**EFFECTOS CELULARES Y TISULARES DE LA APLICACIÓN DE FLUORURO
DIAMINO DE PLATA PARA EL MANEJO DE CARIES**

**Ana Melissa Casas Sánchez
Natalia Sofia Vargas Aguilar**

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE
PROGRAMA DE ODONTOLOGÍA - FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
BOGOTÁ DC.- DICIEMBRE 2023**

HOJA DE IDENTIFICACIÓN

Universidad	El Bosque
Facultad	Odontología
Programa	Odontología
Título:	Efectos celulares y tisulares de la aplicación de fluoruro diamino de plata para el manejo de caries
Grupo de Investigación:	Unidad de investigación en caries- UNICA
Línea de investigación:	Terapia y materiales dentales
Tipo de investigación:	Pregrado/Grupo
Estudiantes:	Ana Melissa Casas Sanchez Natalia Sofia Vargas Aguilar
Director:	Dr. Edgar Orlando Beltrán Zúñiga
Codirector:	Dra. Stefania Martignon Biermann
Asesor metodológico:	Dr. Luis Fernando Gamboa Martínez

DIRECTIVOS UNIVERSIDAD EL BOSQUE

OTTO BAUTISTA GAMBOA	Presidente del Claustro
MIGUEL RUIZ RUBIANO	Presidente Consejo Directivo
MARIA CLARA RANGEL GALVIS	Rector(a)
NATALIA RUÍZ ROGERS	Vicerrector(a) Académico
RICARDO ENRIQUE GUTIÉRREZ MARÍN	Vicerrector Administrativo
GUSTAVO SILVA CARRERO	Vicerrectoría de Investigaciones
CRISTINA MATIZ MEJÍA	Secretaria General
JUAN CARLOS SANCHEZ PARIS	División Postgrados
HERNEY ALONSO RENGIFO REINA	Decano Facultad de Odontología
MARTHA LILIANA GOMEZ RANGEL	Secretaria Académica
DIANA MARIA ESCOBAR JIMENEZ	Director Área Bioclinica
ALEJANDRO PERDOMO RUBIO	Director Área Comunitaria
JUAN GUILLERMO AVILA ALCALÁ	Coordinador Área Psicosocial
INGRID ISABEL MORA DIAZ	Coordinador de Investigaciones Facultad de Odontología
SANDRA HINCAPIE NARVAEZ	Coordinador Postgrados Facultad de Odontología

La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia.

GUÍA DE CONTENIDO

Resumen

Abstract

	Pág.
1.INTRODUCCION.	1
2. ANTECEDENTES.	3
3. OBJETIVOS	5
A. General	5
B. Específicos	5
4. METODOLOGÍA.	6
A. Pregunta de investigación	6
B. Criterios de elegibilidad.	6
C. Resultados de interés.	7
D. Fuentes de datos y estrategia de búsqueda.	7
E. Métodos de valoración y síntesis de estudio.	7
F. Análisis de datos.	8
5. RESULTADOS.	9
A. Selección de estudios.	9
B. Descripción de estudios y modelos experimentales.	9
a. Lugares de estudio.	9
b. Especímenes.	9
c. Protocolos de almacenamiento.	10
d. Protocolos de aplicación.	10
C. Efectos tisulares.	11
D. Efectos celulares.	12
E. Precipitación mineral.	13
F. Penetación del FDP.	14
G. Análisis histológico.	15
5. DISCUSION.	17
6. CONCLUSIONES.	22
7. REFERENCIAS	23

RESUMEN

EFFECTOS TISULARES Y CELULARES DE FLUORURO DIAMINO DE PLATA EN EL MANEJO DE CARIES

Antecedentes: Los índices de éxito y eficacia de la aplicación de fluoruro de diamina de plata (FDP) han sido ampliamente demostrado ampliamente en el control y la progresión de la caries mediante ensayos clínicos aleatorizados. Además, se ha informado su eficacia contra la hipersensibilidad. A pesar de ello, los efectos celulares y tisulares asociados con la aplicación de FDP no han sido completamente descritos, por lo que es necesario disponer de evidencias relacionadas para conocer estos efectos generados tras la aplicación del FDP. *Objetivo:* Identificar el efecto de las aplicaciones de FDP en tejidos y células de dientes primarios y permanentes. *Métodos:* Se realizó una revisión narrativa de mayo a julio de 2023. Se aplicó la estrategia PICO para diseñar la pregunta de revisión (incluyendo tipo de población, intervención, tipos de intervenciones y resultados). La pregunta de investigación formulada se analizó posteriormente basándose en los criterios integrados (FINER). Los artículos se preseleccionaron en función de su título y resumen (mayo de 2023). Los criterios de inclusión para este estudio fueron los siguientes (1) estudios experimentales in vitro que informaran del uso de FDP como intervención principal; (2) artículos en lengua inglesa; y (3) artículos publicados sin restricción de tiempo o período de publicación. La búsqueda preliminar dio como resultado 529 artículos (todos los que coincidían con las palabras clave), y tras la revisión de títulos y resúmenes se incluyeron 96. Finalmente, se incluyeron 26 artículos para la recogida de datos y el análisis final que se presenta en esta revisión. *Resultados:* Los análisis finales mostraron una tasa media de viabilidad celular inferior al 50% cuando la concentración del FDP era superior al 0,001%. La concentración del 38% del FDP mostró una capacidad de penetración $\leq 1,0$ mm de espesor de dentina y produjo la muerte completa de las células madre de la pulpa dental cultivadas en un dispositivo de microfluidos. En las evaluaciones de los tejidos blandos, el FDP al 38% produjo corrosión de la mucosa y descamación epitelial incluso con un tiempo de exposición tan bajo como 3 minutos. Los hallazgos histológicos demostraron la disrupción de las capas superficiales de la córnea y contactos célula-célula en las capas basales más profundas del epitelio gingival en los primeros 3 min de exposición. En las muestras expuestas a FDP de 0,5 mm y 1,0 mm de espesor, no había células vivas (100 % de muerte celular) en la región de salida en comparación con > 90 % de viabilidad en la región de entrada del canal pulpar. Los resultados generales acerca de la precipitación mineral indican que iones de plata y flúor (Ag y F), son los principales componentes del FDP, se detectaron en la superficie de los discos de hidroxiapatita por medio de microscopía electrónica de barrido. Se observó que la superficie del esmalte tratado con FDP era relativamente densa e intacta; y se observó una reducción de las porosidades, una densa capa superficial de remineralización. *Conclusiones:* La acción del FDP es eficaz por su estabilidad a largo plazo, evita la degradación de la dentina durante la progresión de la lesión de caries al promover la formación de apatita y recupera completamente la microdureza del esmalte, ya que, es eficaz en la inhibición de la erosión del esmalte. El FDP reduce la viabilidad de las células pulpares, la preocupación que genera la aplicación del FDP en cavidades profundas es el efecto citotóxico sobre las células de la pulpa dental, ya que puede causar dolor e inflamación pulpar. Las características de la lesión de caries y la cantidad de dentina remanente son factores determinantes en relación con la permeabilidad de la dentina. La dentina necrótica en zonas pulpoproximales no interfiere con la penetración de la plata en las lesiones de caries.

Palabras clave: Diente, Dentina, Esmalte, Fluoruro de diamina de plata, Tejido, Célula.

ABSTRACT

CELLULAR AND TISSULAR EFFECTS OF SILVER DIAMINE FLUORIDE APPLICATION FOR CARIES MANAGEMENT

Background: The success and effectiveness rates of silver diamine fluoride (SDF) application have been extensively demonstrated in caries control and progression through randomized clinical trials. In addition, its effectiveness against hypersensitivity has been reported. Despite this, the cellular and tissue effects associated with the SDF application have not been fully described; therefore, evidence related to these effects generated after the application of SDF is needed. *Objective:* To identify the effect of SDF applications on tissues and cells in primary and permanent teeth. *Methods:* A narrative review was conducted from May to July 2023. The PICO model was used to design the review question (including type of population, intervention, types of interventions and outcomes). The formulated research question was subsequently analyzed on the basis of the integrated criteria (FINER). Papers were pre-selected by title and abstract (May 2023). Inclusion criteria were: (1) in vitro experimental studies reporting the use of SDF as the main intervention; (2) papers in the English language; and (3) papers published without restriction of time or publication period. The preliminary search resulted in 529 papers (all the papers matching with keywords), and 96 papers were included after reviewing titles and abstracts. Finally, 26 articles were included for the data collection and final analysis presented in this review. *Results:* The final analyses showed an average cell viability rate of less than 50% when the SDF concentration was above 0.001%. The concentration of 38% SDF showed a penetration capacity ≤ 1.0 mm of dentin thickness and resulted in complete death of dental pulp stem cells cultured in a microfluidic device. On soft tissue assessments, 38% SDF outcomes showed mucosal corrosion and epithelial desquamation even with an exposure time as low as 3 minutes. Histological findings, demonstrated disruption of the superficial corneal layers and cell-cell contacts in the deeper basal layers of the gingival epithelium within the first 3 minutes of exposure. In samples exposed to 0.5- and 1.0-mm thick SDF, there were no live cells (100 % cell death) in the exit region compared to > 90 % viability in the entrance region of the pulp canal. The overall results regarding mineral precipitation indicate that silver and fluoride ions (Ag and F⁻), the main components of SDF, were detected on the surface of hydroxyapatite disks by scanning electron microscopy. The SDF-treated enamel surface was observed to be relatively dense and intact; and reduction of porosities, a dense remineralization surface layer, and white spots representing silver on the homogeneous enamel surface were observed. *Conclusions:* The action of SDF is effective because of its long-term stability, prevents dentin degradation during the progression of the caries lesion by promoting the formation of apatite and completely recovers the microhardness of the enamel as it is effective in inhibiting enamel erosion. SDF reduces the viability of pulp cells, the concern generated by the application of SDF in deep cavities is the cytotoxic effect on the cells of the dental pulp, as it can cause pain and pulp inflammation. The caries lesion characteristics and amount of remnant dentin is a determining factor in relation to dentin permeability. Necrotic dentin in pulpoproximal areas does not interfere with silver penetration into the caries lesions.

Key words: Tooth, Dentin, Enamel, Silver diamine Fluoride, Tissue, Cell.

INTRODUCCIÓN

La caries dental es un proceso o enfermedad dinámica crónica, que ocurre debido al desequilibrio químico entre la superficie dental y el fluido de la biopelícula circundante. Como resultado de esto, se presenta la pérdida neta de mineral de la superficie dental, cuyo signo clínico en estadios tardíos es la destrucción localizada de tejidos duros. (Núñez y Garcia, 2010)

Los servicios de salud y los miembros del equipo odontológico proveen atención en salud oral, y participan cada vez más en intervenciones tempranas para prevenir y controlar la caries dental. La aplicación tópica de barniz de flúor cada 3 a 6 meses y la orientación preventiva son los principales métodos de control de caries. A pesar de que estas estrategias se ejecuten tempranamente un gran número de niños padecen caries dental a nivel global. (Milgrom *et al.*,2018)

La aplicación tópica de barnices de flúor ha proporcionado una opción no invasiva en el control y la prevención de la caries por muchas décadas. Recientemente, el fluoruro diamino de plata (FDP), ha sido propuesto por la Organización Mundial de la Salud como uno de los medicamentos esenciales para el control de caries. Este es un líquido transparente, que generalmente se aplica sobre la superficie con lesiones de caries activas para favorecer la detención de la lesión; adicionalmente se han descrito beneficios en términos de prevención de caries como resultado de su aplicación. De manera importante se resalta que se ha reportado que las concentraciones séricas tanto del fluoruro como de la plata no han mostrado toxicidad potencial después de su aplicación (Núñez y Garcia, 2010; Milgrom *et al.*,2018)

Según la evidencia, se propone que los iones de plata son los principales responsables de la acción antimicrobiana del FDP; estos iones inhiben el crecimiento de bacterias asociadas al biofilm y desnaturalizan las enzimas que descomponen la colagenasa de dentina. Por su parte, el fluoruro promueve la deposición de fluorapatita, que es más resistente a la degradación ácida que la estructura dental normal (Milgrom *et al.*,2018). Los ensayos clínicos describen que el FDP tiene efectividad contra caries dental e hipersensibilidad. Se ha reportado que la combinación del fluoruro con la plata puede ser una estrategia prometedora para el manejo de la caries temprana en niños y adultos; además, que el nitrato de plata al 25% seguido de un barniz de fluoruro de sodio al 5% es eficaz tal y como lo es la solución de FDP al 38% para detección temprana de caries. A la fecha, su uso se ha propuesto especialmente cuando no es posible realizar tratamiento restaurador convencional (Srisomboon *et al.*,2022). Tras la aplicación del FDP se ha evidenciado aumento de los picos de

formación de apatita, además, que este puede tener acción catalizadora en la adición de iones de calcio y fosfato en la red cristalina, promoviendo la formación de cristales de apatita, y la incorporación de fluoruro en la red de los cristales remanentes, promoviendo la transformación de cristales y reduciendo la solubilidad de la apatita. (Srisomboon *et al.*,2022)

A la fecha, varios estudios clínicos han demostrado heterogeneidad en los efectos posterior a la aplicación del FDP, el éxito y efectividad. Estos efectos incluyen: control y prevención de caries, efectividad contra la hipersensibilidad y detención de lesiones tempranas de caries. A pesar de esta evidencia disponible, los efectos celulares y tisulares asociados a la aplicación de FDP no se han descrito a cabalidad; por lo tanto, a través de la presente revisión se propone mostrar la evidencia que permite conocer y establecer los efectos en células y tejidos generados tras la aplicación de FDP.

ANTECEDENTES

La caries dental es una enfermedad infecciosa multifactorial y muy frecuente en todo el mundo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) refiere que un 60% al 90% de niños en todo el mundo han experimentado caries dental sobre todo en edades escolares (Caiza y Rubí, 2022). Esta es una enfermedad que, si no es tratada, progresa hasta llegar al tejido pulpar, lo que va a generar dolor e infección, en este sentido, esta enfermedad no influye únicamente en la salud oral, sino también, en la capacidad masticatoria, absorción de nutrientes, desarrollo cognitivo, crecimiento y calidad de vida (Gao *et al.*, 2020). La caries de la primera infancia, son lesiones cariosas que se presentan en una o más superficies dentales, dientes faltantes a causa de caries u obturadas en los dientes deciduos en niños menores de 6 años; esta enfermedad es un problema de salud importante que afecta a una gran cantidad de niños a nivel mundial. La prevalencia en países como Estados Unidos aumentó entre los años 1988-1994 y 1999-2004, considerando que la mitad de la población infantil tenían caries de la primera infancia antes de entrar al jardín, por otro lado, en China $\frac{2}{3}$ de los niños en edad preescolar tenían caries sin tratar, así mismo, se encontró en países del sudeste de Asia, donde la mayoría de los dientes cariados estaban sin tratar. La prevalencia de la caries está relacionada con el entorno socioeconómico de los niños. En Estados Unidos experimentaron el 80 % de todos los casos de caries de la primera infancia. (Gao *et al.*, 2020)

Para el manejo de estas lesiones cariosas incipientes se han propuesto técnicas de odontología mínimamente invasiva, como lo es el tratamiento realizando topicación con diferentes sustancias que contengan flúor. En la actualidad se han introducido diferentes métodos para el tratamiento de lesiones cariosas como son el flúor en barniz, agente eficaz altamente remineralizante y el fluoruro diamino de plata desconocido por muchos odontólogos por su escaso uso clínico y el compromiso estético producido tras su aplicación. (Caiza y Rubí, 2022)

Estudios han encontrado que el fluoruro es eficaz para promover la remineralización del tejido del esmalte y la dentina, y la plata tiene propiedades antibacterianas, por consiguiente, los productos con fluoruro y plata pueden ser efectivos para el control de la caries (Gao *et al.*, 2020). El fluoruro diamino de plata, es un medicamento líquido incoloro que contiene plata y fluoruro, utilizado para retrasar o

detener el deterioro dental tanto en dientes temporales como en dientes permanentes (CDA, 2018). Se han determinado cuatro efectos anti caries principales del fluoruro diamino de plata, el primero es la acción antibacteriana directa del ion de plata, el segundo efecto es la precipitación de fosfato de plata o cloruro de plata , que potencialmente puede mejorar la dureza de la lesión y actuar como una capa protectora contra la biopelícula dental, la tercera acción es la formación de fluorhidroxiapatita poco soluble y resistente a los ácidos, que puede aumentar la resistencia a la caries de la superficie del diente y la cuarta acción es la capacidad de conservar el colágeno en la dentina, que es esencial para la precipitación mineral (Srisomboon *et al.*,2022). El fluoruro de sodio se ha comparado con el fluoruro diamino de plata, determinando que el segundo fue más eficaz para la detección de la caries de la dentina (Gao *et al.*,2020). Otro estudio demostró que la aplicación bianual de fluoruro diamino de plata condujo a un mayor nivel de prevención de la progresión de la caries que el barniz de fluoruro de sodio (Srisomboon *et al.*,2022).

Cuando se aplica en un diente con caries, el FDP endurece la estructura del diente y hace que la zona afectada del diente se torne de color negro, al generarse esta pigmentación es posible que los tejidos de la boca se manchen durante el uso de FDP. Además, el producto puede ocasionar irritación si entra en contacto con tejidos bucales frágiles. Mediante el efecto extendido de las propiedades antibacterianas de la plata, los dientes adyacentes pueden recibir un cierto grado de protección contra las caries. Las prácticas recomendadas para el uso del FDP están en estudio y, aunque las tasas de éxito son altas, no llegan al 100 %. Es importante realizar un seguimiento periódico, no solo para determinar si es necesario volver a aplicar FDP, sino también para evaluar si se necesitan otros tratamientos odontológicos adicionales o alternativos. (CDA,2018)

A pesar de la disminución en las cifras en la carga de la enfermedad de caries dental, esta entidad continúa afectando gran parte de la población a nivel mundial. Las terapias de fluoruro tienen fuerte evidencia en prevención y control de caries y gran facilidad de uso comunitario. Al respecto, el fluoruro diamino de plata, tan sólo está disponible y se aprueba en Colombia por el INVIMA en 2014, pero en países como China, Estados Unidos, Brasil, entre otros, se ha usado ampliamente. Teniendo en cuenta los efectos de la aplicación sobre células y tejidos los cuales no se han descrito a cabalidad, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuáles son los efectos tisulares y celulares de la aplicación del fluoruro diamino de plata en dentición temporal y permanente?

OBJETIVOS

A. General

Identificar el efecto del fluoruro Diamino de plata sobre tejidos y células en dientes temporales y permanentes

B. Específicos:

- Evaluar los efectos tisulares tras la aplicación del fluoruro Diamino de plata
- Evaluar los efectos celulares tras la aplicación del fluoruro Diamino de plata
- Establecer la precipitación mineral después de la aplicación del fluoruro Diamino de plata

METODOLOGÍA

Se realizó una revisión narrativa, las pautas para la pregunta de revisión se formularon siguiendo el tipo de población, intervención, los tipos de intervenciones (y comparaciones) y resultados (PICO), una vez formulada la pregunta de investigación, se analizó con base a los criterios integrados; los criterios FINER descritos por Hulley & Cummings, [1988] y por los descritos por Ruiz-Morales, [2004].

A. Pregunta de Investigación

¿Cuál es el efecto de la aplicación de fluoruro diamino de plata sobre los tejidos y células en dientes temporales y permanentes?

B. Criterio de Elegibilidad

Se realizó la preselección de artículos a partir del abstract, la cual se realizó desde mayo del 2023. Los criterios de inclusión en este estudio fueron los siguientes: (1) estudios experimentales in vitro o ensayos clínicos aleatorizados que informaron el uso del fluoruro diamino de plata como una de las intervenciones; (2) artículos en idioma inglés; y (3) artículos publicados sin restricción de tiempo y periodo de publicación.

Los criterios de exclusión del estudio fueron los siguientes: (1) literatura en diferentes idiomas al inglés; y (2) artículos que no usaran el fluoruro diamino de plata como una de las intervenciones. El resultado total de la búsqueda fue de 529 artículos, de los cuales se seleccionaron 96 mediante la aplicación de criterios de selección (inclusión y exclusión).

Después de realizar la revisión narrativa, entre los investigadores se llevó a cabo una discusión en grupo, en la cual, se tomó la decisión de incluir la totalidad de artículos que contenían las palabras claves.

C. *Resultados de interés*

Los resultados de interés para esta revisión fueron los siguientes: (1) efectos tisulares tras la aplicación del fluoruro Diamino de plata; (2) efectos celulares tras la aplicación del fluoruro Diamino de plata; y (3) precipitación mineral después de la aplicación de FDP.

D. *Fuentes de datos y estrategia de búsqueda.*

Para identificar artículos relevantes, se propuso realizar una revisión narrativa de la literatura, realizando búsquedas electrónicas/manuales en la base de datos de PubMed. Seguido a esto se identificaron las siguientes palabras claves: clave: Permanent Teeth, Primary teeth, Tooth, Dentin, Enamel, Silver diamine Fluoride, Tissue, Cell, Cytotoxicity, Mineralization. Se realizó una búsqueda amplia donde se incluyeron todos los artículos que mencionaban el fluoruro diamino de plata. Posteriormente se realizó una revisión narrativa más simplificada en la base de datos. La búsqueda incluyó el siguiente término: Silver diamine fluoride. Se aplicaron los siguientes filtros a este término: Estudio experimental *in vitro*, ensayo clínico, inglés, Silver diamine fluoride[Title/Abstract]. No hubo restricción de tiempo y periodo de publicación.

E. *Métodos de valoración y síntesis de estudio*

Para evaluar si los estudios cumplieron con los criterios de inclusión, dos autores (MC y NV) revisaron los títulos y resúmenes de los artículos. Posteriormente, otro autor (EB) volvió a revisar los resúmenes de forma independiente para llegar a un consenso según los criterios de inclusión.

La selección final de artículos se realizó a partir del texto completo, se seleccionaron los artículos que en sus resultados mencionaron efectos tisulares orales y celulares tras la aplicación del fluoruro diamino de plata, por lo tanto, de los 96 artículos que se obtuvieron de la preselección, finalmente se seleccionaron 26 artículos teniendo en cuenta este criterio; este paso se llevó a cabo mediante la revisión de dos autores (MC y NV), y se alcanzó un consenso entre los tres revisores (MC, NV y EB) para la inclusión final de los artículos para el estudio. Cualquier desacuerdo fue discutido entre los autores

Se revisó la lista de referencias de los artículos seleccionados y se examinó el texto completo de los estudios potencialmente interesantes. Se definió un protocolo para la extracción de datos. Se desarrolló una base de datos mediante el uso de una tabla de excel para la extracción y recolección de los siguientes datos de cada artículo: (1) título, (2) autores, (3) año de publicación, (4) país, revista y (5) referencia. Los datos se extrajeron y registraron por duplicado (MC y NV). En otro excel se recolectó la información acerca de las conclusiones y resultados.

Los datos relacionados con la pregunta de investigación se extrajeron y registraron igualmente por dos revisores (MC y NV) utilizando un formulario final de extracción de datos diseñado a medida teniendo en cuenta las siguientes consideraciones: (1) título, (2) primer autor, (3) año de publicación, (4) resultados acerca de: cambios histológicos, microscópicos, microdureza, viabilidad celular, propiedades biomecánicas y sus (5) técnicas respectivas al igual que (6) otras técnicas utilizadas adicionales.

f. Análisis de datos

Se identificaron variables comunes para recopilar y consolidar datos de los artículos de texto completo en una tabla de evidencia. Se realizó un resumen descriptivo de las variables consideradas (cambios histológicos, microscópicos (tejidos y células), microdureza, viabilidad celular, propiedades biomecánicas y las técnicas utilizadas)

RESULTADOS

A. Selección de estudios

De la búsqueda inicial realizada en Pubmed, se encontraron 529 artículos, de estos, 433 fueron excluidos, quedando 96 artículos potencialmente relevantes. Posteriormente se excluyeron 60 artículos debido a que no se encontraron temas relacionados con efectos tisulares orales o celulares tras la aplicación de FDP en el resumen y/o título. Posteriormente, de los 36 artículos restantes se excluyeron 10 artículos debido a que no fue posible acceder al texto completo. Finalmente 26 artículos fueron incluidos para la recolección de datos y análisis final presentada en la presente revisión.

B. Descripción de estudios y modelos experimentales

a. Lugares de estudio

Se realizaron catorce estudios en Inglaterra [8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 19, 20, 21, 23, 24, 25, 27], tres en Estados Unidos [18, 22, 27], tres en China [30, 32, 33], dos en Suiza [13, 28], uno en Egipto [12], uno en Alemania [15], uno en Rumania [16] y uno en Brasil [30]. Todos los estudios fueron publicados como texto completo.

b. Especímenes

Veintitrés estudios utilizaron dientes humanos [7, 8, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32]. Ocho estudios utilizaron molares [7, 9, 10, 13, 19, 26, 27, 31], dos utilizaron molares y premolares [8, 22], dos utilizaron premolares [15, 20], un estudio utilizó caninos temporales [18], un estudio utilizó dientes anterosuperiores, en los cuales se cortaron placas de esmalte de las superficies bucales de cada diente y se crearon lesiones artificiales similares a caries en el esmalte expuesto suspendiéndolo todos los dientes en una solución desmineralizante durante 10 días a una temperatura de 37 °C [23], uno utilizó dientes anteriores temporales donde se prepararon bloques de esmalte y se crearon lesiones de caries tempranas, cada bloque se desmineralizó a 37 °C durante 96 h [24], un estudio utilizó molares temporales en los cuales se crearon lesiones subsuperficiales del esmalte sumergiendo cada diente en 10 ml de una solución

desmineralizante (pH 4,4) durante 4 días dentro de un recipiente resistente a la luz [25] y otro estudio aisló células madre pulpareas de dientes temporales, utilizando el método de disociación enzimática y se realizó la clasificación mediante citometría de flujo [27]. El tamaño de la muestra se determinó por el número de cortes obtenidos. Los cortes para las muestras de esmalte fueron de $4 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$ [7], $4 \times 4 \text{ mm}$ [8, 22], en otro estudio fue de $4 \text{ mm} \times 4 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$ [30]. Los cortes de dentina fueron de 3,8 mm de diámetro y 1,0 mm de espesor [10], 0,5, 1,0 y 1,5 mm [10], en otro estudio fue de $2,0 \pm 0,1 \text{ mm}$ [13], $3 \times 3 \times 2 \text{ mm}^3$ [20], y de 2 mm de espesor [27, 31].

Tres estudios utilizaron dientes incisivos bovinos [11, 14, 21]. Los cortes de esmalte y dentina fueron de 4 mm de ancho $\times$ 4 mm de largo $\times$ 2 mm de espesor [14] y de aproximadamente 10 a 12 mm de largo con un ancho de 2 mm y un espesor de 2 a 4 mm [21].

c. Protocolos de almacenamiento

Los dientes se almacenaron a diferentes temperaturas en diferentes sustancias químicas. Seis estudios utilizaron timol (uno al 0,5% [8], tres al 0,1 % a 4 °C, [9, 14, 31], uno a 23 °C [13] y otro al 10% en agua destilada a $23 \pm 2 \text{ °C}$ [15]), dos utilizaron cloramina-T (uno al 1% y se almacenó en agua destilada a 4 °C [10] y otro al 0,1% durante un mes y se almacenó en agua desionizada renovada semanalmente a 37 °C [24], uno utilizó 20 ml de tampón de fosfato de potasio 2 mM a pH 7,0 [10], un estudio almacenó las muestras con una humedad del 100 % [7] a temperatura ambiente (24 °C) durante 14 horas [11], un estudio utilizó suero fisiológico [15], uno usó solución de formalina neutra al 10% [16], uno utilizó agua destilada durante 24 h [17], uno utilizó solución salina normal al 0,9% [19], tres utilizaron solución de saliva artificial a 37°C [20, 22, 27], tres utilizaron agua destilada [25,30] a 4°C [29], dos utilizaron agua desionizada [26, 32] y en un estudio la pulpa se separó y luego se digirió en una solución de 2 mg/mL de colagenasa tipo I y 4 mg/mL de dipasa durante 1 h a 37 °C. en un baño de agua [28]. El medio de almacenamiento de muestras no se informó en tres estudios [19,22,28].

d. Protocolos de aplicación

Se realizaron diferentes protocolos de aplicación del FDP. En un estudio las muestras recibieron una aplicación tópica de una solución de FDP al 38%, se dejaron en la superficie de la muestra durante 60 minutos [7]. Se utilizó un micro aplicador para aplicar la solución de FDP a la superficie del esmalte.

Después del tratamiento de 60 minutos, los productos de la reacción se eliminaron frotando hisopos de algodón esterilizados [8]. En otro estudio se aplicaron 10,0 µl de solución de FDP a la dentina desmineralizada durante 3 minutos. La solución de FDP cubrió completamente la superficie de la dentina y permitió un tiempo de reacción de 3 minutos para que el FDP se infiltrara profundamente en los túbulos dentinarios y reaccionara con el medio de almacenamiento saturado en los túbulos dentinarios. Luego, los discos de dentina se enjuagaron brevemente con 2 ml del medio de almacenamiento respectivo antes de almacenarlos en 8 ml del mismo medio a 37 °C durante 5 días en una botella de plástico de 15 ml. El medio se reemplazó diariamente y se excluyó la luz envolviendo cada recipiente en papel de aluminio [9]. En cada lesión se aplicó utilizando un micro cepillo saturado con 12–14 µl de solución de FDP al 38 % con agitación durante 30 segundos y se dejó durante 3 minutos. Luego, cada lesión se enjuagó con agua de una jeringa triple durante 30 segundos y se secó suavemente con una jeringa de aire durante 10 segundos [12]. Todas las muestras recibieron un único tratamiento tópico con FDP al 38 %, cada muestra se secó al aire. Se colocó una gota de solución en un pequeño recipiente de goma separado. La solución se aplicó a la muestra usando un micro cepillo, se dejó en contacto con la superficie de la muestra durante un minuto y se enjuagó con agua desionizada para eliminar cualquier exceso, cualquier resto de barniz se eliminó con un hisopo de algodón humedecido en cloroformo [14], similar a lo que ocurrió en otro estudio, en donde se aplicó una solución de FDP al 38 % a todas las superficies de esmalte expuestas y se agitó la solución con un micro cepillo durante 1 minuto. Después de 2 minutos, el exceso y el FDP que no había reaccionado se secó con una bolita de algodón [24].

E. Efectos tisulares

Para evaluar el potencial de citotoxicidad del FDP sobre el epitelio gingival, la superficie epitelial de los equivalentes gingivales de espesor total se expuso a FDP al 38 % durante 3 min (temperatura ambiente) o 60 min (37 °C). Después del período de exposición, los equivalentes gingivales se lavaron minuciosamente con solución salina tamponada con fosfato. Los tejidos tratados con FDP mostraron signos de alteración de la barrera epitelial gingival. El análisis cualitativo de la integridad epitelial de los tejidos expuestos al FDP durante 3 min mostró un desprendimiento de la capa corneal superficial en las capas basales más profundas del epitelio gingival. Además, los tejidos exhibieron una pérdida de cohesión intercelular y reducción significativa del espesor epitelial intacto. Para los tejidos que fueron expuestos al FDP durante 60 minutos, los efectos fueron más sustanciales con descamación de

más capas y pérdida de adhesión intercelular en los compartimentos basal y suprabasal. El FDP al 38% resultó en corrosión de la mucosa y descamación epitelial incluso con un tiempo de exposición tan bajo como 3 min. (Hu *et al.*, 2022).

Las características del cristal se evaluaron mediante difracción de rayos X (XRD), esta prueba detectó picos de difracción, lo que sugiere que los cristales observados eran hidroxiapatita, así mismo, esto indicó que la hidroxiapatita en el grupo de FDP se cristalizó mejor en comparación con otros grupos (la reacción de cristalización se realizó incubando polvo de hidroxiapatita con FDP durante 48 h.). Las imágenes de la microscopía electrónica de transmisión (TEM) revelaron la morfología de los cristales formados, en los cuales se encontraron cristales de apatita en forma de placa corta o en forma de barra, igualmente, indicó que las nanopartículas de plata se incorporaron al cristal de hidroxiapatita en la hidroxiapatita tratada con FDP.(Peng *et al.*, 2021)

F. Efectos celulares

Este estudio utilizó las DPSC (Células madre de la pulpa dental) ya que simulan más de cerca el efecto del FDP en los tejidos pulpares en el entorno clínico. Las DPSC fueron cultivadas en placas de 96 pozos y se incubaron a 37 °C durante 24 h, posteriormente, las células se trataron directamente con 150 µl de FDP al 38% en concentraciones que oscilaban entre el 0,0001 % y el 0,01 % y se cuantificó la viabilidad celular. Se evaluó el efecto del FDP sobre la viabilidad de DPSC en condiciones de una barrera de dentina utilizando un "diente en chip" de microfluidos diseñado a medida para imitar la interfaz pulpa-dentina-biomaterial. Los discos de dentina se trataron con FDP al 38 % (hasta 3 h) y se evaluó la viabilidad celular de las DPSC cultivadas en las regiones de entrada y salida (aberturas circulares en cada extremo del dispositivo de microfluidos de diente en chip para la siembra de células). Se encontró que el FDP era citotóxico para DPSC en concentraciones extremadamente bajas (<0,001%). Las DPSC expuestas directamente a medios que contenían FDP (0,0001–0,01%) mostraron una reducción dependiente de la dosis en la viabilidad celular. La viabilidad celular fue inferior al 50 % para concentraciones superiores al 0,001 %. Además, el FDP al 38% penetró el espesor de la dentina de ≤1,0 mm lo que provocó la muerte completa de las DPSC cultivadas en un dispositivo de microfluidos.

La intensa acción corrosiva del FDP se valida aún más por los hallazgos histológicos que demostraron la alteración de las capas corneales superficiales y los contactos célula-célula en las capas basales más profundas del epitelio gingival dentro de los primeros 3 minutos de exposición. En las muestras expuestas a FDP de 0,5 mm y 1,0 mm de espesor, no hubo células vivas (100 % de muerte celular) en la región de salida en comparación con > 90 % de viabilidad en la región de entrada del canal pulpar. (Hu *et al.*, 2022).

Se cultivaron células madre de pulpa dental humana a 37 °C, se realizó un ensayo de viabilidad de MTT, este ensayo colorimétrico se basa en la reducción de una sal de tetrazolio amarilla (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) a cristales de formazán de color morado por las células metabólicamente activas. Luego de ser tratadas con FDP, los resultados se expresaron como densidad óptica relativa, el cual demostró que la viabilidad celular se redujo después del tratamiento con FDP en aproximadamente un 8%. [13]. En la prueba de citotoxicidad, la solución fluorada a base de nanopartículas de plata y FDP presentaron viabilidad celular similar, causando poco daño a las células. (Favaro *et al.*, 2022).

G. Precipitación mineral

Los resultados generales acerca de la precipitación mineral indican que iones de plata y flúor (Ag y F), son los principales componentes del FDP, se detectaron en la superficie de los discos de hidroxiapatita por medio de microscopía electrónica de barrido. (Bang *et al.*, 2022). También se ha demostrado que hay una mayor ganancia en el volumen mineral en todas las profundidades, y su aplicación en la superficie del esmalte desmineralizado dio como resultado un mayor remineralización. (Favaro *et al.*, 2022). La densidad mineral del grupo FDP aumentó a lo largo de la profundidad de la lesión y se estabilizó al acercarse al esmalte sano. La alta concentración de iones de calcio, fluoruro, plata, fosfato de plata y el fluoruro de calcio que se desarrolla a partir del tratamiento de FDP puede servir como depósito mineral para contribuir a una mayor profundidad de remineralización. (Punyanirun *et al.*, 2018). Después de la remineralización, el contenido de fluoruro (F) y oxígeno (O) fue significativamente mayor en el grupo FDP, en comparación con los otros grupos, lo que más bien explicaría el alto número de dureza alcanzado. (Mohamed y Ashraf, 2023). Mediante el ensayo de dureza Vickers se observó una recuperación completa de los valores de microdureza del esmalte después de la aplicación de FDP. Así mismo, se observaron precipitados minerales,

compuestos que contienen plata y fluoruro, que podrían llenar muy bien las áreas porosas y los vacíos del esmalte desmineralizado.(Rafiee *et al.*, 2022). Las imágenes de gran aumento de la dentina muestran que la precipitación de FDP se ha producido en profundidad y han tapado los túbulos dentinarios, mientras que las imágenes de la superficie del esmalte muestran que la precipitación de FDP se limita a una capa delgada en la superficie del esmalte (Abdelaziz *et al.*,2022) .

Todos los grupos de prueba con FDP mostraron una liberación de iones de fluoruro significativamente mayor que el del grupo control en más de 1000 veces.(Bang *et al.*, 2022). El uso de FDP dio como resultado una pérdida de peso menor de hidroxiapatita que cualquier otra solución, está relacionada con su alta concentración de plata y flúor.(Dias *et al.*, 2023).Aparte de la hidroxiapatita, se detectó fluorapatita después de la aplicación FDP, lo que sugiere la formación de cloruro de plata, indicando que se formó plata metálica en las superficies dentinarias. (Zhao *et al.*, 2020).Así mismo se detectaron nanopartículas (diámetro alrededor de 5 nm) en los cristales plateados de hidroxiapatita en los grupos tratados con FDP (Yu *et al.*,2018). Al evaluar la microdureza superficial del esmalte dental desmineralizado tratado con FDP, se verificó un mayor porcentaje de alteración de la microdureza superficial, esta acción puede ser el resultado de un efecto sinérgico de la asociación de nanopartículas de plata y flúor.(Favaro *et al.*,2022).Los resultados del estudio indican que el aumento en los picos que representan la formación de apatita fue mayor en el grupo FDP, esto podría deberse a los efectos del fluoruro.(Srisomboon *et al.*, 2022).Se encontró que los grupos tratados con FDP, contenían plata elemental y componentes de tejido dental como carbono (C),oxígeno (O), nitrógeno (N), calcio (Ca), fósforo (P) y sodio (Na). (Peng *et al.*, 2021). Con base en los hallazgos presentes, se puede plantear la hipótesis de que el fluoruro fue el componente principal de FDP que evitó la pérdida de superficie a través de la formación de fluorapatita y la preservación de los iones de calcio y fosfato disponibles al actuar como un reservorio de fluoruro. (Ainoosah *et al.*, 2020).

H. Penetración del FDP

El análisis de la microtomografía computarizada es una técnica de imagen por rayos X, que fue empleada para medir la densidad mineral y la distribución de plata, la cual reveló una correlación favorable entre la profundidad de penetración de la plata y la profundidad de la lesión. Se informó que el FDP podía penetrar a través del tejido necrótico y precipitar dentro de la dentina

desmineralizada subyacente. La hipótesis nula no pudo rechazarse con base en los hallazgos de esta investigación. Este estudio demostró que dejar dentina necrótica en áreas pulpares proximales no tuvo ningún efecto sobre la penetración de la plata incluso cuando se aplicó FDP a una lesión cariosa con espesor de dentina restante $>500\ \mu\text{m}$. La plata penetró a través de la dentina infectada necrótica y precipitó en todo el espesor de las lesiones cariosas. Además, entró a través de la dentina sana subyacente en la mayoría de las lesiones. La precipitación de partículas de plata ocurrió dentro de la dentina tubular e intertubular. El análisis por dispersión de energía rayos X (EDS) correspondiente a las partículas brillantes indicó plata y otros espectros de elementos como cloruro, fósforo y oxígeno. Los análisis sugieren que el aumento de la densidad mineral era el resultado de la penetración y precipitación de los compuestos de plata. Del mismo modo, se observó que las partículas de plata precipitaron en la pulpa entre las muestras con profundidad de penetración $<200\ \mu\text{m}$. Sin embargo, la profundidad de penetración de la plata en la dentina sana debajo de las lesiones cariosas se vio afectada por la cantidad y las características de la dentina restante. (Manuschai *et al.*, 2021).

Esto sugiere que se debe tener en cuenta que el FDP tiene la capacidad de penetrar en el tejido dental con un espesor de $>500\ \mu\text{m}$, no obstante, en espesores de $<200\ \mu\text{m}$, la profundidad de penetración debajo de las lesiones de caries si se ve afectada debido a las características del tejido remanente. En este sentido, resulta pertinente considerar que la aplicación del FDP óptimamente debería realizarse en espesores $>200\ \mu\text{m}$, con el fin de evitar variaciones o alteraciones en la penetración y precipitación de los compuestos de plata.

I. Análisis histológico

Las imágenes SEM del FDP muestran cristales que ocluyen los túbulos dentinarios.(Srisomboon *et al.*, 2022) . Además, después de la aplicación de FDP revelaron la aglomeración de depósitos minerales con superficies irregulares (Rafiee *et al.*, 2022)] y se encontró morfología esférica en las muestras.(Bang *et al.*, 2022).Se observaron estructuras granulares densas de granos esféricos en el área intertubular en el grupo FDP (Mei *et al.*, 2014). Las imágenes transversales exhibieron la formación de estructuras granuliformes compactas de granos en forma de bola en la región intertubular, Esto sugirió que se formó un mineral extra fibrilar y se facilitó la remineralización de la

dentina desmineralizada. (Zhao *et al.*, 2020) .Las muestras tratadas con FDP mostraron que el patrón prismático mostraba líneas gruesas de remineralización a lo largo de los bordes prismáticos.(Mohamed y Ashraf, 2023).

La superficie de esmalte tratada con FDP se observó relativamente densa e intacta; y se observó reducción de las porosidades, una capa densa de superficie de remineralización y manchas blancas que representaban la plata en la superficie homogénea del esmalte.(Mohamed y Ashraf, 2023). Sin embargo, la aplicación de FDP también mostró el clásico cambio de color que se había observado clínicamente debido a la deposición de plata. Hay áreas de la lesión que muestran una coloración más oscura que indica precipitación plateada dentro del cuerpo de la lesión. La coloración se extiende en profundidad por debajo de las lesiones de dentina, lo que indica que las partículas de plata pueden infiltrarse profundamente en la dentina. (Abdelaziz *et al.*,2022) mientras que las muestras de esmalte no presentaron ninguna decoloración visualmente obvia. Por lo tanto, la tinción causada por el FDP no disminuyó durante el tiempo, sino que se intensificó, lo que sugiere que la mancha es persistente y resiste a los repetidos desafíos con pH ácido.(Sorkhdini *et al.*, 2022)

DISCUSIÓN

El fluoruro de diamina de plata es un agente eficaz para estabilizar las lesiones de caries activas gracias al efecto remineralizante del fluoruro y las propiedades antibacterianas de la plata. El FDP no es invasivo y preserva la estructura dental cuando se utiliza como opción quimioterapéutica. Así mismo, Ballikaya *et al.*, [2022] describieron que el FDP reacciona con los iones de calcio y fosfato dentro de la estructura dental para producir fluorhidroxiapatita, que precipita sobre el diente y garantiza una solubilidad reducida. La alcalinidad del FDP también favorece la producción de fluorhidroxiapatita, que puede promover aún más el proceso de precipitación. El FDP se ha probado clínicamente como un desensibilizante dental con efectos informados a corto plazo. Mabangkhu *et al.*, [2020] reportaron la probabilidad de que el tratamiento con FDP detenga las lesiones de caries es dos veces mayor en comparación con otros fluoruros, como, el fluoruro de sodio; estos hallazgos concuerdan con ensayos clínicos que respaldan el efecto beneficioso del FDP para detener las caries dentinaria, esto podría explicarse debido a que el 38% del FDP contiene una alta concentración de plata (253,870 ppm) y fluoruro (44,800 ppm) y tiene una propiedad alcalina, debido a esto, podría ayudar a mejorar el proceso de remineralización de la dentina e inhibir el crecimiento bacteriano en comparación con el barniz de fluoruro de sodio al 5%, que tiene una concentración más baja de fluoruro (22,600 ppm). En este sentido, en la práctica clínica el FDP ha mostrado ser una sustancia con múltiples efectos beneficiosos que resultan en éxito y efectividad cuando se habla de control y prevención de caries, hipersensibilidad y detención de lesiones tempranas de caries. A pesar de estos hallazgos, Hu *et al.*, [2022] encontraron que el FDP en estudios in vitro actúa como una sustancia que puede tener otras repercusiones desfavorables. La literatura ha descrito que posterior al tiempo de exposición de FDP al 38% se observaron cambios tisulares como, signos de alteración de la barrera epitelial gingival, reducción significativa del espesor epitelial, desprendimiento de la capa corneal superficial en las capas basales más profundas del epitelio gingival, corrosión de la mucosa y descamación epitelial.

Chang y Chou, [2001] informaron que el fluoruro es citotóxico para los fibroblastos gingivales humanos y se evidenciaron efectos citotóxicos en las células de la pulpa humana de manera dependiente de la dosis y el tiempo. Las células pulpares son fundamentales en la función homeostática del tejido conectivo pulpar y son principalmente importantes en los procesos de curación de lesiones mecánicas, químicas o de irritantes microbianos en el tejido pulpar, en este

sentido, la curación de la pulpa depende de la capacidad de las células pulpares adyacentes para migrar al sitio de la herida y secretar proteínas de la matriz. Se descubrió que el fluoruro inhibe la proliferación celular y la síntesis de la matriz en las células de la pulpa, esto concluye, que el fluoruro puede afectar la función de las células pulpares, del mismo modo, la función mitocondrial también se vio deteriorada a causa de la citotoxicidad inducida por el fluoruro.

Hay poca información disponible sobre los efectos celulares del fluoruro diamino de plata en las células pulpares humanas. Hu *et al.*, [2022] en este estudio, se descubrieron que el FDP era citotóxico para las células madre de la pulpa dental, pues, se evidenció una reducción en la viabilidad celular, provocando la muerte celular de las células cultivadas. Se demostró que el FDP es citotóxico en una concentración de 0,001%, así mismo, resultados similares se describieron en estudios en donde aplicaron FDP diluido directamente sobre fibroblastos gingivales humanos y células de pulpa dental de rata. Además, demostraron que este efecto citotóxico persistía incluso después de 9 semanas de enjuagar las muestras de dentina con saliva artificial; teniendo en cuenta estos hallazgos, se sugiere, que la aplicación de una solución de FDP altamente concentrada en preparaciones de cavidades profundas cerca de la pulpa puede ser una fuente de citotoxicidad, sin embargo, deben evaluarse aún más en la práctica clínica.

Hu *et al.*, [2022] llevó a cabo un estudio incubando las células madre de la pulpa dental (DPSC) en placas de 96 pozos a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente, las células se trataron directamente con FDP en concentraciones que variaban entre el 0,0001 % y el 0,01 %. Se cuantificó la viabilidad celular y se observó un efecto notable del FDP en las DPSC. Este resultado inicial es de gran importancia, ya que indica que el FDP puede tener un impacto significativo en la viabilidad de las células madre de la pulpa dental. Además, se evaluó el efecto del FDP en las DPSC en condiciones que simulan una barreda dentinal utilizando un "diente en chip" de microfluidos diseñado a medida, en este caso, los discos de dentina se trataron con FDP al 38 % durante un período de hasta 3 horas, y se evaluó la viabilidad celular de las DPSC en las regiones de entrada y salida. Los resultados revelaron que el FDP era citotóxico para las DPSC, incluso en concentraciones extremadamente bajas, de menos del 0,001% . Esto sugiere que la toxicidad del FDP es particularmente preocupante cuando se aplica directamente en contacto con las células de la pulpa.

Hu *et al.*, [2022] en términos de dosis, se observaron una reducción dependiente de la dosis en la viabilidad celular, pues, la viabilidad celular cayó por debajo del 50 % cuando las concentraciones superaron el 0,001 % . Esto subraya la importancia de controlar las concentraciones del FDP en productos y tratamientos que utilizan este compuesto, pues, incluso pequeñas cantidades pueden tener efectos negativos significativos en las células de la pulpa dental. Adicionalmente, se encontró que el FDP al 38 % penetró el espesor de la dentina en menos de 1,0 mm, lo que resultó en la muerte completa de las DPSC cultivadas en un dispositivo de microfluidos, esto plantea preocupaciones sobre la seguridad de los tratamientos que involucran el uso del FDP, especialmente cuando se trata de áreas cercanas a la pulpa dental.

Hu *et al.*, [2022] para respaldar aún más la conclusión de que el FDP es altamente corrosivo, su estudio se basó en hallazgos histológicos que mostraron alteraciones en las capas corneales superficiales y los contactos célula-célula en las capas basales más profundas del epitelio gingival en los primeros 3 minutos de exposición , esto podría indicar que el FDP tiene un impacto rápido y negativo en los celulares orales.

Por último, Favaro *et al.*, [2022] llevaron a cabo una prueba que respalda la toxicidad del FDP en las células pulpares, se realizó un ensayo colorimétrico MTT, el cual demostró una reducción del 8% en la viabilidad celular después del tratamiento con FDP.

En resumen, estos hallazgos destacan la importancia de comprender los efectos del FDP en las células de la pulpa dental y el epitelio gingival, ya que, los resultados indican que este compuesto puede ser altamente tóxico en concentraciones extremadamente bajas. Así mismo, estos datos pueden sugerir implicaciones significativas en el desarrollo y regulación de productos que contengan FDP, pues la seguridad de los tejidos orales debe ser una consideración prioritaria en la práctica odontológica. Sin embargo, una limitación importante de este estudio fue no encontrar otros efectos en células orales, lo que hace que no sea factible determinar a fondo qué otros efectos absolutos pueden generarse tras la aplicación del FDP.

Uno de los efectos descritos en la literatura sobre el FDP es su capacidad de inhibir la desmineralización y promover la remineralización , Favaro *et al.*, [2022] indican que los componentes del FDP como son los iones de plata y flúor (Ag y F), promueven este efecto

remineralizante en la cual hay una ganancia en el volumen mineral en todas las profundidades, y su aplicación en la superficie del esmalte desmineralizado da como resultado una mayor remineralización. Esta acción puede ser el resultado de un efecto sinérgico de la asociación de nanopartículas de plata y fluoruro. Nozari *et al.*, [2017], en un estudio *in vitro* con dientes temporales humanos, en el que encontraron que los valores más altos de remineralización obtenidos provinieron de la asociación de nanopartículas de plata y fluoruro. Por lo tanto, la acción de las nanopartículas de plata puede mejorarse mediante su combinación con fluoruro, y ambos son responsables de la remineralización del esmalte dental. Punyanirun *et al* [2018] lograron identificar que hay una densidad mineral del grupo FDP aumentó a lo largo de la profundidad de la lesión y se estabilizó al acercarse al tejido sano, todo esto debido a la alta concentración de iones de calcio, fluoruro, plata, fosfato de plata y el fluoruro de calcio que puede servir como depósito mineral para contribuir a una mayor profundidad de remineralización. Así mismo, Rafiee *et al.*, [2022] observaron precipitados minerales, compuestos que contienen plata y fluoruro, que podrían llenar muy bien las áreas porosas y los vacíos del esmalte desmineralizado. Para resumir, tras la aplicación de fluoruro de diamina de plata a una superficie deteriorada, se forma la capa escamosa de conjugados de plata-proteína, lo que aumenta la resistencia a la disolución ácida y la digestión enzimática. Se forman hidroxiapatita y fluorapatita sobre la matriz orgánica expuesta, junto con la presencia de cloruro de plata y plata metálica. Horst *et al.*, [2017] lesión tratada aumenta en densidad mineral y dureza mientras que la profundidad de la lesión disminuye.

Se informó que el FDP podía penetrar a través del tejido necrótico y precipitar dentro de la dentina desmineralizada subyacente. La hipótesis nula no pudo rechazarse con base en los hallazgos de esta investigación. Este estudio demostró que dejar dentina necrótica en áreas pulpares proximales no tuvo ningún efecto sobre la penetración de la plata incluso cuando se aplicó FDP a una lesión cariosa con espesor de dentina restante $>500 \mu\text{m}$. La plata penetró a través de la dentina infectada necrótica y precipitó en todo el espesor de las lesiones cariosas. Además, entró a través de la dentina sana subyacente en la mayoría de las lesiones. La precipitación de partículas de plata ocurrió dentro de la dentina tubular e intertubular. Los análisis sugieren que el aumento de la densidad mineral era el resultado de la penetración y precipitación de los compuestos de plata. Del mismo modo, se observó que las partículas de plata precipitaron en la pulpa entre las muestras con profundidad de penetración $<200 \mu\text{m}$. Sin embargo, Srisomboon *et al.*, [2022] evidenció que la profundidad de

penetración de la plata en la dentina sana debajo de las lesiones cariosas se vio afectada por la cantidad y las características de la dentina restante. Mohamed y Ashraf, [2023] realizaron un estudio el cual tenía como objetivo evaluar la profundidad de penetración de la plata en dentina sana y desmineralizada después de la aplicación de FDP al 38%. Un estudio anterior mencionó que los iones de plata y fluoruro del FDP pueden penetrar de 50µm a 200 µm en la dentina. Sin embargo, el estudio evaluó la "profundidad de remineralización" mediante una prueba de microdureza que no es aplicable ni precisa para la penetración de la plata. En el estudio actual, se evaluó la profundidad de la penetración de la plata en la dentina sana y desmineralizada mediante microscopía óptica, SEM, EDS y una prueba micro-PIXE/PIGE. Sayed *et al.*, [2019] describieron que los resultados del microscopio óptico proporcionaron imágenes de la profundidad de la decoloración, que pueden considerarse como un indicador de la profundidad de penetración del FDP y, por tanto, de la penetración de la plata. Los iones de plata liberados por el FDP tienen una alta afinidad por las proteínas (colágeno), por lo que cuanto más colágeno esté expuesto, mayor será la absorción de plata y más rápido será el cambio de color. Por lo tanto, la mayor cantidad de colágeno expuesto en la dentina desmineralizada conducirá a una mayor absorción de plata y su reducción a plata metálica, lo que resultará en un cambio de color más oscuro en poco tiempo.

Los resultados del presente estudio deben evaluarse junto a sus limitaciones. Aquí, resultados más exhaustivos de los efectos en células como; muerte celular, cambios morfológicos, apoptosis y en tejidos orales, vistos en la clínica y en estudios *in vitro*. Los ensayos clínicos futuros deberían evaluar más a fondo el efecto del FDP sobre varios tipos de células y tejidos de la cavidad oral, Sin embargo, los resultados actuales son alentadores y proporcionan información relevante y favorable sobre el enfoque del FDP en las células y tejidos orales.

CONCLUSIONES

La acción del FDP es eficaz debido a su estabilidad a largo plazo, evita la degradación de la dentina durante la progresión de la lesión de caries al promover la formación de apatita y recupera completamente la microdureza del esmalte, ya que, es eficaz en la inhibición de la erosión del esmalte. Estudios in vitro han demostrado que el FDP reduce la viabilidad de las células pulpaes, la preocupación que genera la aplicación de FDP en cavidades profundas es el efecto citotóxico sobre las células de la pulpa dental, ya que puede causar dolor e inflamación pulpar. Las características de la lesión de caries y la cantidad de dentina remanente es un factor determinante en relación con la permeabilidad de la dentina. La dentina necrótica en zonas pulpo proximales no interfiere con la penetración de la plata en las lesiones de caries. En conjunto, estos aspectos sugieren la necesidad de realizar estudios relacionados para describir a cabalidad el efecto del fluoruro sobre el metabolismo celular y el desencadenamiento de diferentes vías de señalización producto de su aplicación.

REFERENCIAS

1. Núñez D, Garcia L. Bioquímica de la caries dental. Rev haban cienc méd, 2010 Jun; ; 9(2): 156-166.
2. Milgrom P, Horst JA, Ludwig S, Rothen M, Chaffee BW, Lyalina S, et al. Topical silver diamine fluoride for dental caries arrest in preschool children: A randomized controlled trial and microbiological analysis of caries associated microbes and resistance gene expression. J Dent. 2018 Jan;68:72-78.
3. Gao SS, Chen KJ, Duangthip D, Wong MCM, Lo ECM, Chu CH. Arresting early childhood caries using silver and fluoride products - A randomised trial. J Dent. 2020 Dec;103:103522.
4. Srisomboon S, Kettratad M, Stray A, Pakawanit P, Rojviriyaya C, Patntirapong S, et al. Effects of Silver Diamine Nitrate and Silver Diamine Fluoride on Dentin Remineralization and Cytotoxicity to Dental Pulp Cells: An In Vitro Study. J Funct Biomater. 2022 Feb 1;13(1):16.
5. Caiza P, Rubí G. Remineralización del esmalte dental con flúor barniz y fluoruro diamino de plata. Estudio in vitro [trabajo de grado]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador,:2022
6. California Dental Association. Silver Diamine Fluoride. Sacramento (CA)95814;2018.
7. Yu OY, Mei ML, Zhao IS, Li QL, Lo EC, Chu CH. Remineralisation of enamel with silver diamine fluoride and sodium fluoride. Dent Mater. 2018 Dec;34(12):e344-e352.
8. Sorkhdini P, Crystal YO, Tang Q, Lippert F. The effect of silver diamine fluoride in preventing in vitro primary coronal caries under pH-cycling conditions. Arch Oral Biol. 2021 Jan;121:104950.
9. Peng JY, Botelho MG, Matinlinna JP, Pan HB, Kukk E, Low KJ. Interaction of storage medium and silver diamine fluoride on demineralized dentin. J Int Med Res. 2021 Feb;49(2):300060520985336.
10. Hu S, Muniraj G, Mishra A, Hong K, Lum JL, Hong CHL, et al. Characterization of silver diamine fluoride cytotoxicity using microfluidic tooth-on-a-chip and gingival equivalents. Dent Mater. 2022 Aug;38(8):1385-1394.
11. Ishiguro T, Mayanagi G, Azumi M, Otani H, Fukushima A, Sasaki K, et al. Sodium fluoride and silver diamine fluoride-coated tooth surfaces inhibit bacterial acid production at the bacteria/tooth interface. J Dent. 2019 May;84:30-35.

12. Manuschai J, Talungchit S, Naorungroj S. Penetration of Silver Diamine Fluoride in Deep Carious Lesions of Human Permanent Teeth: proAn In Vitro Study. *Int J Dent*. 2021 Dec 22;2021:3059129.
13. Srisomboon S, Kettratad M, Stray A, Pakawanit P, Rojviriyaya C, Patntirapong S, et al. Effects of Silver Diamine Nitrate and Silver Diamine Fluoride on Dentin Remineralization and Cytotoxicity to Dental Pulp Cells: An In Vitro Study. *J Funct Biomater*. 2022 Feb 1;13(1):16.
14. Ainoosah SE, Levon J, Eckert GJ, Hara AT, Lippert F. Effect of silver diamine fluoride on the prevention of erosive tooth wear in vitro. *J Dent*. 2020;103S:100015.
15. Auychai P, Khumtrakoon N, Jitongart C, Daomanee P, Laiteerapong A. Bond Strength and Microleakage of a Novel Glass Ionomer Cement Containing Silver Diamine Fluoride. *Eur J Dent*. 2022 Jul;16(3):606-611.
16. Idorași L, Crăciunescu EL, Stan AT, Sinescu C, Chiș AC, Onchiș-Moacă D, et al. Morphological aspects in remineralizing potential of Silver Diamine Fluoride. *Rom J Morphol Embryol*. 2021 Apr-Jun;62(2):537-543.
17. Sulyanto RM, Kang M, Srirangapatanam S, Berger M, Candamo F, Wang Y, et al. Biom mineralization of Dental Tissues Treated with Silver Diamine Fluoride. *J Dent Res*. 2021 Sep;100(10):1099-1108.
18. Da Cunha WA, Palma LF, Shitsuka C, Corrêa FNP, Duarte DA, Corrêa MSNP. Efficacy of silver diamine fluoride and sodium fluoride in inhibiting enamel erosion: an ex vivo study with primary teeth. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2021 Jun;22(3):387-392.
19. Yu OY, Zhao IS, Mei ML, Lo ECM, Chu CH. Caries-arresting effects of silver diamine fluoride and sodium fluoride on dentine caries lesions. *J Dent*. 2018 Nov;78:65-71.
20. Punyanirun K, Yospiboonwong T, Kunapinun T, Thanyasrisung P, Trairatvorakul C. Silver diamine fluoride remineralized artificial incipient caries in permanent teeth after bacterial pH-cycling in-vitro. *J Dent*. 2018 Feb;69:55-59.
21. Abdelaziz M, Yang V, Chang NN, Darling C, Fried W, Seto J, et al. Monitoring silver diamine fluoride application with optical coherence tomography and thermal imaging: An in vitro proof of concept study. *Lasers Surg Med*. 2022 Jul;54(5):790-803.
22. Sorkhdini P, Crystal YO, Tang Q, Lippert F. The effect of silver diamine fluoride on the remineralization of early enamel carious lesions under pH-cycling conditions. *JADA Foundational Science*. 2022;1:100006.

23. Mohamed Y, Ashraf R. Remineralization potential of phosphorylated chitosan and silver diamine fluoride in comparison to sodium fluoride varnish: invitro study. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2023 Jun;24(3):327-334.
24. Rafiee A, Memarpour M, Benam H. Evaluation of bleaching agent effects on color and microhardness change of silver diamine fluoride-treated demineralized primary tooth enamel: An in vitro study. *BMC Oral Health*. 2022 Aug 12;22(1):347.
25. Mashhour A, Allam G, Wassel M. Comparative evaluation of prevention of demineralization of artificial enamel caries treated with two fluoride varnishes and 38% SDF in primary teeth: an in vitro study. *BMC Oral Health*. 2023 Feb 17;23(1):110.
26. Dias FA, Vidal CMP, Comnick CL, Xie XJ, Berger SB. Effect of silver nanoparticles associated with fluoride on the progression of root dentin caries in vitro. *PLoS One*. 2023 Jan 20;18(1):e0277275.
27. Zhao IS, Mei ML, Li QL, Lo ECM, Chu CH. Arresting simulated dentine caries with adjunctive application of silver nitrate solution and sodium fluoride varnish: an in vitro study. *Int Dent J*. 2017 Aug;67(4):206-214. English.
28. Bang SJ, Jun SK, Kim YJ, Ahn JY, Vu HT, Mandakhbayar N, et al. Characterization of Physical and Biological Properties of a Caries-Arresting Liquid Containing Copper Doped Bioglass Nanoparticles. *Pharmaceutics*. 2022 May 27;14(6):1137.
29. Mei ML, Ito L, Cao Y, Li QL, Chu CH, Lo EC. The inhibitory effects of silver diamine fluorides on cysteine cathepsins. *J Dent*. 2014 Mar;42(3):329-335.
30. Favaro JC, Detomini TR, Maia LP, Poli RC, Guiraldo RD, Lopes MB, et al. Anticaries Agent Based on Silver Nanoparticles and Fluoride: Characterization and Biological and Remineralizing Effects-An In Vitro Study. *Int J Dent*. 2022 Apr 19;2022:9483589.
31. Zhao IS, Yin IX, Mei ML, Lo ECM, Tang J, Li Q, et al. Remineralising Dentine Caries Using Sodium Fluoride with Silver Nanoparticles: An In Vitro Study. *Int J Nanomedicine*. 2020 Apr 23;15:2829-2839.
32. Mei ML, Ito L, Cao Y, Lo EC, Li QL, Chu CH. An ex vivo study of arrested primary teeth caries with silver diamine fluoride therapy. *J Dent*. 2014 Apr;42(4):395-402.
33. Nozari A, Ajami S, Rafiei A, Niazi E. Impact of Nano Hydroxyapatite, Nano Silver Fluoride and Sodium Fluoride Varnish on Primary Teeth Enamel Remineralization: An In Vitro Study. *J Clin Diagn Res*. 2017 Sep;11(9):ZC97-ZC100.

34. Ballikaya E, Ünverdi GE, Cehreli ZC. Management of initial carious lesions of hypomineralized molars (MIH) with silver diamine fluoride or silver-modified atraumatic restorative treatment (SMART): 1-year results of a prospective, randomized clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2022 Feb;26(2):2197-2205.
35. Mabangkhru S, Duangthip D, Chu CH, Phonghanyudh A, Jirarattanasopha V. A randomized clinical trial to arrest dentin caries in young children using silver diamine fluoride. *J Dent.* 2020 Aug;99:103375.
36. Chang YC, Chou MY. Cytotoxicity of fluoride on human pulp cell cultures in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001 Feb;91(2):230-4.
37. Horst JA, Ellenikiotis H, Milgrom PM. UCSF Protocol for Caries Arrest Using Silver Diamine Fluoride: Rationale, Indications and Consent. *Pa Dent J (Harrisb).* 2017 Jan;84(1):14, 16-26.
38. Sayed M, Matsui N, Uo M, Nikaido T, Oikawa M, Burrow MF, et al. Morphological and elemental analysis of silver penetration into sound/demineralized dentin after SDF application. *Dent Mater.* 2019 Dec;35(12):1718-1727.