56-65, 1990.
- MURPHY, A. *et al.* Silver nanoparticles induce pro-inflammatory gene expression and inflammasome activation in human monocytes. *J. Appl. Toxicol.*, v.36, n.10, p.1311-1320. DOI: 10.1002/jat.3315.
- NAGIREDDY, V. R. *et al.* Nanosilver Fluoride-A Paradigm Shift for Arrest in Dental Caries in Primary Teeth of Schoolchildren: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Int. J. Clin. Pediatr. Dent.*, v.12, n.6, p.484-490, 2019. DOI: 10.5005/jp-journals-10005-1703.
- NAKASHIMA, M. The induction of reparative dentine in the amputated dental pulp of the dog by bone morphogenetic protein. *Arch. Oral. Biol.*, v.35, p.493-497, 1990.

NAKASHIMA, M.; AKAMINE, A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *J. Endod.*, v.31, n.10, p. 711-718, 2005. DOI: 10.1097/01.don.0000164138.49923.e5.

NAKASHIMA, M.; REDDI, H. The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. *Nat. Biotechnol.*, v.21, n.9, p.1025- 1032, 2003. DOI: 10.1038/nbt864.

NAPIMOGA, M. H. *et al.* Involvement of the Wnt- β -catenin signalling antagonists, sclerostin and dickkopf-related protein 1, in chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, v.41, n.6, p.550-557, 2014. DOI: 10.1111/jcpe.12245 PMID: 24576302.

NGUYEN, S.; HIORTH, M. Advanced drug delivery systems for local treatment of the oral cavity. *Ther. Deliv.*, v.6, n.5, p.595-608, 2015. DOI: 10.4155/TDE.15.5. NISHINO, M.; MASSLER, M. Immunization of caries susceptible pits and fissures

with a diamine silver fluoride solution. *J. Pedod.*, v.2, n.1, p.16-25, 1977. NÖR, J. E. Tooth regeneration in operative dentistry. *Oper. Dent.*, v.31, n.6, p.633-642, 2006. DOI: 10.2341/06-000.

OPPERMANN, R. V.; JOHANSEN, J. R. Effect of fluoride and nonfluoride salts of copper, silver and tin on the acidogenicity of dental plaque in vivo. *Scand. J. Dent. Res.*, v.88, n.6, p.476-480, 1980.

ORR, S. E. *et al.* Alteration in the mRNA expression of genes associated with gastrointestinal permeability and ileal TNF- α secretion due to the exposure of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *J. Nanobiotechnology.*, v.13, n.17, p.1-10, 2019. DOI: 10.1186/s12951-019-0499-6. PMID: 31084603; PMCID: PMC6513523.

OSTA, B.; BENEDETTI, G.; MIOSSEC, P. Classical and Paradoxical Effects of TNF- α on Bone Homeostasis. *Front. Immunol.*, v.13, n.48, p.1-9, 2014. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00048.

PAIVA-CAVALCANTI, M.; LORENA V. M. B.; GOMES Y. M. Avanços biotecnológicos para o diagnóstico das doenças infecciosas e parasitárias. *Ver. Patol. Trop.*, v.37, n.1, p.1-14, 2008.

PAL, S.; TAK, Y. K.; SONG, J. M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.73, n.6, p.1712-1720, 2007. DOI: 10.1128/AEM.02218-06.

PAULA-SILVA, F. W. G. *et al.* TNF- α Promotes an odontoblastic phenotype in dental pulp cells. *J Dent Res.*, v.88, n.4, p.339-344, 2009. DOI: 10.1177/0022034509334070

PENG, J. J.; BOTELHO, M. G.; MATINLINNA, J. P. Silver compounds used in dentistry for caries management: a review. *J. Dent.*, v.40, n.7, p.531-541, 2012. DOI: 10.1016/j.jdent.2012.03.009.

PFÄFFL, M. W.; HORGAN, G. W., DEMPFFLE L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res.*, v.1, n.30(9), p.e36, 2002. DOI: 10.1093/nar/30.9.e36. PMID: 11972351; PMCID: PMC113859.

RENGACHARY, S. S. Bone morphogenetic proteins: basic concepts. *Neurosurg. focus.*, v.13, n.6, p.1-6, 2002. DOI: 10.3171/foc.2002.13.6.3

ROCHA, C, *et al.* Diamino fluoreto de prata: uma opção em odontopediatria. *J. bras. Odontopediatr.*, v.2, n.8, p.296-301, 1999.

RODRIGUES, C. R. M. D.; OLIVEIRA, M. M.; ANDO, T. Cariostático: Diamino
37

fluoreto de prata. *Rev. da APCD.*, v.43, n.4, p.171-174, 1989.

ROSENBLATT, A.; STAMFORD T. C.; NIEDERMAN R. Silver diamine fluoride: a caries "silver-fluoride bullet". *J. Dent. Res.*, v.88, n.2, p.116-125, 2009. doi: 10.1177/0022034508329406.

ROUSSELLE, P.; BRAYE, F.; DAYAN, G. Re-epithelialization of adult skin wounds: Cellular mechanisms and therapeutic strategies. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, v.146, p.344- 365, 2019. DOI: 10.1016/j.addr.2018.06.019.

SANTOS, V. E. *et al.* A new "silver-bullet" to treat caries in children--nano silver fluoride: a randomised clinical trial. *J. Dent.*, v.42, n.8, p.945-951, 2014. DOI: 10.1016/j.jdent.2014.05.017.

SASTRY, K. V. *et al.* Aural cholesteatom: role of tumor necrosis factor-alpha in bone destruction. *Am. J. Otol.*, v.20, p.158-161, 1999.

SCARPELLI, B. B. *et al.* In Vitro Evaluation of the Remineralizing Potential and Antimicrobial Activity of a Cariostatic Agent with Silver Nanoparticles. *Braz. dent. j.*, v.28, n.6, p. 738-743, 2017. DOI: dx.doi.org/10.1590/0103-6440201701365.

SCHWASS, D. R. *et al.* Antimicrobial Activity of a Colloidal AgNP Suspension Demonstrated In Vitro against Monoculture Biofilms: Toward a Novel Tooth Disinfectant for Treating Dental Caries. *Adv. dent. res.*, v.29, n.1, p. 117-123, 2018. DOI: doi.org/10.1177/0022034517736495.

SEEGER, P.; MUSSO, T.; SOZZANI, S. The TGF- β superfamily in dendritic cell biology. *Cytokine. Growth Factor Rev.*, v.26, n.6, p.647-657, 2015. doi: 10.1016/j.cytogfr.2015.06.002.

SELWITZ, R. H.; ISMAIL, A. I.; PITTS, N. B. Dental caries. *Lancet.*, v.369, n.9555, p.51-59, 2007. DOI: doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60031-2.

SHAH, S. G. *et al.* Efficacy of silver diamine fluoride as a topical fluoride agent compared to fluoride varnish and acidulated phosphate fluoride gel: An in vivo study. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, v.2, n.1, p.5-12, 2014.

SHARMA, G.; PURANIK, M. P.; K.R., S. Approaches to Arresting Dental Caries: An Update. *J. Clin. Diagn. Res.*, v.9, n.5, p.ZE08-11, 2015. DOI: 10.7860/JCDR/2015/12774.5943.

SHEIHAM, A.; JAMES, W.P. Diet and Dental Caries: The Pivotal Role of Free Sugars Reemphasized. *J. Dent. Res.*, v.94, n.10, p.1341-1347, 2015. DOI: 10.1177/0022034515590377.

SHIMIZU, A.; KAWAGOE, M. A clinical study of effect of diamine silver fluoride on recurrent caries. *J. Osaka Univ. Dent. Sch.*, v.16, p.103-109, 1976.

SILVA, T. A. *et al.* Macrophages and mast cells control the neutrophil migration induced by dentin proteins. *J. Dent. Res.*, v.84, p.79-83, 2005. DOI:

38

10.1177/154405910508400114.



SIMON, S. *et al.* The MAPK pathway is involved in tertiary reactionary dentinogenesis via p38 phosphorylation. *J. Endod.*, v.36, p.256–259, 2010. DOI: doi: 10.1016/j.joen.2009.09.019.

SIX, N.; LASFARGUES, J. J.; GOLDBERG, M. Recombinant human Bone Morphogenetic Protein-7 (Osteogenic Protein-1) induces differential repair responses in the coronal and radicular areas of the exposed rat molar pulp. *Arch. Oral. Biol.*, v.47, p.177-187, 2002. DOI: 10.1016/s0003-9969(01)00100-5.

SMITH, A. J. *et al.* Dentine as a bioactive extracellular matrix. *Arch. Oral. Biol.*, v.57, n.2, p.109-121, 2012. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2011.07.008.

SMITH, A. J. *et al.* Dentine regeneration: key roles for stem cells and molecular signalling. *Oral. Biosci. Med.*, v.2, p.127–132, 2005.

SUNDSFJORD, A. *et al.* Genetics methods for detection of antimicrobial resistance. *APMIS.*, v.112, n.11, p.815-837, 2004. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2004.apm11211- 1208.x.

TARGINO, A. G. *et al.* An innovative approach to treating dental decay in children. A new anti-caries agent. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* v.25, n.8, p.2041-2047, (2014). DOI: 10.1007/s10856-014-5221-5.

TIAN, J. *et al.* Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *ChemMedChem.*, v.2, n.1, p.129-136, 2007. DOI: 10.1002/cmdc.200600171. PMID: 17075952.

TZIAFAS, D. The future role of a molecular approach to pulp-dentinal regeneration. *Caries Res.*, v.38, p.314-320, 2004. DOI: 10.1159/000077771.

VAIDYANATHAN, R. *et al.* Nanosilver--the burgeoning therapeutic molecule and its green synthesis. *Biotechnol. Adv.*, v.27, n.6, p.924-937, 2009. DOI: doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.08.001.

VITALE, R. F.; RIBEIRO F. A. Q. The role of Tumor Necrosis Factor -Alpha (TNF- α) in bone resorption present in middle ear cholesteatoma. *Braz. J. Otorhinolaryngol.*, v.73. n.1, p.123-127, 2007. DOI: 10.1016/s1808-8694(15)31133-2.

WENG, L.; RUBIN, E. M.; BRISTOW, J. Application of sequence-based methods in human microbial ecology. *Genome. Res.*, v.16, p.316-322, 2006. DOI: 10.1101/gr.3676406.

WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of Wound Healing by Growth Factors and Cytokines. *Physiol. Rev.*, v.83, n.3, p.835-870, 2003. DOI: 10.1152/physrev.2003.83.3.835.

WU, J. *et al.* Dentin non-collagenous proteins (dNCPs) can stimulate dental follicle cells to differentiate into cementoblasts lineages. *Biol. Cell.*, v.100, n.5, p.291-302, 39
2008. DOI: 10.1042/BC20070092.

WU, M. Y. *et al.* Using microbial genomics to evaluate the effectiveness of silver to prevent biofilm formation. *Water Sci. Technol.*, v.55, n.8-9, p.413-419, 2007. DOI: 10.2166/wst.2007.285.

XU, Y. *et al.* Silver nanoparticles promote osteogenic differentiation of human periodontal ligament fibroblasts by regulating the RhoA-TAZ axis. *Cell. Biol. Int.*, v.43, n.8, p.910-920, 2019. DOI: doi.org/10.1002/cbin.11180.

YAGYUU, T. *et al.* Hard tissue-forming potential of stem/progenitor cells in human dental follicle and dental papilla. *Arch. Oral. Biol.*, v.55, n.1, p.68-76. 2010. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2009.10.011.



YAMASHIRO, T.; TUMMERS, M.; THESLEFF, I. Expression of bone morphogenetic proteins and Msx genes during root formation. *J. Dent. Res.*, v.82, n.3, p.172-176, 2003. DOI: 10.1177/154405910308200305.

YANG, S.; ROTHMAN, R. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations and future applications in acute-care settings. *Lancet.*, v.4, p.337-348, 2004. DOI: 10.1016/S1473-3099(04)01044-8.

YANG, X. *et al.* Retracted: pro-inflammatory cytokines induce odontogenic differentiation of dental pulp-derived stem cells. *J. Cell. Biochem.*, v.113, n.2, p.669– 677, 2012. DOI: 10.1002/jcb.23396.

ZHANG, R. *et al.* Silver nanoparticles promote osteogenesis of mesenchymal stem cells and improve bone fracture healing in osteogenesis mechanism mouse model. *Nanomedicine.*, v.11, n.8, p.1949-1959, 2015. DOI: 10.1016/j.nano.2015.07.016.

ZHAO, I. S. *et al.* Mechanisms of silver diamine fluoride on arresting caries: a literature review. *Int. Dent. J.*, v.68, n.2, p.67-76, 2018. DOI: doi.org/10.1111/idj.12320.