



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN**

TÍTULO:

Cuantificación de la adhesión y diferenciación de
Osteoblastos Humanos en placas de Ti y NTi

MODALIDAD DE TITULACIÓN:

Tesis y Examen Profesional

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA

P R E S E N T A:

Jimena Muñoz Vázquez



TUTOR: Dr. René García Contreras

(León, Guanajuato, 2020)



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la vida y a Dios que me colocó en el lugar indicado, en momento justo con las personas correctas. Estaré siempre agradecida con todo y todos los que han formado parte de la persona que soy.

ÍNDICE

Contenido	Pag.
1. RESUMEN	4
2. INTRODUCCIÓN	5
3. MARCO TEÓRICO	7
3.1 ANTECEDENTES DE LA IMPLANTOLOGÍA.....	7
3.2 GENERALIDADES DE LA IMPLANTOLOGÍA.....	98
3.3 TITANIO.....	11
3.4 NITRURIZACIÓN DEL Ti.....	12
3.5 PERIIMPLANTITIS.....	13
3.6 TRATAMIENTO DE LAS SUPERFICIES DE TI Y NTI.....	16
4. ANTECEDENTES.....	18
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
6. JUSTIFICACIÓN	21
7. HIPÓTESIS	22
8. OBJETIVO	23
9. METODOLOGÍA	24
10. RESULTADOS	31
11. DISCUSIÓN	35
12. CONCLUSIÓN	38
13. RELEVANCIA CLINICA.....	38
14. REFERENCIAS	39
15. ANEXOS	45

1. RESUMEN

Aunque se han realizado diversos tratamientos de las superficies de titanio (Ti) para incrementar la adhesión, proliferación y diferenciación celular, no se tiene la suficiente evidencia. **Objetivo:** Comparar la adhesión inicial y diferenciación osteogénica de osteoblastos humanos en placas de Ti y titanio-nitrurizado (NTi) exponiéndolas a irradiación-UV y quitosano para reconocer la superficie más viable para su proliferación. **Materiales y métodos:** Placas de Ti-tipo 1 de 10x10x0.5 mm fueron cortadas, pulidas y esterilizadas. Las placas fueron nitrurizadas por electrodeposición de vapor. Las placas fueron analizadas en AFM. Las muestras fueron expuestas a irradiación-UV durante 20 minutos a 253.7 nm ($52 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) y recubiertas con quitosano al 1%. Los osteoblastos (2×10^6 células/mL) fueron inoculados sobre las placas durante 60 min, lavadas 3 veces y la viabilidad se determinó por el bioensayo de MTT. La diferenciación osteogénica se realizó durante 4 semanas y determinada por tinción de rojo de alizarina. Se estimó el promedio, desviación estándar de los datos y analizados con pruebas de normalidad de Shapiro-Wilks, Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney ($n=9/\text{gp}$). **Resultados:** La topografía superficial correspondió a: NTi ($R_a=0.098 \mu\text{m}$) y Ti ($R_a=0.212 \mu\text{m}$). La cuantificación de adhesión celular fue: Ti+Quitosano= $123 \pm 4.9\%$ ($p < 0.05$) $< \text{Ti}=100 \pm 10.7\%$ $< \text{NTi}=72 \pm 6.8\%$ $< \text{NTi+UV}=71 \pm 4.4$ $< \text{Ti+UV}=69 \pm 3.5\%$ $< \text{NTi+Quitosano}=47 \pm 3.3\%$. Los marcadores positivos de diferenciación (Cristales mineralizantes) osteogénica correspondieron en orden a la adhesión inicial de osteoblastos. **Conclusión:** Las placas con mayor adhesión osteogénica fueron las de Ti con y sin quitosano o UV, lo que demuestra que esta sería la superficie biológica ideal para su modificación ya que mantiene una adecuada y mayor interacción celular. **Palabras clave:** superficies, osteogénico, Quitosano, radiación uv.

2. INTRODUCCION

Desde tiempos antiguos, uno de los principales retos de la odontología ha sido el tratamiento de las ausencias dentales, ya sean causadas por caries, enfermedad periodontal o traumatismos dentales. En la actualidad el método más utilizado para contrarrestar estas ausencias, y la mejor opción en nuestros días, han sido sin duda, los implantes dentales. (1)

En 1965 el profesor Brånemark (2) descubrió la osteointegración, y a partir de entonces se comenzó a introducir el uso de implantes dentales, lo que paso de ser un sueño a convertirse en una realidad, cuyo principal objetivo de estos era la funcionalidad dental. (3)

La preocupación constante de mantener la innovación en el área de la salud, así como perfeccionar la tasa de éxito de los implantes dentales, ha hecho que diversas investigaciones se vayan desarrollando, dando lugar a una mayor experimentación con materiales biocompatibles con el ser humano (4), esta experimentación nace del reconocimiento de las diferencias entre tejidos vivos y materiales inorgánicos, los cuales mantienen una interacción constante que puede resultar beneficiosa o contraproducente. (5)

Actualmente uno de los materiales de mayor uso en la elaboración de implantes dentales es el titanio (Ti), ya que sus características, como la resistencia a la corrosión y su biocompatibilidad, lo hacen ideal para la interacción con tejidos vivos (6-7).

A pesar de todo esto, el éxito de los implantes dentales no ha llegado a su máximo potencial, por lo que la ciencia se ha dedicado a realizar numerosos procedimientos experimentales sobre las superficies de Ti para maximizar su adhesión al hueso, proceso llamado, osteointegración (8). Por lo tanto todas las modificaciones hechas a los nuevos implantes buscan un mismo objetivo, la adecuada respuesta del medio receptor y un menor tiempo de anclaje, así también que el implante soporte las cargas aplicadas y tenga un éxito clínico a largo plazo.

Entre las modificaciones a estas superficies, más utilizadas actualmente, encontramos la exposición a radiación ultravioleta (UV), sus atributos se deben a que al someter las placas de Ti a esterilización por rayos UV se reducen las concentraciones de carbono, y estas a su vez incrementan la concentración de oxígeno, volviendo a la superficie hidrofílicas, captando agua y formando grupos –OH y –O₂ (9-10) esto siendo de gran importancia ya que la energía superficial y la hidrofiliidad de las superficies de los implantes tiene un papel decisivo en la interacción inicial de las proteínas y las células del hueso (11).

Por otro lado, el desarrollo de biomateriales capaces de sustituir algún tejido faltante, crean un sinnúmero de oportunidades para la aplicación de estos en el área médica, en este caso la utilización de quitosano para tratamiento de la superficie de Ti, ha generado una alternativa más, ya que es un biopolímero con efectos bactericidas/bacteriostáticos, biodegradable y biocompatible, el cual ha sido utilizado en la ingeniería de los tejidos, con el fin de reemplazarlos parcial o totalmente, liberando materiales bioactivos o influenciando el crecimiento celular (12).

Este trabajo tiene como objetivo conocer la interacción de osteoblastos humanos-placas de Ti y titanio-nitrurizado (NTi) expuestas a irradiación-UV y quitosano y determinar los efectos en la adhesión focal inicial y diferenciación a linaje osteogénico.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Antecedentes de la Implantología

Desde tiempos antiguos el hombre se ha preocupado por la reposición dental debido a que cada pieza dental resulta ser de vital importancia al participar en el proceso alimenticio por cumplir la función de triturar los alimentos, así como en la armonización facial, sin contar que la presencia de estos, son un signo de salud, bienestar y estética. (13)

Descubrimientos arqueológicos nos señalan que la realización de tratamientos implantológicos, han tenido presencia en distintas culturas, como una alternativa funcional-estética para vivos y muertos, con la intención de mejorar la imagen del difunto, y la funcionalidad en vivos.(14)



Fig. 1 Primeras prótesis implantosoportadas.
(Sidón Fenicia. Siglo IV y V a.C)

Se define como implante dental a aquel elemento aloplástico, el cual es insertado en tejido óseo o por debajo del periostio, con el fin de reponer piezas dentales ausentes.(15)

En 1941, el sueco Gustav Dahk utilizó por primera vez un implante dental de tipo subperiostico en pacientes edentulos totales, estos dispositivos estaban fabricados con un material llamado Vitallium que se asentaba sobre el hueso y comprendia de pilares que atravesaban la mucosa, los cuales

servían como soportes para las prótesis totales. (17) La tasa de éxito de este tipo de implantes era muy baja, debido a que diversos estudios arrojaron que sus efectos cancerígenos eran altos.

Después de diversos estudios comparativos sobre los efectos del Vitallium, aleaciones con Fe y Ti realizados, fue en los años 60, que el Dr. Per-Ingvar Branemark comenzó con los primeros trabajos integrando el Ti en la implantología dental, al realizar un estudio en conejos, titulado *Microscopía vital de la función de la médula ósea en la cicatrización y regeneración del hueso del peroné de conejos*, con un dispositivo transóseo de Ti para sujetar las lentes que permitirían la observación de microscopía vital, puesto que al finalizar con el estudio y proseguir con el retiro de estos dispositivos, se dio cuenta de la dificultad que existía para retirarlos, ya que estaban integrados al hueso, y pensó que una utilidad práctica para esta cualidad del titanio era usarla para sostener las dentaduras postizas de pacientes edéntulos, dando inicio a la era de la Odontología Implantaria; así pasando el campo observacional a un campo clínico ya protocolarizado con bases científicas estrictas.(16)



Fig. 2 Dr. Per-ingvar Branemark
(Associated Branemark Osseointegration Centers)

Para 1965 Branemark inició con la colocación del primer implante dental a base de titanio en paciente en zona anterior mandibular, teniendo gran éxito y consiguiendo una osteointegración adecuada. (17) A partir de esto, los procedimientos quirúrgicos y protésicos han ido evolucionando ya que la necesidad de este tipo de restauraciones ha ido incrementando con el propósito de hacer que los procedimientos sean más eficientes y satisfactorios para los pacientes. (14)

3.2 Generalidades de implantología

A partir de las investigaciones del Dr Branemark y su protocolarización en el procedimiento de colocación de implantes, este mismo, introdujo el término “osteointegración” para referirse a conexión directa, estructural y funcional entre hueso vivo, ordenado y la superficie de un implante sometido a una carga funcional. Por lo cual, el resultado de esta conexión hueso-implante depende de factores biológicos y sistémicos del paciente, así como de las características del implante y su superficie entre otros, sin la presencia de síntomas de inflamación severa. (15)



Fig. 3 Implante de Ti osteointegrado.
(Estudio Dental Barcelona España)

El éxito del proceso se puede clasificar en tres mecanismos, los cuales serán responsables de que se realice una adecuada osteointegración:

- 1) Osteoinducción: transformación de células precursoras en células osteogénicas, o sea, el tejido óseo se forma desde la superficie del hueso circundante.
- 2) Osteogénesis: Proceso en el que las células osteogénicas forman sitios de depósitos de hueso nuevo.
- 3) Osteoconducción: formación de hueso sobre la superficie del implante.

Por su parte, la osteogénesis suele ocurrir de dos maneras, por contacto, la cual forma tejido seo a una velocidad 30% mayor que a distancia la formación desde la superficie del implante implica que dicha superficie permita su colonización por parte de células de origen mesenquimal, a esto se le denominada osteoconducción, que en realidad es la formación de hueso sobre el implante o material bioactivo, provocando que este proceso dependa de la biocompatibilidad del material y de las

características de su superficie. Como consecuencia de la colonización de la superficie del implante por parte de las células osteoprogenitoras, se forma una interfase de contacto entre el implante y los tejidos que lo rodean.

A su vez, esta interfase de contacto se da dos tipos: implante-tejido duro e implante-tejido blando/fibroso. Se ha reportado que el contacto directo entre el hueso vivo y la superficie del implante forma una fuerte matriz extracelular de unión tanto estructural como funcional que incrementa con el tiempo, promueve la osteogénesis reparativa en la interfase y permite la fijación del implante gracias a su mineralización. (20) En el caso de la interfase con el tejido blando, se ha reportado que las células epiteliales forman un fuerte collar alrededor del implante que carece de signos de respuesta inflamatoria y que crea una fina capa de tejido conectivo poco vascularizada en las cercanías de la superficie del implante a partir de la cual comienza la regeneración tisular. (20)

Estos contactos entre el tejido biológico y el implante están relacionados con las características topográficas en la superficie del implante.

Según Jamen- Mish (2007) se considera exitoso el proceso de osteointegración cuando se cumplen los siguientes criterios (15):

Clinicos

- Inmovilidad dental
- Sonido claro y firme a la percusión.
- Ausencia de foco infeccioso.
- Ausencia de parestesia.

Radiográficos

- Ausencia de espacio radiolúcido.
- Pérdida ósea inferior a 2 mm después del primer año.

Cuando esta se ha producido, las células óseas del hueso que rodea al implante dental insertado, se unen estructural y funcionalmente a este. El periodo durante el cual los implantes se “integran” al hueso en el que se implantaron tiene una duración en el maxilar superior de 4 a 6 meses y el maxilar inferior de 3 a 4 meses.

La estabilidad del implante es el factor de éxito más importante para la osteointegración.

Por el contrario el fracaso de un implante ocurre cuando este no se llega a osteointegrar correctamente, ya sea por defectos al principio del proceso cicatricial o porque el proceso no es favorable desde etapas tempranas. La pérdida de un implante durante la fase de cicatrización inicial,

a menudo se atribuye a una infección postoperatoria, a una calidad o cantidad ósea deficiente o a la técnica quirúrgica empleada. Por el contrario, los fracasos de los implantes en etapas avanzadas pueden estar dados por una sobrecarga oclusal desfavorable o por periimplantitis. (19)

3.3 Titanio

El uso de Titanio (Ti) para la implantología se remonta a tiempos antiguos. En la década de 1930, con el incremento en la tecnología de nuevos metales, se inició una era de expansión de uso quirúrgico de implantes metálicos (27).

Durante las dos décadas pasadas, y hasta el momento, algunos autores como Brånemark (1985), sostuvieron que los implantes a base de titanio pueden desarrollar tanto osteointegración como fibrointegración (28), debido a su alto índice de biocompatibilidad, Kawahara (29) ha demostrado sobre cultivo de tejidos y al microscopio electrónico, que el titanio no sólo es estable en el organismo, sino que también es notablemente compatible con los tejidos y células que lo rodean.

La biocompatibilidad del titanio está relacionada con las propiedades de su óxido de superficie. En contacto con el aire o el agua, el titanio rápidamente forma un espesor de óxido de 3-5 nm a la temperatura ambiente. El óxido más frecuente es el dióxido de titanio (TiO₂). Este óxido es muy resistente al ataque químico lo que hace que el titanio sea uno de los metales más resistentes a la corrosión y que contribuye a su biocompatibilidad. Además el titanio es un material de una resistencia más que suficiente para su aplicación clínica⁽³⁰⁾

Los tipos de titanio se han clasificado según su función:

1. Grado 1: Ti puro, resistencia mecánica relativamente baja y alta ductilidad.
2. Grado 2: Ti puro más utilizado. Combinación de resistencia, ductilidad y soldadura.
3. Grado 3: Ti de alta resistencia, usado para la fabricación de matrices e intercambiadores de calor.
4. Grado 5: Aleación de Ti más fabricada. Resistencia mecánica muy alta. Alta resistencia al calor.
5. Grado 7: Resistencia a la corrosión superior en ambientes oxidantes.
6. Grado 9: Muy alta resistencia mecánica y a la corrosión.
7. Grado 12: Mejor resistencia al calor que los Ti puros.
8. Grado 23: Aleación de Ti para aplicaciones de implante quirúrgico.

Grado 1, 2, 3 y 4, pertenecen a los Ti puros, los demás son aleaciones. Se consideran puros por su alta resistencia a la corrosión, resistencia mecánica y a la temperatura (44).

3.4 Nitrurización del Titanio.

Cuando se emplea nitrógeno como elemento de aportación como aleante o para la formación de compuestos, se produce un incremento de dureza superficial. Este incremento se debe a la formación de una capa de nitruros de titanio. En el caso de realizar los tratamientos a temperaturas inferiores a 1.050° C, para contenidos de nitrógeno situados entre 35% hasta valores superiores al 54% se forman nitruros δ (TiN), y para contenidos de nitrógeno situados en un estrecho rango alrededor del 33% se forman nitruros ϵ (Ti₂N).

La microestructura de estos nitruros difiere de la del titanio. El nitruro δ (TiN) tiene una microestructura cúbica centrada en las caras, mientras que el nitruro ϵ (Ti₂N) presenta una microestructura tetragonal centrada en el cuerpo. Estos nitruros presentan una dureza muy elevada, de 2.000–2.500 HV para el nitruro ϵ y de 3.000-3.200 HV en el caso del TiN [Soh93].

De modo resumido, las capas nitruradas presentan las siguientes características:

- a) Elevada dureza.
- b) Retención de la dureza a elevadas temperaturas.
- c) Gran resistencia al desgaste.
- d) Elevada resistencia a la corrosión.
- e) Bajo coeficiente de fricción.
- f) La resistencia a la fatiga disminuye ligeramente.
- g) Buena biocompatibilidad.

Dados estos buenos resultados, la mayoría de tratamientos superficiales del titanio y sus aleaciones se basan en el uso del nitrógeno como aleante de aportación.

3.5 Periimplantitis

Término introducido por Mombelli en 1987, y después modificado por el 1er Censo Europeo de Periodoncia para definir *una enfermedad inflamatoria patológica en el tejido blando y duro que rodea a un implante osteointegrado*, la cual representa una de las principales causas de la pérdida implantaria dental en pacientes. (21)

Los tejidos duros y blandos periimplantarios, se forman como resultado de un proceso de cicatrización de una herida tras la inserción del implante. La formación de hueso nuevo en contacto con el implante es reconocida como osteointegración, mientras que el establecimiento de mucosa periimplantaria incluye la generación de un epitelio de unión y una zona de tejido conectivo en contacto con componentes del implante.(22)

Se sabe que las características de la superficie del implante pueden influir en la morfología del defecto. Está demostrado que los implantes con superficies recubiertas pueden hospedar y perpetuar infecciones causando pérdida de hueso de forma vertical (25). De este modo estas características influirán de forma notable tanto en el diagnóstico como en el enfoque terapéutico ante una periimplantitis.

Como antecedente, se asume que la mucositis periimplantaria es la antecesora de la periimplantitis, ya que la primera es únicamente la inflamación de la mucosa que rodea al implante, sin que se acompañe de pérdida de hueso circundante. Los datos indican que los pacientes diagnosticados con mucositis periimplantaria pueden desarrollar periimplantitis, especialmente en ausencia de un programa de mantenimiento periódico. La progresión de la periimplantitis es más rápida en comparación con la periodontitis y se produce con un patrón no lineal y acelerado.

Clasificación de periimplantitis

- Temprana: profundidad de sondaje ≥ 4 mm, con sangrado y/o supuración en ≥ 2 sitios del implante y pérdida ósea $< 25\%$ del largo del implante.
- Moderada: Profundidad al sondaje ≥ 6 mm, con sangrado y/o supuración en ≥ 2 sitios del implante, y pérdida ósea entre 25% - 50% del largo del implante.

- Avanzada: Profundidad al sondaje $\geq 8\text{mm}$, con sangrado y/o supuración en ≥ 2 sitios del implante, y pérdida ósea entre $>50\%$ del largo del implante. (22)



Fig. 4 Progresión de la periimplantitis.

Extracción atraumática de implantes: un nuevo enfoque para el tratamiento de la periimplantitis
por Dr. Eduardo Anitua.

Entre la etiología asociada se encuentran principalmente:

1. Enfermedad Periodontal preexistente: la acumulación de placa dentobacteriana no necesariamente conlleva a la prolongación del proceso inflamatorio, sin embargo en el implante actúa de manera distinta debido a que el infiltrado inflamatorio en mucosa periimplantaria presenta una extensión periapical más marcada. También se ha demostrado que los pacientes con un control de placa deficiente que no acuden a un tratamiento de mantenimiento periódico presentan un riesgo más elevado de desarrollar periimplantitis. (23) Casado *et al.* (2013) realizaron un estudio en el cual incluyeron 215 pacientes con edentulismo parcial y que contaban con implantes osteointegrados, evaluaron el riesgo de desarrollar periimplantitis relacionada a la presencia de periodontitis crónica, obteniendo como resultado que aquellos pacientes con enfermedad periodontal crónica tenían cuatro veces mayor riesgo de desarrollar periimplantitis.

Dentro de los principales microorganismos relacionados a la periimplantitis se encuentran el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromona gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* y *Prevotella intermedia*, si bien estos se encuentran tanto en periodonto sano como en periodontopatías, la presencia que se observa de estos microorganismos es más elevada en la periimplantitis, esto de acuerdo a Ata-Ali *et al.* (2011).

2. Tabaquismo: diversos estudios comparativos entre fumadores y no fumadores, identifican al tabaquismo como un indicador de riesgo para la pérdida ósea marginal. Se ha demostrado

que el tabaquismo a largo plazo tiene efectos deletéreos sobre la respuesta inflamatoria e inmunitaria, así como sobre la cicatrización, con menor producción de colágeno, disfunción de los fibroblastos, reducción de la circulación periférica y función de neutrófilos y macrófagos comprometida. (24) También se sabe que la nicotina daña la síntesis de proteínas y afecta la capacidad de adhesión de los fibroblastos de la encía, lo que conlleva a alteraciones en el mantenimiento y remodelado del tejido conectivo (Baig & Rajan, 2007), si a lo anterior se le suma una mala higiene que favorezca la formación de la placa bacteriana y la entrada de microorganismos a la zona de colocación del implante, aumenta considerablemente el riesgo del desarrollo de periimplantitis. Kasat & Ladda (2012) realizaron una revisión acerca del daño del tabaco en el cual indicaron que la tasa de fracaso de los implantes en fumadores va del 6,5 al 20 %.

3. Enfermedades sistémicas: Se considera que la susceptibilidad aumentada a la enfermedad periodontal se debe a la influencia negativa de la hiperglicemia en los mecanismos inflamatorios e inmunitarios del huésped, lo que da como resultado una respuesta irregular, cicatrización alterada y afecciones en la microvascularidad, como diabetes, estados de inmunosupresión, tratamientos oncológicos etc. los pacientes con enfermedades crónico degenerativas pobremente controladas son considerados pacientes de riesgo de presentar periimplantitis, y esto es debido a que tienen una respuesta inmune así como un proceso de cicatrización pobre (Segura Andrés *et al.*, 2015), esto lo confirma Ferreira *et al.* (2006) al indicar que la periodontitis y la diabetes aumentaban el riesgo de periimplantitis.

El tratamiento de la periimplantitis esta basado en la evidencia disponible del tratamiento de enfermedad periodontal, por lo cual el esquema terapéutico es: control de la infección, terapia no quirúrgica y quirúrgica y terapia de apoyo.

En cuanto al tratamiento quirúrgico debe ser precedido por el tratamiento no quirúrgico, el cual se compone de desbridamiento mecánico y utilización de antisépticos como la clorhexidina al 0,12% con una espera de 3 meses antes de comenzar con el tratamiento quirúrgico, el cual consiste en:

- a) Colgajo mucoperióstico con la eliminación del tejido de granulación.
- b) Tratamiento de la superficie del implante.
- c) Técnicas regenerativas o resectivas.
- d) Antibiótico administrado por vía sistémica (Amoxicilina 500mg y Metronidazol 500mg por 7 días).
- e) Aplicación de clorhexidina al 0,12% hasta retomar la higiene mecánica.
- f) Para finalizar, terapia de Apoyo de 3 a 6 meses.

Para facilitar la oseointegración, la mayoría de los fabricantes de implantes presentan en el mercado superficies moderadamente rugosas para aumentar la superficie de contacto. La rugosidad de la superficie y su composición química, al igual que el diseño de implantes roscados, tienen un impacto significativo en la acumulación de agrupaciones bacterianas(26).

3.6 Tratamiento de las superficies

Actualmente diversas modificaciones superficiales del titanio han demostrado un incremento en la adherencia osteoblástica, lo cual es el principal objetivo de un implante.

Entre las características de la superficie que han sido probadas para modificar la respuesta biológica en torno a los implantes de titanio, tenemos principalmente, la energía libre superficial y la hidrofilia, las cuales son primordiales para la adhesión inicial de los componentes celulares y las proteínas a la superficie, entre otras macromoléculas. La primera se puede optimizar mediante la eliminación de la contaminación por hidrocarburos y carbonatos, mejorando la adsorción de proteínas y componentes de la sangre y la adhesión celular.(33,34) La liberación de iones de metal en la superficie de implantes con diferentes tratamientos mejora la proliferación celular y acelera la actividad de la fosfatasa alcalina. (32)

Como podemos ver, la morfología y la rugosidad superficial, son capaces de influir en la proliferación y la diferenciación celular, en la síntesis de la matriz extracelular e incluso en la morfología celular, además, las modificaciones creadas no sólo facilitan la retención de las células osteogénicas, también les permite migrar a la superficie del implante por un medio osteoconductor. (35) Por lo tanto, las diferentes superficies deben mantener la viabilidad celular y permitir conservar los filamentos celulares de actina sin afectar la toxicidad de las células. (36)

Existe una gran variedad de tratamientos de las superficies, los métodos para alterar la textura de superficie se pueden clasificar como técnicas que añaden partículas en el biomaterial a modo de revestimiento, para crear una superficie que conste de protuberancias capaces de retener partículas y/o células. Podemos clasificar este tipo de revestimientos superficiales de la siguiente manera:

1. Mecanizado. Desarrollado por el equipo de trabajo sueco de Branemark (30), a pesar de que su superficie se consideraba lisa, el proceso de fresado y pulido creaba irregularidades mínimas que le daban cierto carácter de rugosidad.(31) Los implantes se someten a limpieza, descontaminación, pasivación y esterilización, pero la superficie no se modifica teóricamente.

2. Pulverización con plasma. polvos de diferentes sustancias a altas temperaturas las cuales luego se proyectan sobre las superficies para formar recubrimientos de entre 30 y 50 micras. Esta técnica confiere una superficie rugosa con una rugosidad media de 7 μm y aumenta el área de superficie del implante hasta 6 veces.

3. Arenado o chorreado. La superficie del implante se modifica mediante la proyección de partículas duras (de alúmina o de TiO_2) a altas velocidades. La rugosidad depende del tamaño de la partícula, el tiempo, la presión y la distancia a la superficie del implante. Las principales ventajas de esta técnica es que se mejora la adhesión, la proliferación y la diferenciación de los osteoblastos. (37)

4. Grabado ácido. Consiste en aumentar el espesor de la capa de óxido y la rugosidad por inmersión del implante metálico en una solución ácida (HCl o HF), que erosiona la superficie produciendo micro poros con tamaños que van desde 0,5 hasta 2 μm .

5. Arenado con partículas de cerámica y grabado ácido (SLA): En teoría, el chorreado produce una capa de rugosidad óptima, la cual aporta fijación mecánica, mientras que el grabado ácido suaviza las elevaciones creadas y mejora la adhesión de proteínas. (36)

6. Anodización. Es un proceso electroquímico en el que el implante se sumerge en un electrolito, mientras que se aplica una corriente eléctrica, produciendo microporos de diámetro variable y un aumento de la capa de óxido.

7. Recubrimiento con NTi. Los implantes dentales se pueden recubrir con una gran variedad de materiales y / o moléculas en función de la aplicación y los requisitos específicos es posible recubrir superficies de implantes con moléculas inmovilizadas para mejorar la unión celular, la deposición de proteínas y la mineralización.

8. Modificación química. Hay dos grandes tipos de alteraciones químicas: la adición de compuestos inorgánicos y la adición de compuestos orgánicos (como factores de crecimiento). La adición de fases inorgánicas, tales como fosfatos de Calcio, imparte propiedades osteoconductoras. El fosfato de calcio aumenta la velocidad de formación de hueso. (37)

4. ANTECEDENTES

La principal problemática en la sustitución de una prótesis, es la calidad del hueso receptor debido a su alto índice de deterioro, en consecuencia presentando menores tasas de osteointegración. Por ello, es importante desarrollar nuevos materiales y tratamientos superficiales que aumenten la vida útil, mejoren la biocompatibilidad.

En la actualidad la utilización de metales ha incrementado debido a que presentan elevadas propiedades mecánicas y físicas. Entre las principales a considerar en la selección del material, están la resistencia máxima a la rotura, el módulo elástico, el límite de resistencia a la fatiga, las resistencias máxima a la rotura, y a la corrosión (38,39,40). Las prótesis metálicas no solo necesitan disponer de una compatibilidad mecánica con el hueso que sustituyen, que se consigue mediante una combinación de bajo módulo elástico, una alta resistencia a la rotura y una elevada resistencia a la fatiga, sino que también deben de presentar una elevada biocompatibilidad.

A inicios de los años 90, se comenzó el desarrollo de una gran variedad de aleaciones de Ti de tipo β , principalmente por su mayor resistencia a la fatiga y a la corrosión, así como su menor módulo de elasticidad en comparación con las aleaciones $\alpha+\beta$, para reducir la problemática del apantallamiento de tensiones y pérdida de la densidad ósea (41,42,43).

Los biomateriales, entre los que se destacan las aleaciones de titanio, empleados como implantes han evolucionado a través de tres generaciones:

- Primera generación; maquinados para coincidir con las propiedades físicas que sustituyen, con baja toxicidad y siendo biológicamente inertes.
- Segunda generación de implantes fue desarrollada para presentar carácter bioactivo a través de tratamientos superficiales, como la modificación de la rugosidad y del área superficial.
- Tercera generación; la más reciente, intenta promover la respuesta celular a nivel molecular y mejorar el rendimiento del implante a largo plazo. Se centra en nuevos tratamientos superficiales con morfología a escala nanométrica, así como en el estudio de aleaciones de titanio con menor módulo elástico.

A partir del surgimiento de la tercera generación, uno de los materiales utilizados actualmente es el quitosano; polímero natural biodegradable y no tóxico que optimiza los resultados de la cicatrización de las heridas y la formación de hueso, propiedades que lo hacen ideal para el tratamiento de superficies implantarias.

Su utilización ha sido investigada como material de sustitución ósea y como material de membrana en Ortopedia y en Periodoncia, con la introducción de la nanotecnología la membrana de Quitosano ha confirmado su biocompatibilidad pues incrementa la regeneración ósea y no se observan reacciones inflamatorias adversas, los polímeros de nanofibra muestran un selectivo incremento en la adhesión de los osteoblastos si los comparamos con polímeros de microfibra (44-46).

Este polímero puede aumentar la formación ósea *in vitro* e *in vivo* y además de esto ha revelado capacidad para regular la liberación de agentes bioactivos, como factores de crecimiento ya mencionados antibióticos y antiinflamatorios también se adapta fácilmente a materiales inorgánicos como el fosfato tricálcico y la hidroxiapatita, gracias a su variedad de presentaciones como gel polvo o solución sus aplicaciones clínicas son muy amplias (47-49).

Son numerosos los estudios desarrollados en relación con la aplicación de este biomaterial en cirugía ósea reconstructiva ortopédica y cráneo facial buscando siempre la menor invasión de los tejidos y la facilidad para transportar el material sin presentar efectos adversos. Como se ha expresado este biomaterial puede usarse en variadas formas y también puede servir de carrier a otros materiales en cirugía ósea reconstructiva tanto en Medicina como en Odontología.

Seung-Yu Shin en 2005 en un experimento realizado en humanos demostró que las membranas de Quitosano con tecnología de nanofibra podían incrementar la regeneración ósea sin presentar ningún signo de reacción inflamatoria lo que abre una puerta para utilizar este material en regeneración ósea guiada(44).

Eun-Kyoung Pang 2005 concluye que al aplicar Quitosano al 0.1% en una esponja de colágeno se incrementa la síntesis de colágeno tipo I y se facilita la diferenciación de células osteogénicas en estas condiciones existe un significativo potencial para acelerar la regeneración ósea de calota craneana en ratas con defectos óseos extensos Por su parte, la radiación UV en el campo de la investigación, ha demostrado que sus propiedades siguen siendo valiosas para el tratamiento de las superficies implantarias, ya que la descarga de la irradiación de luz ultravioleta (UV) logra esterilizar la superficie de estos, fomentando de esta manera la osteointegración adecuada. La esterilización por luz UV produce una capa de óxido más delgada y eficiente que la esterilización por vapor, en consecuencia se induce a una fotocatalisis, reduciendo las concentraciones de carbono e

incrementando la cantidad de oxígeno sobre las superficies. La energía superficial e hidrofiliidad de las superficies de los implantes son de vital importancia en la interacción inicial entre las proteínas y células óseas (49).

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La salud bucodental es un indicador clave de la salud, el bienestar y la calidad de vida en general. Según estimaciones publicadas en el estudio sobre la carga mundial de morbilidad 2016, las enfermedades bucodentales afectan a la mitad de la población mundial (3580 millones de personas) y la caries dental en dientes permanentes es el trastorno más prevalente de todos los considerados en ese mismo estudio, seguido a su vez, por enfermedad periodontal (51). Es por esto que la odontología actual constantemente ha avanzado en la formación de nuevos conocimientos para responder a el número de ausencias dentales que se ha incrementando, haciendo del uso del implante dental, la mejor alternativa ante la pérdida de un diente.

Actualmente, la utilización del Ti como material idóneo en el área de implatología ha tenido un gran auge en la odontología, tanto por sus especificaciones biologicamente compatibles, como en su maleabilidad para tratar su superficie (33,34). Sin embargo, a pesar de esto y de los avances en el tratamiento de dicho material, la falta de osteointegración y el rechazo del material en el organismo, provocan un continuo fracaso en el tratamiento odontológico. Es por ello que continuamente se reinventa el tratamiento de las superficie de los implantes dentales, para obtener un tratamiento idóneo que mejore la osteointegración y proliferación de células osteoblasticas en el implante.

Por lo tanto, es posible formular la siguiente pregunta con respecto al presente trabajo:

¿Qué cantidad de células osteoblásticas se adhieren a placas de Ti tratadas previamente con quitosano e irradiación-UV en comparación a las placas con recubrimiento de NTi?

6. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la odontología se encuentra en constantes cambios a nivel tanto clínico como experimental, y el incremento en la utilización de implantes dentales no es la excepción, ya que representa una de las alternativas más recomendadas para tratar las ausencias dentales.

La implantología dental, es una rama antigua, que ha tenido gran auge tanto estética como funcionalmente. Se sabe que, la morfología y la rugosidad superficial de estos dispositivos, son capaces de influir en la proliferación y la diferenciación celular, en la síntesis de la matriz extracelular e incluso en la morfología celular, además, de que las modificaciones creadas no sólo facilitan la retención de las células osteogénicas, también les permite migrar a la superficie del implante por un medio osteoconductor, lo que resulta ser favorecedor para el incremento en la osteointegración y así evitar el fracaso en el tratamiento, el cual según Schmidlin et al. (2012) determinó que entre el 56 y 79 % de los implantes, podían presentar algún proceso infeccioso posterior a 5 y 10 años respectivamente de la colocación del implante. Cavalli et al. (2015) por su parte, encontraron que la periimplantitis se presentaba con una prevalencia menor al 4.5 % atribuida al paciente y menor al 3.5 % atribuida al implante.

Realizando modificaciones en su superficie con exposición de rayos UV se sabe que la adhesión y la proliferación de los osteoblastos aumenta considerablemente, por su parte el quitosano resulta ser un material bactericida/bacteriostático, totalmente biocompatible, el cual es capaz de reducir así el nivel de contaminación, y favorecer la regeneración ósea.

Todo esto con el único objetivo de favorecer tanto al clínico como al paciente, puesto que el principal objetivo de la colocación de un implante dental, es la recuperación de la función y la estructura anatómica, minimizando el riesgo de pérdida implantaria, en consecuencia, esto indica que al tratar una superficie representa un incremento deseado para lograr un éxito en tratamientos odontológicos con implantes dentales.

7. HIPÓTESIS

La superficie de una placa de titanio nitrurizado expuestas a irradiación-UV tienen una mayor adhesión osteoblástica y diferenciación osteogénica, ya que este recubrimiento permite una mayor concentración de estas células.

HIPÓTESIS NULA

No existe diferencia en la adhesión y diferenciación de osteoblastos respecto a las superficies.

8. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comparar la adhesión inicial y diferenciación osteogénica de osteoblastos humanos en placas de Ti y NTi exponiéndolas a irradiación-UV y quitosano para reconocer la superficie más viable para su proliferación y diferenciación celular.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Observar la topografía de las placas de Ti y NTi en Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)
2. Estimar el número de osteoblastos adheridos de forma inicial sobre los diferentes tratamientos de superficies con ensayos de viabilidad celular por MTT
3. Conocer el tratamiento de superficie con mayor efectividad para inducir diferenciación de linaje osteogénico por tinción de rojo de alizarina y observación en esteromicroscopía de campo claro y fluorescencia.

9. METODOLOGÍA

Diseño de la Investigación

- Tipo de estudio: Experimental, comparativo y prospectivo.
- Muestra: No probabilístico por cuotas que correspondió a un total de 6 placas, 3 de titanio y 3 titanio nitrurizado con dimensiones de 10x10x0.5mm, divididas en 3 grupos (n=2), Ti y NTi. Las placas fueron tratadas con quitosano, irradiación UV y grupo control. Se utilizaron células osteoblásticas humanas, previamente determinadas por hematocitómetro (2×10^6 células/ml) e inoculadas sobre las placas de titanio. En cada experimento se realizó el procedimiento de diferenciación osteogénica para los tres grupos, por cuatro semanas y se realizó su observación por método de microscopía de barrido. Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LII), área de nanoestructuras y biomateriales de la Escuela Nacional de Estudios Superiores UNAM León.
- Criterios de inclusión:
 1. Cultivo de células osteoblásticas humanas sin presencia de focos infecciosos.
 2. Placas de Ti y NTi previamente pulidas y esterilizadas.
- Criterios de Eliminación:
 1. Células Osteoblásticas: células con la presencia de contaminación, inoculación de las células sobre la placa de Ti o NTi que se extendieran más allá de la superficie de la placa.
 2. Placas de Ti o NTi: placas no estériles o placas no pulidas previamente.

- Análisis de variables

Variables Independientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Tipo de tratamiento	Biopolímero caracterizado por ser biodegradable, biocompatible, mucoadherible con capacidad filmogénica, hemostático, promotor de absorción, posee actividad antimicrobiana, antimicrobiana, anticolestterolémica y antioxidante, no tóxico.	Se realizarón dos soluciones de quitosano, una al 0.5% y otra al 1% para determinar a que concentración es menos fluída la solución.	Cuantitativa continua	Quitosano Irradiación UV Control
Tipo de metal	El titanio es un elemento químico de símbolo Ti y número atómico 22 que se sitúa en el grupo 4 de la tabla periódica de los elementos. Es un metal de transición de color gris, baja densidad y gran dureza. Resistente a la corrosión por agua del mar, agua regia y cloro.	Se tomarón 6 placas en total, 3 de titanio y 3 titanio nitrurizado, divididas en 3 grupos (n=2), compuesto por una placa de titanio y una de titanio nitrurizado, y con dimensiones de 10x10x0.5mm y 20x20x0.5mm	Cuantitativa continua	Titanio Titanio Nitrurizado

Variables Dependientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Cuantificación de osteoblastos adheridos	Número de células osteoblásticas al unirse a elementos del medio externo o a otras células, cuantificadas por medio de la actividad mitocondrial celular.	Se utilizó el método colorímetro MTT, por medio de la actividad mitocondrial cuantificada en el lector de microplaca por absorbancia en nanómetros.	Cuantitativa continua.	De razones 0--- 2x10 ⁶ células/ml.
Diferenciación celular	Proceso durante el cual las células jóvenes, inmaduras (no especializadas) adoptan las características individuales y alcanzan su forma y función maduras (especializadas).	En cada experimento se realizó el procedimiento de diferenciación osteogénica para los tres grupos, por cuatro semanas y se realizó su observación por método de microscopía de barrido.	Cuantitativa.	Nominal. Diferenciación positiva o negativa.

Materiales y Métodos

- Preparación de las Placas

Se utilizaron 3 placas de Ti comercialmente puro (99.5%) y 3 placas de titanio nitrurizado, se les realizó un pulido manual con lijas de agua, #400, 800, 1000 y 1500 (Fuji Star, Sankyo, Rikagaku, Okegawa, Japón) y suspensión de diamante de 0.05-1 (MetaDi, Buehler, Lake Bluff, IL, EU), aplicada sobre fieltro (Chemomet, Buehler, Lake Bluff, IL, EU). Posteriormente, las placas fueron colocadas en ultrasonido con agua bidestilada, etanol al 99.5% y acetona al 99.5% durante 10 minutos y secadas por la corriente de aire. Todas las placas fueron sometidas al mismo procedimiento por cada experimento. La nitruración fue realizada previamente en 3 de las placas de Ti por deposición catódica de vapor en una atmósfera de N₂ a 850°C durante 7 horas, la nitruración fue lograda al momento de que el titanio ionizado se mezcló con átomos de nitrógeno ionizado en la superficie de las placas de Ti, el procedimiento fue realizado en la empresa YDM (Yamaura corporation, Tokyo, Japón). Las placas de NTi presentan una coloración dorada con un grosor de capa de 1.5 µm.

- Preparación del Quitosano al 2%

Se realizó la preparación de quitosano al 2% mediante la utilización de quitosano de cáscara de camarón (<75% de desacetilación, Sigma Aldrich, Toluca, Edo. De México) 0.2 g previamente pesado en la balanza analítica de precisión SGC-LII (Denver Instrument), y fue colocado en vaso de precipitados de 50 mL. Posteriormente se añadieron 10 ml de ácido acético al 0.5%, dejando la mezcla en parrilla de calentamiento y agitación (CIMAREC, Barnsted/Thermolyne) a temperatura ambiente durante 24 h, hasta lograr la homogeneidad y viscosidad de la mezcla. Al finalizar el margen de tiempo, se determinó el pH de la solución estableciéndolo en 4.

- Esterilización e irradiación con rayos UV

Al término de la separación de las placas (Ti y NTi) su división se realizó en los tres grupos presentes., grupo control, grupo UV y grupo Quitosano.

Para el grupo UV, a las placas se les expuso a radiación ultravioleta en una cámara luz, durante un período de 20 min a una distancia de 5 cm aproximadamente entre el foco de radiación UV y las placas.

En cambio para las placas del grupo quitosano, el procedimiento se realizó colocando las mismas placas dentro de solución de quitosano por 15 min, posteriormente se retiraron y dejaron secar a temperatura ambiente.

Finalmente, para el grupo control no hubo tratamiento alguno a las placas en su superficie.

- Cultivo celular

Se realizó un cultivo primario de células óseas (osteoblastos) de biopsias frescas de tejido óseo obtenido durante cirugías de terceros molares. El protocolo fue avalado por el comité de bioética de la ENES, Unidad León de la UNAM con registro CE_16/004_SN. Se utilizaron terceros molares permanentes retenidos o erupcionados indicados para odontectomía en las clínicas de la ENES Unidad León de pacientes de 16-25 años de edad, libres de patología pulpar y periapical. El tejido óseo fue aislado dentro de la campana de flujo laminar horizontal y se realizarán explantes de 1x1 mm e incubaron con medio α -MEM adicionado con el 20% de suero fetal bovino, glutamina y antibiótico (Gibco) en platos de 10 cm de diámetro e incubadas a 37°C con 5% de CO₂ y 95% de humedad durante 21 días. Cuando las células mostraron una morfología fibroblastoide y una confluencia del 80% (3 semanas) se realizaron subcultivos para ejecutar los experimento.

- Adherencia celular

Las placas fueron divididas en tres grupos, cada uno formado por una placa de Ti y otra de NTi. Las células fueron inoculadas a 2×10^6 células/ml en cada una de las placas, después por 60 minutos de incubación a temperatura ambiente. Pasado el período de adherencia, se retiró el medio de cultivo y se lavó con PBS (+) tres veces para remover las células no adheridas. La viabilidad celular fue determinada por el método de MTT que se dejó en contacto durante 7 horas a 37°C. El formazán fue disuelto con dimetilsulfoxido (DMSO, karal, León, México) El mismo procedimiento se realizó cada tercer día hasta lograr la mayor proliferación celular posible.

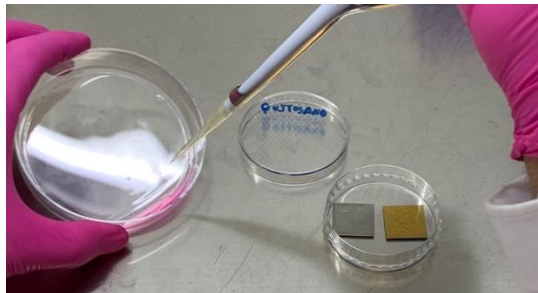


Fig. 5 Proceso de adhesión osteobástica en placas de Ti y Nti.
Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LII) ENES León.

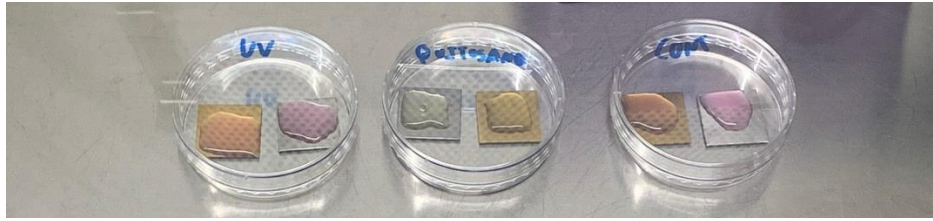


Fig. 6 Placas de Ti y Nti en grupos respectivos.
Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LII) ENES León.

- Diferenciación Osteogénica

Después de las cuatro semanas de proliferación celular se inicia la diferenciación osteogénica para cada posillo de la siguiente manera:

- Retirar el medio de cultivo.
- Lavado con PBS (dos veces).
- Agregar medio de diferenciación osteogénica (SFB 10%, penicilina y estreptomicina (1%), dexametasona (0.1mM), B-Glicerofosfato (10mM), ascorbato-2 fosfato (50mg/ml).
- Reemplazar el medio cada segundo día durante cuatro semanas hasta que se encuentren cristales birrefringentes al microscopio.
- Interrumpir la diferenciación con una tinción de roja de Alizarina (40mM) en NaH_2PO_4 (0.1M) y un pH de 4.3.
- Lavar las células con PBS, dos veces.
- Fijación con etanol al 70% (v/v) por 30 minutos a temperatura ambiente.
- Lavar las células con PBS, dos veces.
- Agregar 0.25ml de rojo de Alizarina por 10 minutos a temperatura ambiente.
- Lavar dos veces con PBS y finalmente 5 veces con agua bidestilada.



Fig. 7 Células Osteoblásticas .

Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LII) ENES León.



Fig. 8 Proceso de elaboración de tinción de rojo de Alizarina.

Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LII) ENES León.

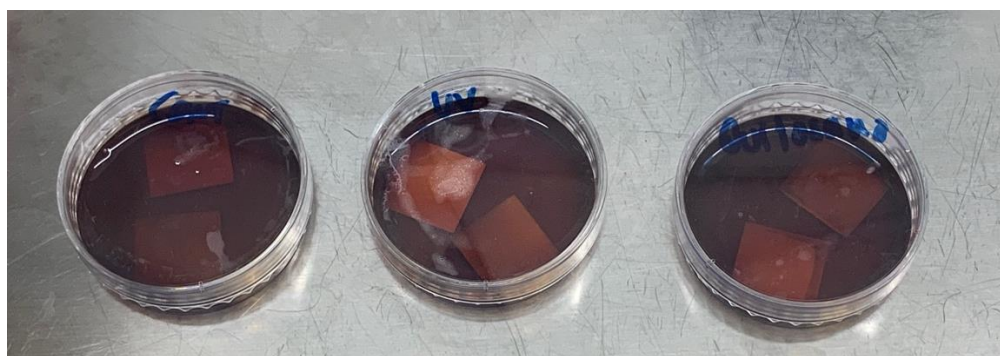


Fig. 9 Interrupción de la diferenciación con una tinción de rojo de Alizarina .

Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LII) ENES León.

10. RESULTADOS

- OBSERVACIÓN Y MEDICIÓN DE LA SUPERFICIE

Todas las placas de Ti-tipo 1 fueron analizadas en AFM, mostrando la topografía superficial siguiente:

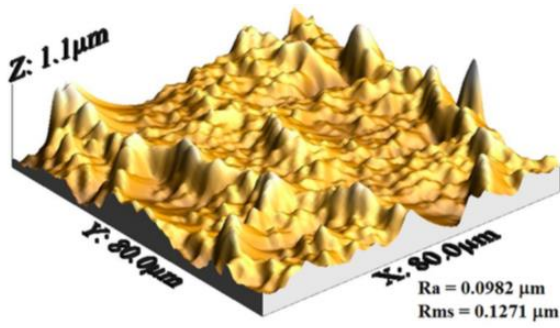


Fig. 10 Placa de NTi (Ra=0.098 μm, Rms= 0.1271) analizada con AFM.

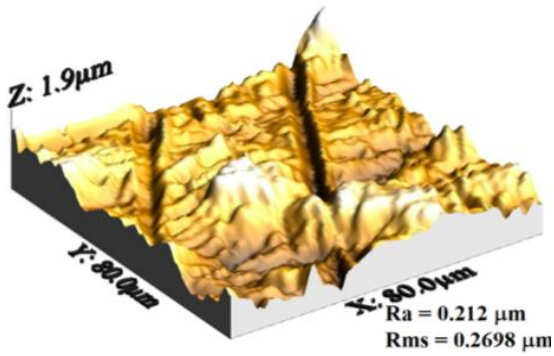


Fig. 11 Placa de Ti (Ra= 0.212 μm, Rms= 0.2698) analizada con AFM.

- CUANTIFICACIÓN DE ADHESIÓN CELULAR Y DIFERENCIACIÓN OSTEOGÉNICA

Las placas de Ti-tipo 1 con Quitosano al 2%, mostraron tener un mayor incremento de la adhesión celular de osteoblastos humanos en comparación con la utilización única de Ti, por su parte en comparación con el NTi sin tratamiento de su superficie, el incremento es significativo.

Cuantificación de adhesión Celular (Procesamiento de método MTT)	
1. Ti + Quitosano	123 ± 4.9 % (p < 0.05)
2. Ti	100 ± 10.7 %
3. NTi	72 ± 6.8 %
4. NTi + UV	71 ± 4.4 %
5. Ti + UV	69 ± 3.5 %
6. NTi + Quitosano	47 ± 3.3 %

Tabla 1. Resultados de cuantificación de adhesión celular.

Cuantificación de adhesión celular

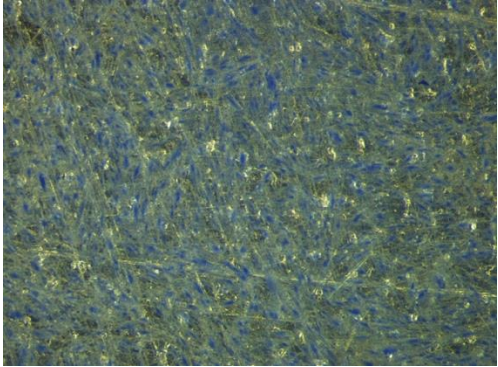
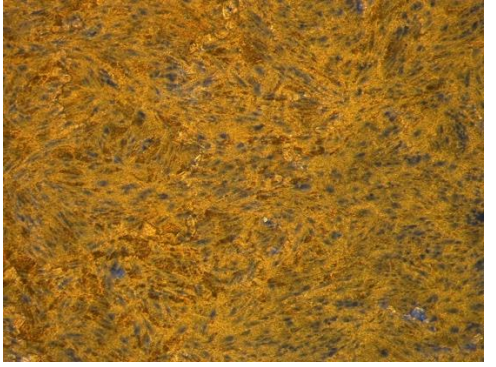
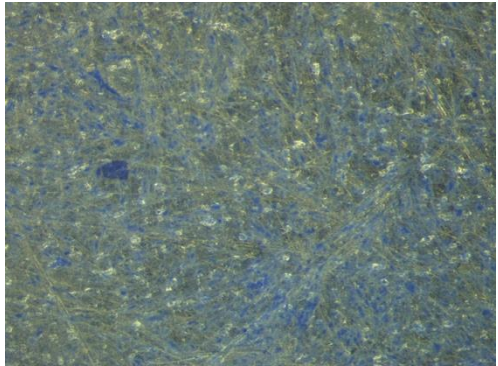
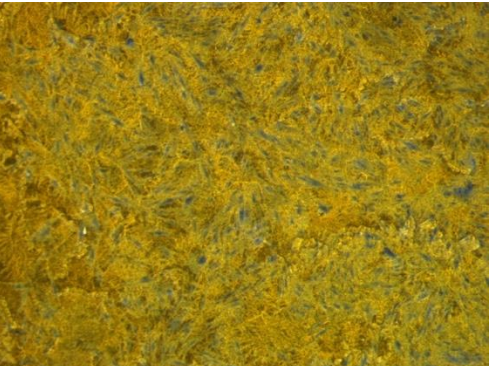
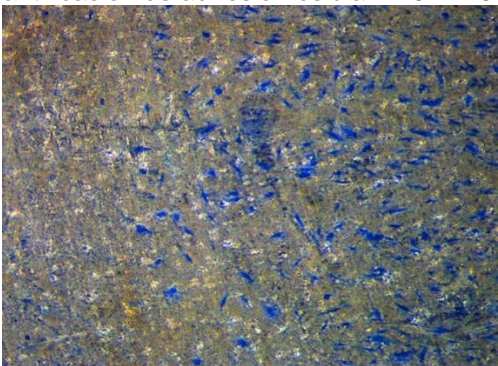
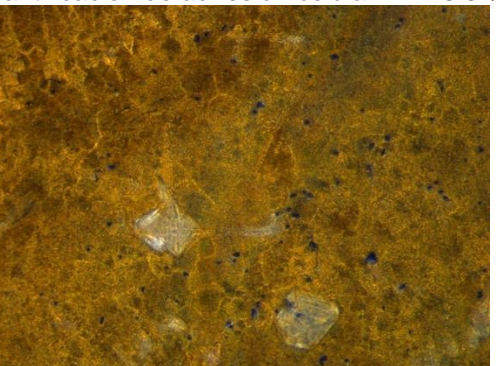
Muestra	Ti	Nti
Control	Cuantificación de adhesión celular 100 ± 10.7 %. 	Cuantificación de adhesión celular 72 ± 6.8 %. 
UV	Cuantificación de adhesión celular 69 ± 3.5 %. 	Cuantificación de adhesión celular 71 ± 4.4 %. 
Quitosano	Cuantificación de adhesión celular 123 ± 4.9 %. 	Cuantificación de adhesión celular 47 ± 3.3 %. 

Tabla 2: Fuente directa, imágenes de MEB de la superficie de las placas de Ti y Nti, tinción Alician blue.

Se realizó tinción Alcian Blue para confirmar la adhesión inicial. Se puede observar en las imágenes los depósitos de células osteoblásticas teñidos de color azul, que demuestran la cantidad de adhesión osteoblástica en cada una de las placas.

Diferenciación Osteogénica

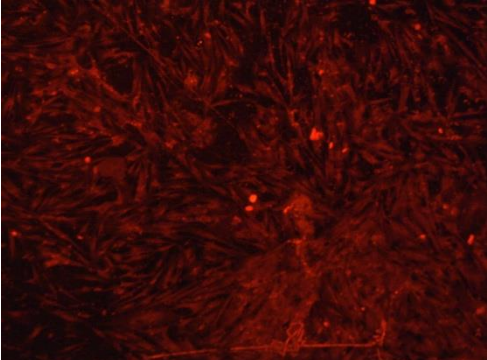
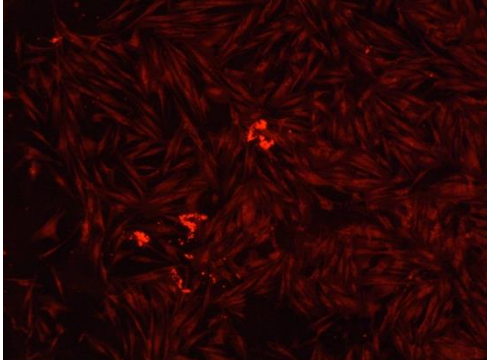
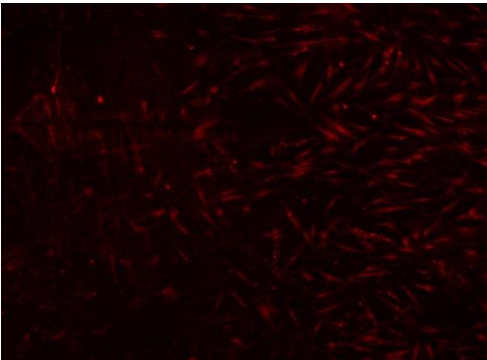
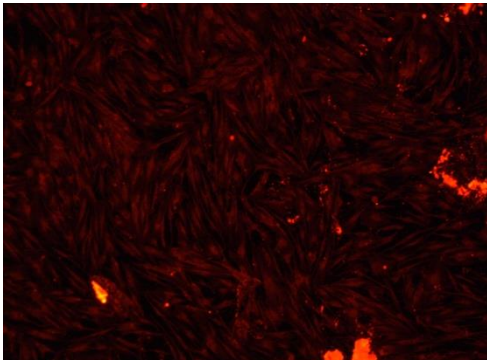
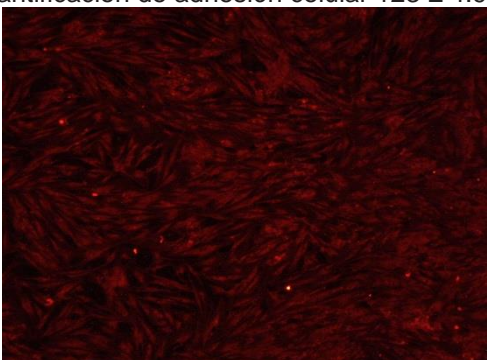
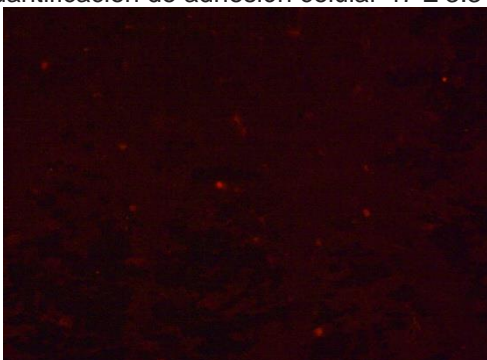
Muestra	Ti	Nti
Control	Cuantificación de adhesión celular 100 ± 10.7 %. 	Cuantificación de adhesión celular 72 ± 6.8 %. 
UV	Cuantificación de adhesión celular 69 ± 3.5 %. 	Cuantificación de adhesión celular 71 ± 4.4 %. 
Quitosano	Cuantificación de adhesión celular 123 ± 4.9 %. 	Cuantificación de adhesión celular 47 ± 3.3 %. 

Tabla 3: Fuente directa, imágenes de MEB de la superficie de las placas de Ti y Nti, tinción de Alizarina.

Los marcadores positivos de diferenciación (Cristales mineralizantes) osteogénica correspondieron en orden a la adhesión inicial de osteoblastos.

11. DISCUSIÓN

Como primer punto tenemos, que el trauma ocasionado por la introducción de un implante dental expone la superficie del mismo a los fluidos corporales y todos los componentes que están presentes en el lecho quirúrgico. Estas moléculas interactúan rápidamente con la superficie, la condicionan y modifican la adhesión celular, formando un coágulo y estabilizando el hematoma, a partir de lo cual se promueve la migración de células osteoprogenitoras a la zona traumatizada (57). Entonces la adhesión celular se producira sobre una capa de proteínas adsorbidas en la superficie. Por lo tanto la naturaleza, conformación y orientación de estas proteínas estará condicionada por la composición química de la superficie (58) ya que ésta modifica una serie de propiedades fisicoquímicas de trascendencia para la interacción con las proteínas.

Con respecto a los valores cuantitativos de la rugosidad y del tipo de la misma, Boyan y Schwartz (59) detallan que para que la célula responda a la microrugosidad es necesario que ésta perciba los detalles de la rugosidad y, por lo tanto, las dimensiones deben ser del orden de las células (60).

De acuerdo con ellos, los osteoblastos identifican una superficie como rugosa cuando la altura de los picos es mayor de 2 μm , y la altura de los picos y/o las distancias entre los picos no excede la longitud de la célula, aproximadamente 10 μm (61). Estas células pueden ser también sensibles a la topografía en el orden nanométrico, pero los parámetros que intervienen están, en la actualidad, todavía por determinar (62).

En el caso de formación de hueso nuevo sobre los biomateriales, se sabe que también depende de las estructuras superficiales, las cuales se van a encargar de promover la proliferación celular y la producción de matriz extracelular. Y para que esto ocurra de manera exitosa, se debe llevar a cabo una adecuada adhesión celular, dando como resultado un implante exitoso (63).

En conjunto estos factores pueden tener una influencia significativa en la adhesión de los osteoblastos, un primer paso crítico en la respuesta celular porque determina qué células y cuántas poblarán la superficie, para después producir y mineralizar su matriz extracelular (64).

A partir de la adhesión celular se produce la proliferación, lo que indica que el número inicial de células disponibles condiciona el resto del proceso de regeneración del tejido óseo. Para una misma capacidad de proliferación, el número total de células que se dispondrán en cada momento para

producir hueso será mayor cuanto mayor sea el número inicial de células adheridas, indicando una mayor capacidad de regeneración. Adicionalmente, las células por sí mismas también tendrán un papel importante ya que, inmediatamente, modifican las superficies a las que se adhieren a través de la producción de matriz extracelular, factores de crecimiento y otros mediadores (65, 66).

Tras la adhesión de los osteoblastos sobre el sustrato, estos comienzan una fase de proliferación y diferenciación, que lleva a la formación de la matriz extracelular y finalmente a la mineralización de la misma. La adhesión de las células al sustrato se efectúa por medio de la unión de las integrinas (68, 69).

En este sentido, se ha demostrado que cuando los osteoblastos se cultivan sobre titanio rugoso, los contactos focales se localizan en la periferia de la célula, lo cual afecta a la morfología que el osteoblasto adopta y, como consecuencia, se mejora la organización del citoesqueleto, si se compara con las células cultivadas sobre superficies lisas de poliestireno (71). Esta mejora se basa en que el citoesqueleto se extiende desde la periferia hacia la matriz nuclear, lo cual indica que la morfología del osteoblasto puede afectar a la expresión génica que regula la expresión fenotípica de los osteoblastos (72,73,74).

Las propiedades de la luz UV han sido analizadas a través de diversos estudios, los cuales se han enfocado principalmente en sus efectos antibacteriales y de esterilización como lo fueron reportados por Xu y cols. y Koseki y cols. Recientemente, Ueno y cols., Susuki y cols. e Iwasa y cols. demostraron que la irradiación UV para el tratamiento de placas e implantes de titanio han incrementado la aposición ósea en estudios en animales. (55)

En el estudio de Yong-Moo Lee de 2000 se describe la aplicación exitosa de una esponja de Quitosano para aplicar y transportar factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF-BB), se produce un efecto osteogénico en la regeneración ósea in vivo (7). Un estudio en animales realizado por el mismo autor también en 2000 se analiza los efectos de la aplicación de Quitosano en una esponja de fosfato tricálcico se concluye que podría ser un promisorio material pues permitiría la regeneración ósea al facilitar el desarrollo de los osteoblastos en una estructura tridimensional (16).

Ishihara M en 2001 encontró que un hidrogel de Quitosano era capaz de acelerar el proceso cicatrizal y de contracción de las heridas.

A pesar de tener una amplia bibliografía sobre el tratamiento de las superficies del Ti, e incluso del tratamiento de este mismo con radiación UV, aún se carece de literatura a cerca del recubrimiento con Nitruro de Ti, así como la combinación de este mismo con quitosano, por ser una combinación poco convencional, se puede obtener una recopilación adecuada pero sesgada dada las circunstancias de ausencia literaria.

Con base al presente estudio nuestra hipótesis es rechazada, esto fundamentado en los resultados arrojados previamente descritos.

12. CONCLUSIONES

La placa de Ti- tipo 1 junto con el uso de quitosano como recubrimiento de superficie, resultó tener una mayor adhesión celular en comparación de la placa de NTi tratada con irradiación UV.

Los resultados topográficos de la investigación arrojaron que la mayor adhesión osteoblástica presente fue en la placa de Ti con respecto a la de NTi, puesto que obtuvo un pico de altura de 0.212 μm .

La estimación del número de osteoblastos adheridos fue:

Ti + Quitosano $123 \pm 4.9 \%$ ($p < 0.05$)

Ti $100 \pm 10.7 \%$

NTi $72 \pm 6.8 \%$

NTi + UV $71 \pm 4.4 \%$

Ti + UV $69 \pm 3.5 \%$

NTi + Quitosano $47 \pm 3.3 \%$.

Con esto podemos concluir que los patrones de diferenciación osteogénica son mejores en la placa de Ti + quitosano con respecto a las otras placas.

13. RELEVANCIA CLINICA

En un aspecto clínico resulta benéfico para el tratamiento de implantología, puesto que al tener una mayor adhesión celular las probabilidades de una osteointegración adecuada incrementan, proporcionando un pronóstico favorable a la vida del implante dental, y junto con las propiedades del quitosano, como la regeneración ósea y el control de la hemostasia, lograr la disminución del trauma ocasionado por la manipulación quirúrgica.

13. REFERENCIAS

1. Larz-Spångberg SW. To implant, or not implant: that is the question. *Oral surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101: 695-96.
2. Brånemark, PI. *Tissue Integrated Prostheses.* Berlin: Quintessence Publishing Co Inc, 1985:11.
3. Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Higginbottom FI, Cochran DL, Biologic width around titanium implants. A physiologically formed and stable dimension over time. *Clin Oral Implants Res* 2000;11:1-11
4. H. Hirano, Y. Seino, Akiyama, Y. Nonaka, Chitosan: a biocompatible material for oral and intravenous administration, in: C.G Gebelein and R.L. Dunn (Eds.), *Progress in Biomedical Polymers.*
5. Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD and Boyan BD. The role of implant surface characteristics in the healing of boe. *Crit Rev Oral Biol Eud.* 1996; 3: 329-45.
6. Zhu Y and Watari F. Surface carbonization of titanium for abrasión-resistant implant materials. *Dent Mater J.* 2007; 26: 245-53.
7. Puleo DA and Thomas MV. *Implant Surfaces.* Dent Clin N Am.2006;50: 323-38.
8. Aparicio C. *Tratamientos de superficie sobre titanio comercialmente puro para la mejora de la osteointegración de los implantes dentales.* Universidad Politécnica de Catalunya; 2005. Tesis
9. Tengvall P and Lundstrom I. Physico-chemical considerations or titanium as a biomaterial. *Clin Mater.* 1992; 9: 115-34.
10. Lahann J, Mitragotri S, Tran TN, Kaido H, Sundaram J, Choi IS, et al. A reversibly switching surface. *Science.* 2003; 299: 371-4
11. Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD and Boyan BD. The role of implant surface characteristics in the healing of boe. *Crit Rev Oral Biol Eud.* 1996; 3: 329-45.
12. E. Agullo, R. Mato, C. Peniche, C. Tapia, A. Heras, J. San Roman, W. Arquelles, L. Goycoolea, A. Mayorga, J. Nakamatsu, A.P. de Abram, Quitina y Chitosano: obtención, caracterización y aplicaciones. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú. 2004. Plenum Press, New york. 1990.
13. Zhu Y and Watari F. Surface carbonization of titanium for abrasión-resistant implant materials. *Dent Mater J.* 2007; 26: 245-53.
14. Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD and Boyan BD. The role of implant surface characteristics in the healing of boe. *Crit Rev Oral Biol Eud.* 1996; 3: 329-45.
15. Bechelli Alberto H. Diagnóstico y Planeamiento en Prótesis Oseointegrada. *Revista de la Asociación Odontológica Argentina.* 79; may.-jun., 1991.

16. el Río J. y cols. Planificación en implanto-prótesis. Revista internacional de Prótesis Estomatológica. 5(4):2003.
17. Thomas MV. Implantology. Dent Clin N Am. 2006;50 6-8.
18. Sullivan RM. Implant dentistry and the concept of osseointegration: a historical perspective. J Calif Dent Assoc. 2001; 29(11):737-45.
19. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Int J Oral Surg. 1981;10(6):387-416.
20. ransson C, Tomasi C, Pikner SS, Grondahl K, Wennstrom JL, Leyland AH, et al. Severity and pattern of peri-implantitis-associated bone loss. J Clin Periodontol. 2010 ; 37 (5): 442-8.
21. Joos U, Wiesmann HP, Szuwart T, Meyer U. Mineralization at the interface of implants. Int. J. Oral Maxillofac. Surg. 2006; 35: 783-790.
22. Mombell A, van Osten MA, Schurch E, Land NP,.The microbiota associated with successful osseointegrated titanium implants. Oral Microbiol Immunol, 1987;2:145-51
23. Froum SJ, Rosen PS. A proposed classification for peri-implantitis. Int J Periodontics Restorative Dent. 2012;32: 533-40.
24. Lindhe J, Meyle J. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. J Clin Periodont 2008; 282-5.
25. Palmer RM, Wilson RF, Hasan AS, Scott DA. Mechanisms of action of environmental factors-tobacco smoking. J Clin Periodontol. 2005;32 Suppl 6:180-95.
26. Sanz M, Newman MG y cols. Characterization of the sub- gingival microbial flora around endosteal sapphire dental implants in partially edentulous patients. Int J Oral Maxillofac Implants 1990; 5: 31-8.
27. Teughels W. Assche N Van, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. Clin Oral Imp Res. 2006; (suppl 6):68-81
28. Parr G, Gardner F, Thot L. Titanium: mystery metal of implant dentistry. Dental materials aspects. J Prosthet Dent. 1985;54:120-138.
29. Brånemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. Tissue-Integrated Prostheses: Osseointegration in Clinical Dentistry. Chicago: Quintessence, 1985. Pp 88- 98.
30. Kawahara H. Implantology and biomaterials in stomatology: proceedings of 1980 IIBS and The 9th JSID Meeting. Tokyo: edited by H. Kawahara, Japan Society for Biomaterials; 1980.
31. Kasemo B, Lausmaa J. Selección del metal y características de la superficie. En: Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. Prótesis tejido-integradas. La oseointegración en la odontología clínica. Barcelona: Quintessence. 1999. 99-116.
32. Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Acta Orthop Scand 1981; 52: 155-70.
33. Ku CH, Pioletti D., Browne M. y Gregson P. Effect of different Ti-6Al-4V surface treatments on osteoblasts behaviour. Biomat 2002;23:1447-54.

34. Mamalis A., Markopoulou C., Vrotsos I. y Koutsilirieris M. Chemical modification of an implant surface increases osteogenesis and simultaneously reduces osteoclastogenesis: an in vitro study. *Clin. Oral Impl. Res.* 2011;22:619-26.
35. Mamalis A. y Silvestros S. Analysis of osteoblastic gene expression in the early human mesenchymal cell response to a chemically modified implant surface: an in vitro study. *Clin. Oral Impl. Res.* 2011;22:530-37.
36. Rosa M., Albrektsson T., Francischone CE, Schwartz y Wennerberg A. The influence of surface treatment on the implant roughness pattern. *J Appl Oral Sci.* 2012;550-55.
37. Schmidlin P., Muller P., Attin T., Wieland M., Hofer D. y Guggenheim B. Polyspecies biofilm formation on implant surfaces with different surface characteristics. *J Appl Oral Sci* 2013;21(1):48-55.
38. Okazaki, Y., Gotoh, E (2005). Comparison of metal release from various metallic, *Biomaterials* in vitro. *Biomaterials* 26 (1); 11-21.
39. Niinomi, M. (2008). Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater* 1 (1), 30-42.
40. Kuroda, D., Niinomi, M., Morinaga, M. Kato, Y. Yashiro, T. (1998) Design and mechanical properties of new Beta type titanium alloys for implant materials. *Mat. Sci. Eng.* 243 (1-2), 244-249.
41. Cremasco, A., Osório, W.R., Freire, C.M., García, A., Caram, R (2008). Electrochemical corrosion behavior of a Ti-35Nb alloy for medical prostheses. *Electrochim.* 53 (14), 4867-4874.
42. Park, I., Bae, T (2014). The bioactivity of enhances Ti 32Nb-5Zr alloy with anodic oxidation and cyclic calcification. 15 (8); 1595-1600.
43. Seung -Yun Shin , Ho-Nam Park, Chong-Pyoung Chung et al."Biological evaluation of chitosan nanofiber membrane for guided bone regeneration" , *J Periodontol* 2005;76 :1778-1784
44. Kostopoulos L, Lioubavina N, Karring T, Uraguchi R." Role of chitin beads in the formation of jaw bone by guided tissue regeneration .An experiment in the rat". *Clin. Oral Implant. Res.* 2001; 12: 325-331.
45. Ishihara M, Ono K, Sato M, Nakanishi K, Saito Y, Yura H, Matsui T, hattori H, Fujita M, Kikuchi M, Kurita A." Acceleration of wound contraction and healing with photocrosslinkable chitosan hydrogel". *Wound repair and regeneration* 2001;. 6:513-521
46. Vander Lel B, Wildeneur CR, " Improved healing of microvascular PTFE prostheses by induction of a clot layer : An experimental study in rats ".*Plast Reconst Surg.* 1989; 84: 960-968.
47. Berscht PC, Nies B, Liebendorfer A, Kreuter J. " Incorporation of basic fibroblast growth factor into methylpyrrolidone chitosan fleeces and determination of the in vitro release characteristics" *Biomaterials* 1993; 14: 939-944

48. Eun-Kyoung Pang, Jeong-Won Palk et al. "Effects of chitosan on human periodontal fibroblasts in vitro and on bone formation in rat calvarial defects ". J. Periodontol 2005; 76 : 1526-1533
49. Hartman LC, Meenaghnan MA, Schaaf NG, Howker PB. Effects of pretreatment sterilization and cleaning methods on materials properties and osseointegrativity of threaded implants. Int J Oral Maxillofac Implants 1989; 4: 11-18.
50. Rosa M., Albrektsson T., Francischone CE, Schwartz y Wennerberg A. The influence of surface treatment on the implant roughness pattern. J Appl Oral Sci. 2012;550-55.
51. GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet. 2017;390(10100):1211-1259.
52. Le Guehennec L, Martin F, López-Here- dia MA, Lourarn G, Amouriq Y, Cousty J, Layrolle P. Osteoblastic cell behavior on nanostructured metal implants. Nanomed 2008 ; 3 :61-71.
53. Meirelles L, Curie F, Jacobson M, Albre- ktsson T, Wennerberg A. The effect of chemical and nanotopographical modi- fications on the early stages of osseoin- tegration. Int J Oral Maxillofac Implants 2008; 23: 641-7.
54. Federación Dental Internacio- nal. Declaración de Principios de Calidad de los Implantes Dentales. (Internet); 2008 (Ci- tado el 13 de marzo del 2013).
55. García- Contreras René, Sakagami Hiroshi, Scougall-Vilchis Rogelio, The effects of the ultraviolet irradiation of titanium plates on osteoblastic adhesión, Revista ADM /JULIO- AGOSTO 2011/VOL .LXVIII. No.4. pp. 175-182.
56. Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated tita- nium implants. Acta Orthop Scand 1981; 52: 155-70.
57. Boyan BD, Dean DD, Lohmann CH, Cochran DL, Sylvia VL, Schwartz Z. The Titanium Bone- Cell Interface In vitro: The Role of the Surface in Promoting Osseointegration. En "Titanium in Medicine: material science, surface science, engineering, biological responses and medical applications"; eds. Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen P. Springer Verlag, Berlin (2001), p. 561-586.
58. Iuliano DJ, Saavedra SS, Truskey GA. Effect of the confrontation and orientation of adsorbed fibronectin on endothelial cell spreading and the strength of adhesion. J Biomed Mater Res 27 (1993) 1103-1113.
59. Boyan BD, Schwartz Z. Modulation of osteogenesis via Implant Surface Design. En " Bone Engineering"; ed. Davies JE. em squared Inc., Toronto (1999) p. 232-239.
60. Brunette DM. Spreading and orientation of epithelial cells on grooved substrata. Exper Cell Res 167 (1986) 203-217.
61. Ong JI, Carnes DL, Cardenas HL, Cavin R. Surface rughness of titanium on bone morphogenetic protein-2-treated osteoblast cells in vitro. Impl Dent 6 (1997) 19-24.

62. Curtis A, Wilkinson C. New depths in cell behaviour: reactions of cells to nanotopography. En "Cell behaviour: control and mechanisms of motility". Portland Press Lmtd., London (1999) p. 15-26.
63. Kornu et al., 1996; Puleo et al.- 1991; Schneider y Burr ridge, 1994; Shah y col., 1999; Sinha et al., 1994
64. Boyan BD, Lohmann CH, Dean DD, Sylvia VL, Cochran DL, Schwartz Z. Mechanisms involved in osteoblast response to implant surface morphology. *Annu Rev Mater Res* 31 (2001) 357-371.
65. Canalis E, Pash J, Varghese S. Skeletal growth factors. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 3 (1993) 155-166.
66. Mundy GR. Local control of bone formation by osteoblasts. *Clin Orthop* 313 (1995) 19- 26.
67. Bab I, Gazit D, Chorev M. Histone, Muhlrad A, Shteyer A, Greenberg Z, Namdar M, Kahn A. H4-related osteogenic growth peptide (OGP): a novel circulating stimulator of osteoblastic activity. *EMBO J* 11 (1992) 1867-1873.)
68. Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials. *biomaterials* 21 (2000) 667-681.
69. LeBaron R, Athanasiou K. Extracellular matrix cell adhesion peptides: functional applications in orthopaedic material. *Tissue Engineering* 6 (2000) 85-103.
70. Boyan BD, Dean DD, Lohmann CH, Cochran DL, Sylvia VL, Schwartz Z. The Titanium Bone-Cell Interface In vitro: The Role of the Surface in Promoting Osseointegration. En "Titanium in Medicine: material science, surface science, engineering, biological responses and medical applications"; eds. Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen P. Springer Verlag, Berlin (2001), p. 561-586.
71. Sinha RK, Morris F, Shah SA, Tuan RS. Surface composition of orthopedic implant metals regulates cell attachment, spreading and cytoeskeletal organization of primary human osteoblasts in vitro. *Clin Orthop Rel Res* 305 (1994) 258-272.
72. Lindenmuth DN, van Wijnen AJ, Hiebert S, Stein JL, Lian JB, Stein GS. Subcellular partitioning of transcription factors during osteoblast differentiation: developmental association of the AML/CBF alpha/PEBP2 alpha-related transscription factor-NMP-2 with the nuclear matrix. *J Cell Biochem* 66 (1997) 123-132.
73. Alvarez M, Thunykipisal P, Morrison P, Onyia J, Hock J, Bidwell JP. PTH-responsive osteoblast nuclear matrix architectural transcription factor bind to the rat type I collagen promotor. *J Cell Biochem* 69 (1998) 336-352.
74. Boyan BD, Lohmann CH, Dean DD, Sylvia VL, Cochran DL, Schwartz Z. Mechanisms involved in osteoblast response to implant surface morphology. *Annu Rev Mater Res* 31 (2001) 357-371.
75. Dhawan J, Lichtler AC, Rowe DW, Farmer SR. Cell adhesion regulates pro-alpha 1(I) collagen mRNA stability and transcription in mouse fibroblasts. *J Bio Chem* 266 (1991) 8470-8475.

76. Davies JE, Lowenberg B, Shiga A. The bone-titanium interface in vitro. *J Biomed Mater Res* 24 (1990) 1289-1306.
77. Bidwell J, Feister H, Swartz D, Onyia J, Holden J, Hock J. Parathyroid hormone regulates the expression of rat osteoblast and osteosarcoma nuclear matrix proteins. *J Cell Biochem* 63 (1996) 374-383.
78. Torrungruang K, Feister H, Swartz D, Onyia J, Holden J, Hock J, Bidwell J. Parathyroid hormone (PTH) regulates the expression of the nuclear mitotic apparatus protein (NuMA) in the osteoblast-like cells, ROS 17/2.8. *Bone* 22 (1998) 317-324.
79. Long, M., Rack, H.J. (1998) Titanium alloys in total joint replacement-a materials science perspectiva. *Biomaterials* 19 (1b) 1621-1639.

14.ANEXOS

Primer Encuentro temático del Nodo, Querétaro.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD
JURIQUILLA



OTORGAN EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO

A: JIMENA MUÑOZ VÁZQUEZ, LAURA SUSANA ACOSTA TORRES, MA. CONCEPCIÓN ARENAS ARROCENA, OMAR MARTÍNEZ ÁLVAREZ, RENÉ GARCÍA CONTRERAS

Por la presentación del trabajo: "Cuantificación de la adhesión y diferenciación de osteoblastos en placas de Ti y NTi"

Durante El Primer Encuentro Temático del Nodo Querétaro, el 11 de noviembre de 2019 llevado a cabo en la ENES Juriquilla


"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Querétaro, Qro. noviembre 2019.


DR. RAÚL GERARDO PAREDES GUERRERO
DIRECTOR

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD JURIQUILLA



ENES
JURIQUILLA
DIRECCION


DRA. CRISELDA RUIZ AGUILAR
PRESIDENTA NODO QUERÉTARO RED BIOT

DIR-F01-2019-CN-1-R-70

XVII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia 2020.



León, Gto. 02 de Abril de 2020

Estimado(a) Jimena Muñoz Vazquez:

Su trabajo enviado al XVII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia, identificado con el número de registro **MS-0006/20** y titulado:

CUANTIFICACIÓN DE LA ADHESION y DIFERENCIACIÓN DE OSTEÓBLASTOS EN PLACAS DE Tí Y NTI

Jimena Muñoz Vazquez¹, Laura Susana Acosta Torres¹, Concepción Arenas¹, Omar Martínez Álvarez¹ y René García Contreras¹

¹ Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, UNAM. jimenamvazquez@outlook.com

ha sido aceptado para su presentación en la modalidad de póster. La clave del trabajo es **S3-MCS01** y se presentará en la sesión 3 La fecha de presentación esta pendiente de definir.

Le recordamos que los reconocimientos por presentación de trabajos se entregarán después de comprobar su participación en la sesión correspondiente. Favor de verificar si así desea que aparezca el nombre de los autores del trabajo.

Mayor información puede ser obtenida en www.cio.mx en la sección de congresos y conferencias.

Sin otro motivo, reciba cordiales saludos.

ATENTAMENTE:

Dra. Cristina Elizabeth Solano Sosa
POR EL COMITÉ ORGANIZADOR
encuentro2020@cio.mx