



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN**

TÍTULO:

**“Impresión 3D de andamios a base de ácido
poliláctico (PLA) y sus efectos en cultivo con
células madre dentales”**

FORMA DE TITULACIÓN;

TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA

P R E S E N T A

CALLEJA LÓPEZ NATHALIA ESTEFANIA

TUTOR:

DR. GARCÍA CONTRERAS RENÉ



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



Índice

1 Reconocimiento	4
2 Dedicatoria	5
3 Agradecimientos	6
4 Lista de abreviaturas	8
5 Resumen	10
6 Abstract	10
7 Introducción	11
Capítulo 1	14
8 Marco Teórico	15
9 Antecedentes	27
Capítulo 2	29
10 Planteamiento del Problema	30
11 Pregunta de investigación	31
12 Hipótesis	31
13 Justificación	32
14 Objetivo General	33
15 Objetivos Específicos	33
Capítulo 3	34
16 Marco metodológico	35
17 Variables de estudio	37
18 Materiales	38
19 Desarrollo de la Metodología	40



Capítulo 4	51
20 Resultados	52
21 Discusión	59
22 Conclusiones	61
23 Bibliografía	62
Anexo	70



1. Reconocimiento

Esta Tesis no habría sido posible sin el apoyo de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León de la UNAM, el inigualable apoyo de mis profesores, compañeros y personal que labora día a día en la universidad, por permitirnos trabajar en las instalaciones de la clínica del área de profundización de cirugía y patología oral, así mismo el Laboratorio de Investigación Interdisciplinario (LII) área de Nanoestructuras y Biomateriales fundamentales.

Reconocer la colaboración y apoyo de Dr. René García Contreras, Dra. Laura Susana Acosta Torres, Dra. Ma Concepción Arenas Arrocena, Dra. Rosa Elvira Nuñez Anita, LO. Ángel Paulino González, LO. María de Jesús Guerrero Gutiérrez.



2. Dedicatoria

A todos los que confiaron en mí, en especial a mis papás y a mis hermanas que siempre están en cada uno de mis triunfos.

A todas esas personas soñadoras, que nunca nos cansemos de soñar, porque cada logro comienza con un sueño.

“El futuro pertenece a los que creen en la belleza de su sueño”
Eleanor Roosevelt.



3. Agradecimientos

A Dios, solo tu sabes lo mucho que me esforcé día a día para llegar a la meta, te agradezco el nunca dejarme sola, hasta en los momentos que quería olvidarme de todo tu estabas ahí para demostrarme que sí podía, por darme la oportunidad en el momento adecuado de mi vida.

A mis papas, por toda su paciencia, por su apoyo, por nunca dejarme caer, ciertamente sin ustedes absolutamente nada hubiera sido posible, por todo su amor incondicional y tiempo, por confiar en mí aun cuando ni siquiera yo podía hacerlo, en especial por nunca dejarme dar por vencida.

A mis hermanas, mis niñas enfadosas, sin duda a ustedes les tocó lidiar con la parte más difícil de mí: Mi mal humor, pero aun así sabían como hacerme sonreír cada día, gracias por su paciencia, sus bromas, su amor y por siempre ser mis pacientes, gracias por siempre recordarme lo importante que es nunca dejar de ser niño.

A mi familia, por sus buenos deseos, por sus consejos y su apoyo, por siempre hacer de mis fines de semana divertidos, por sus oraciones y bendiciones, que a pesar de estar lejos siempre se preocupaban por mi bienestar.

A mis maestros, por su pasión por enseñar, por sus consejos, por siempre animarnos a ser mejores, son la base esencial de cada alumno, todos ustedes nos inspiran a ser mejores cada día, desde el primer año el sueño es llegar algún día a ser tan buenos como lo son ustedes.

Quiero agradecer especialmente a los Drs. que hicieron que mi último año se volviera increíble, Dra. Tatiana, Dr. Federico y Dr. Abraham, Gracias por mostrarme la magia de la odontopediatría, por su amor y dedicación en su trabajo, por darme la oportunidad de aprender tanto de ustedes, por apoyarme y animarme cada día.

A mi mentor, Dr. Rene, sin duda usted confió desde el día 1 en mí, nos ayudó a crecer de una manera increíble, nos enseñó la otra cara de la odontología, nos dio retos que pensábamos imposibles, pero usted confiaba en nuestra capacidad, gracias por todos esos momentos increíbles en el laboratorio, gracias por permitirme vivir momentos tan especiales a lo largo de mi licenciatura.

A la Dra. Laura, quisiera agradecerle sus consejos y su confianza, por siempre escucharnos y cuidarme aun cuando estábamos a 1000 km de casa, siempre llevaré en mi corazón sus palabras en ese viaje, por transmitirnos su pasión en todo lo que hace.

A mis pacientes, por su tiempo, ciertamente son parte sumamente importante en mi Licenciatura, Gracias por permitirme atenderlos, por confiar en mí y mis maestros.

A mi universidad, nunca imaginé ser parte de algo tan grande pero siempre soñé con ser parte de algo tan especial, gracias por permitirme representarte, por brindarme todas las herramientas y medios para crecer como alumno y como persona.



Al #TEAM STEM CELLS, Lupita, Dany, Ángel, gracias por ser parte de este equipo, por su esfuerzo, por las risas, las exposiciones fallidas y todas esas que fueron un éxito, en especial gracias a Ángel por toda su paciencia.

A mis compañeros en esta gran aventura, a mis amigos, por permitirme vivir con ustedes este gran sueño, por todo su apoyo, por todas las risas y chocoaventuras y enseñanzas, por todo el llanto y el estrés, sin duda hubo mil veces más momentos buenos que malos pero siempre estaban, sin ustedes estos años no hubieran sido tan divertidos.

No mencionó nombres específicos porque quisiera olvidar a nadie pero me gustaría agradecer a toda persona que confió en mi y me apoyó para cumplir mis metas.

Quisiera agradecer especialmente a Hezu, vivimos tantos momentos juntas, ya sea en el laboratorio o en clínica o en Tepes o en mi casa, gracias por estar, por todo el ánimo, por el apoyo, porque siempre tenías algo que decir y hacías que cada nuevo reto fuera divertido. Gracias por alegrarte de mis triunfos y apoyarme incondicionalmente, no me arrepiento ni un poco de hacerte sentar a mi lado el primer día conmigo.

Agradecer especialmente a el financiamiento recibido para investigación a la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA) por parte de los proyectos PAPIIME: 201617, 208518, PAPIIT: IA205518 y a la Red de Farmoquímicos.



4. Lista de abreviaturas

3

3D: Impresión tridimensional

A

AFM: Microscopía de fuerza atómica

α -MEM: *Alpha Modification Minimum Essential medium*

B

BMPs-4: Proteína morfogenética ósea tipo 4

BMSC: (*Bone Marrow Stem Cells*) Células madre mesenquimales de la médula ósea

C

CMM: Células madres mesenquimales adultas

CM: Célula madre

CFU-F: Unidades formadoras de colonias fibroblásticas

D

DAPI: Marcador fluorescente (4',6-diamino-2-fenilindol)

D-MEM: Dulbeccó's modified Eagle's medium

DMSO: Dimetil sulfóxido

DSCs: (*Dental Stem Cells*) Células madre dentales

E

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

ESC: (*Embryonary Stem Cells*) Células madre embrionarias

G

g: gramo

GRASS: Sustancia generalmente conocida como seguro

H

hDPSC: (*Human Dental Pulp Stem Cells*) Células madre de la pulpa dental humana

hESC: (*Human Embryonary Stem Cells*) Células madre embrionarias humanas

HGF: Factor de crecimiento de hepatocitos

I

IDO: indolamina 2,3-dioxigenasa

IFN- γ : Interferón gamma

iPS: Células madre pluripotentes inducidas

M

MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad

μ g: microgramo

mL: Mililitro



μ L: Microlitro

μ m: Microméetro

N

NaH₂PO₄: Dihidrógeno fosfato monosódico

P

PDL: (*Population doubling level*) Nivel doble de población

pH: Potencial de hidrógeno

PBS: Solución buffer de fosfatos

PCL: Policaprolactona

PEO: Óxido de polietileno

PGA: Ácido poliglicólico

PHB: Ácido polihidroxibutírico

PHBV: hidroxibutirato-co-hidroxivalerato

PLA: Ácido poliláctico

S

SCAP: Células madre de la papila apical

SFB: Suero fetal bovino

T

TGF- β : Factores de crecimiento transformantes-beta

U

UCSC: (*Umbilical Cord Stem Cells*) Células madre del cordón umbilical

UV: Ultravioleta



5. Resumen

Objetivos: Imprimir andamios basados en PLA y evaluar sus efectos en cultivo con hDPSC (*Human Dental Pulp Stem Cells*).

Métodos: Los andamios fueron diseñados, impresos y caracterizados con microscopía de fuerza atómica (AFM) y estereomicroscopía. La degradación enzimática e hidrolítica del armazón se determinó mediante UV visible. Las hDPSC se aislaron, cultivaron y caracterizaron según las directrices internacionales. La citotoxicidad y la adhesión celular se determinaron mediante el ensayo MTT e inmunofluorescencia. Los experimentos se realizaron por triplicado de tres experimentos independientes ($n=9$) y los datos se analizaron con la normalidad de Shapiro-Wilk y las pruebas t-student, se utilizó una placa de cultivo convencional como grupo de control.

Resultados: Los andamios tienen una rugosidad promedio de $10 \mu\text{m}$ y se observan porosidades de relleno del 95 %. La degradación enzimática e hidrolítica se redujo significativamente ($p < 0,05$) a las 166 horas de agitación (6 %). La hDPSC mostró morfología fibroblastoide, adherencia a placa, diferenciación favorable a linaje condrogénico, adipogénico y osteogénico, marcadores positivos a CD105 + y negativos a CD14-. La citotoxicidad de los andamios reduce ligeramente el número de células viables (85 ± 8 %), mientras que la interacción célula-material aumenta significativamente ($p < 0,05$) la proliferación celular (125 ± 5 %).

Conclusiones: Los andamios de impresión 3D basados en PLA-convencional muestran efectos favorables en la interacción con hDPSC que pueden ser una excelente opción como biomaterial para odontología regenerativa.

Palabras clave: Células madre, 3D, ingeniería de tejidos, odontología regenerativa, ácido poliláctico, biomaterial.



6. Abstract

Objectives: To print scaffolds based on PLA and evaluate their effects in culture with hDPSC (Human Dental Pulp Stem Cells).

Methods: The scaffolds were designed, printed, and characterized with atomic force microscopy (AFM) and stereomicroscopy. The enzymatic and hydrolytic degradation of the scaffold was determined by UV-visible. The hDPSC were isolated, cultivated and characterized under international guidelines. Cytotoxicity and cell adhesion was determined by the MTT assay and immunofluorescence. The experiments were performed in triplicate of three independent experiments (n = 9) and the data were analyzed with Shapiro-Wilk normality and t-student tests, a conventional culture dish was used as a control group.

Results: The scaffolds have an average roughness of 10 μm and fill porosities of 95 % are observed. Enzymatic and hydrolytic degradation was significantly reduced ($p < 0.05$) at 166 hours of agitation (6 %). The hDPSC showed fibroblastoid morphology, adherence to plate, favorable differentiation to chondrogenic, adipogenic and osteogenic lineage, positive markers to CD105 + and negatives to CD14-. The cytotoxicity of the scaffolds slightly reduces the number of viable cells (85 ± 8 %), while the cell-scaffold interaction significantly increases ($p < 0.05$) cell proliferation (125 ± 5 %).

Conclusions: The 3D print scaffolds based on PLA-conventional shows favorable effects in the interaction with hDPSC which can be an excellent option as a biomaterial for regenerative dentistry.

Key words: Stem Cells, 3D, scaffolds, tissue engineering, regenerative dentistry, polylactic acid-based, biomaterial.



7. Introducción

En los últimos años los investigadores se han centrado en buscar avances en diferentes ramas biomédicas, especialmente en la medicina regenerativa, esta rama se basa en investigar principalmente las células madre y su capacidad de diferenciarse en diferentes tejidos. (1)

En la actualidad el uso de células madre como tratamiento regenerativo es tan innovador como en su tiempo fue la transfusión sanguínea o los trasplantes, los cuales hoy en día son procedimientos habituales. (1)

Pero esta área de la medicina no trabaja sola, necesita de diferentes especialidades para realizar tales avances tecnológicos, como la ingeniería tisular. (1)

La ingeniería tisular tiene como objetivo restaurar, sustituir o incrementar la función de algún tejido orgánico, en un proceso de investigación y desarrollo, se ha establecido como una opción viable para realizar tratamientos en la odontología y la medicina. (2)

Dentro de esta área es indispensable el uso de: células madre y andamios, las células madre poseen la capacidad de dividirse de manera continua y tienen el potencial de crear células especializadas (2), y un andamio, es una matriz polimérica en su mayoría, biodegradable y bioabsorbente, cuya función es ser un anclaje para la adhesión de las células. (3)

Últimamente se ha generado el interés de aislar células madre de origen dental, donde se han identificadas MSCs en pulpa dental (DPSCs), dientes deciduos exfoliados (SHED), folículo dental, papila apical radicular (SCAP) y ligamento periodontal (PDLSCS). (4) Afortunadamente fue creado un manual para el aislamiento, cultivo y caracterización de células madre de la pulpa dental humana por el el Laboratorio de Investigación Interdisciplinario (LII) área de Nanoestructuras y Biomateriales fundamentales de la Enes UNAM, unidad León. (5)



El objetivo de la presente investigación fue imprimir andamios en 3D y conocer sus efectos en cultivo de células madre dentales por medio del contacto directo y adhesión de DPSCs determinando la viabilidad celular por medio de colorimetría rápida a través de ensayo de MTT, destacando sus perspectivas de uso y su potencial aplicación para regeneración tisular guiada de lesiones traumáticas y no traumáticas.



Capítulo 1

8. Marco Teórico

Ingeniería Tisular

El interés y la necesidad mundial por crear nuevos tratamientos para enfermedades degenerativas han impulsado fuertemente el avance de la ingeniería tisular. (6)

Sus principales objetivos se dirigen específicamente a la regeneración, reparación o reemplazo artificial de cualquier parte del cuerpo humano que haya sido dañado por alguna enfermedad o accidente. (7)

Esta es un área multidisciplinar que combina los conocimientos de la ingeniería con las ciencias de la salud para desarrollar estructuras biológicas funcionales, para llegar a su objetivo se deben combinar materiales y componentes celulares para poder garantizar un mayor éxito en el tratamiento deseado. (6)

Para que se lleve a cabo este proceso en esencial 3 factores: (1) Células madre troncales, (2) Andamios y (3) factores de crecimiento. (8) (Figura 1)

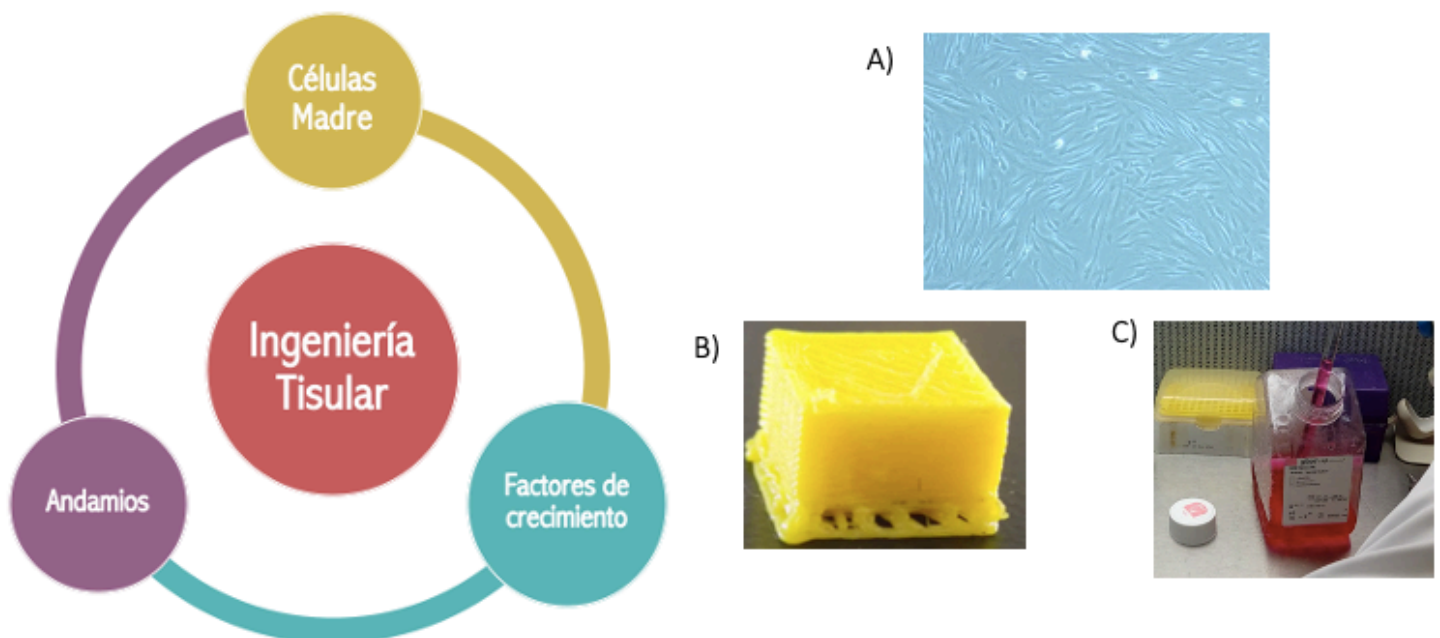


Figura 1 Componentes principales que se usan en Ingeniería Tisular para formar nuevo tejido en el laboratorio Fuente:Propia

A)Células madre B) Andamios C) Factores de crecimiento

Lo primordial de esta ciencia es conocer las propiedades de cada material y tejido a tratar así podremos manejarlo de la mejor manera, las investigaciones nos ayudarán a tener mejores tratamientos para los pacientes mejorando su calidad de vida. (9)

Células troncales

Las células madre, son células indiferenciadas, inmaduras y autorenovables, que cuentan con 2 características esenciales: (10)

- Capacidad de autorenovación, esta propiedad le permite tener una proliferación de manera ilimitada.
- Capacidad de diferenciación, le permite diferenciarse en diferentes tipos de células especializadas (óseas, sanguíneas, neuronas, epidérmicas, etc.) (11-13)

En el organismo existen diferentes tipos de células madre que se clasifican de 2 diferentes maneras; por su **origen** o por su **potencial de diferenciación**.

A su vez por **Potencial de diferenciación** se clasifican en: (Figura 2)

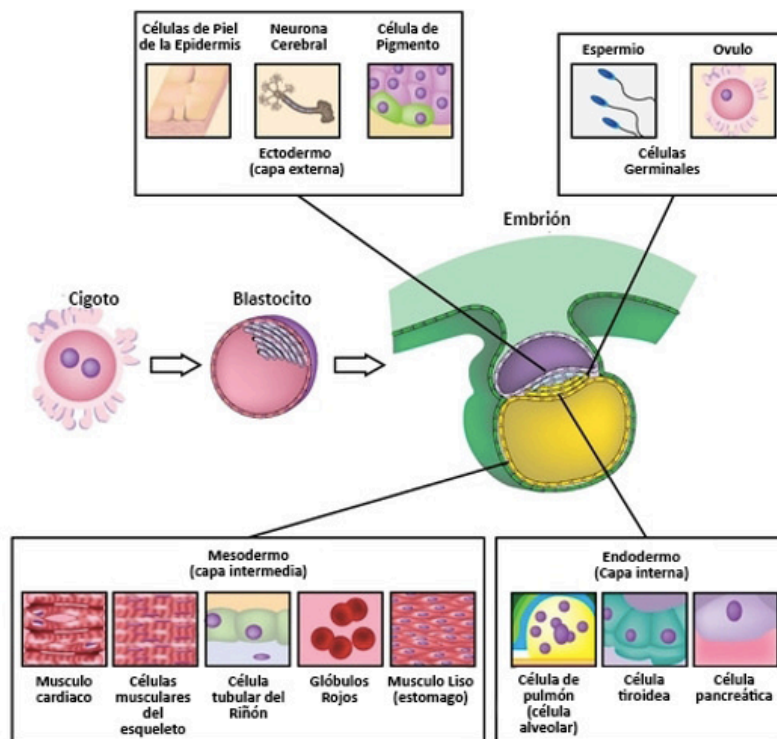


Figura 2 Esquema de Potencial de diferenciación celular Fuente: Zachary Wilson (18)

- Totipotentes: Proceden de las primeras etapas del desarrollo embrionario, tienen la capacidad de formar nuevos embriones o un organismo completo ya que pueden diferenciarse en varios tipos celulares. (14)



- Pluripotentes: Se diferencian en cualquier tejido correspondiente a los 3 linajes germinales (Ectodermo, Endodermo y Mesodermo), las podemos encontrar en el polo embrionario del blastocisto. (15)
- Multipotentes: Se les conoce como células madre - órgano específico porque generan células de su propia capa embrionaria por lo que son células madre comprometidas (Ectodermo, Endodermo y Mesodermo), pueden generar un órgano en su totalidad. (16)
- Unipotentes: Son células destinadas a crear solo un tipo de célula específica y presentan menor potencialidad. (15-19)

Y por **origen** se clasifican en: (Figura 3)

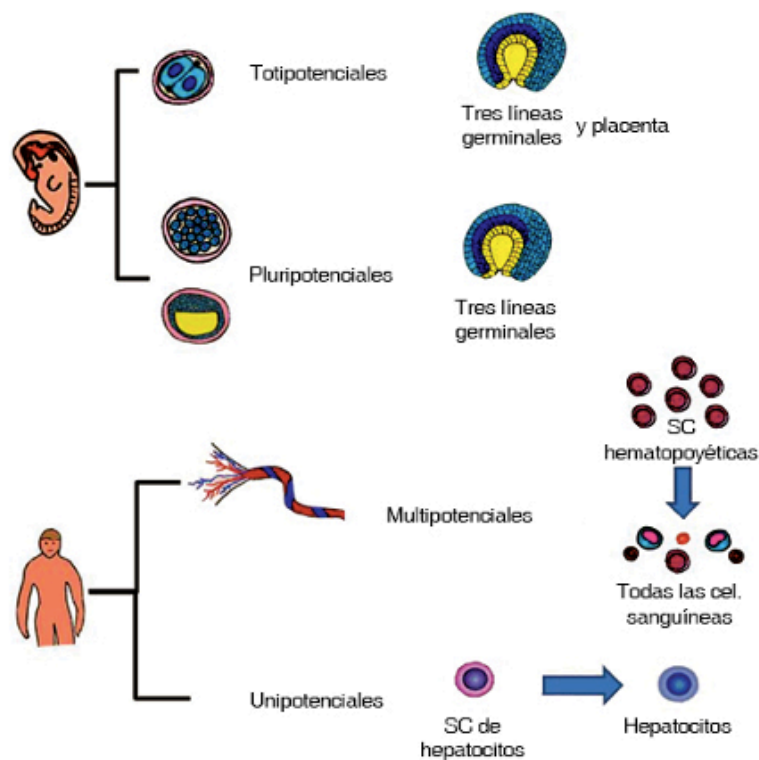


Figura 3 Esquema Clasificación de las células madre por su origen y por su potencial de diferenciación.

Fuente: Alison MR, Islam S. (22)

- Células Madre Embrionarias (CME): Se encuentran en la primera fase del proceso embrionario, es decir que son células Totipotentes. Se pueden obtener



por embriones por fertilización In-vitro, embriones creados de células somáticas y cultivos celulares de líneas de investigación ya existentes. Es muy difícil trabajar con este tipo de células ya que está prohibido en muchos países porque hay muchos conflictos éticos y legales. Muchos piensan que el estudiar este campo nos daría una gran promesa para el futuro de la medicina. (20)

- Células Madre Adultas (CMA): Se encuentran en tejidos adultos y en el cordón umbilical, estas células son ideales para la medicina regenerativa, la ingeniería tisular y la terapia de sustitución celular. Dan lugar a células del tejido en el que se encuentran, es decir, que es su responsabilidad conservar y restaurar el tejido. (21)

Células Madre Mesenquimales

Son células pluripotentes que se originan en el estroma de la médula ósea, poseen gran capacidad proliferativa y de diferenciación, pueden llegar a diferenciarse en osteoblastos, condroblastos, adipoblastos y mioblastos. (23)

Pueden ser aisladas de médula ósea, cordón umbilical, tejido adiposo, páncreas, hígado, pulpa dental, tejido periodontal, entre otros.

Algunas de sus características son: su adherencia al plástico, el aspecto de fibroblastos fusiformes en cultivos no estimulados, expresión de marcadores específicos como SH2, SH3 y SH4 con ausencia de marcadores hematopoyéticos como CD45, CD34, CD11 y CD14. (24)

La sociedad internacional de terapia celular con siglas en inglés ISCT (*International Society Cellular Therapy*) propuso 3 grandes criterios para diferenciar las células madre mesenquimales: (25) (Figura 4)

- Ser adherentes en cultivos
- Expresión específica en antígenos de superficie

- Ser capaces de diferenciarse *in vitro* a Osteoblastos, Condrioblastos y Adipoblastos.

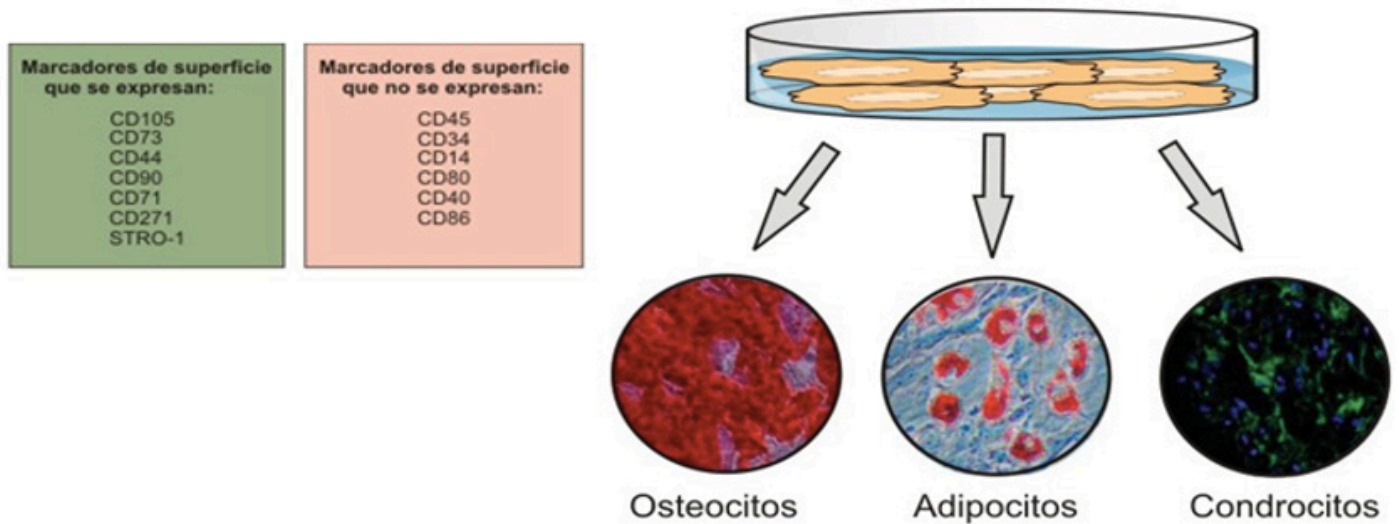


Figura 4 Criterios básicos que deben cumplir las CMM.

Fuente: Miranda-Rodriguez A, Galván-Cabrera J, de-León-Delgado J. (26)

Células Troncales Dentales Humanas (hDSCs)

A lo largo de los años se han buscado diferentes alternativas para conseguir CMM de una manera más accesible y después de varios estudios se encontró que en los órganos dentales se hallaban en una gran población de células multipotentes con alta capacidad proliferativa y de multi diferenciación. (27)

Las hDSCs no solo se encuentran en la pulpa dental, también podemos encontrarlas en: el germen dental, dientes exfoliados (SHED), papila apical de la raíz (SCAP), hueso alveolar, células precursoras del folículo dentario (DFSCs), sitio de implante dental(DISC), células gingivales fibroblásticas (GFSCs) y ligamento periodontal (PDLSC).

(28-31) (Figura 5)

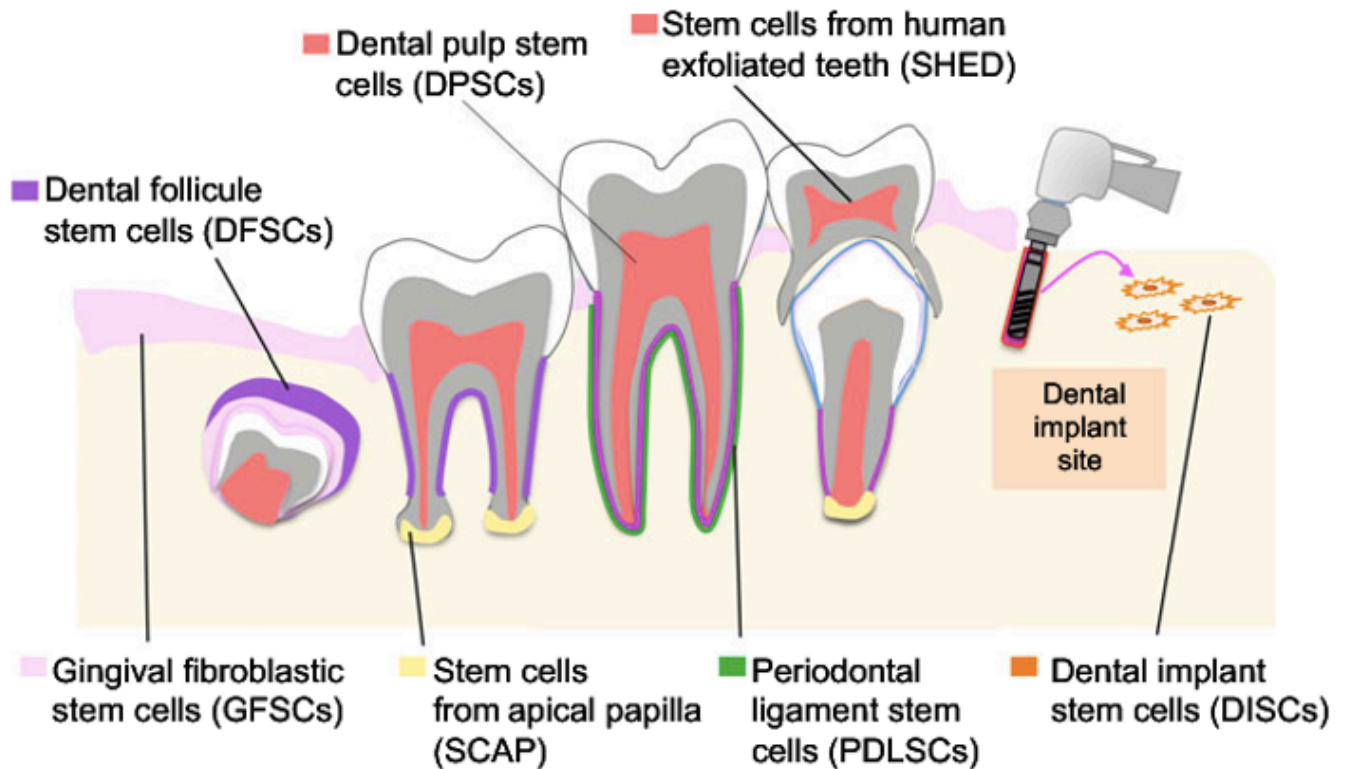


Figura 5 Ubicación de las células madre mesenquimales dentales.

Fuente: Sharpe P. T. Dental mesenchymal stem cells.(32)

Andamios

En la actualidad la medicina ha dado un giro impresionante con sus estudios enfocados en la regeneración de tejidos y los investigadores han pasado por muchos retos para desarrollar biomateriales que ayuden a mejorar la calidad de vida de los pacientes, los andamios han sido un parteaguas en las investigaciones de estos. (33)

Los andamios deben cumplir algunos requisitos importantes: Deben ser tridimensionales, porosos, biocompatibles y biodegradables. (34)

Funcionan como soporte tridimensional y dan un sustrato adhesivo para un cultivo de células *in vitro* y también para la regeneración tisular *in vitro*. (35)



Los andamios en sí son estructuras tridimensionales temporales en los cuales las células pueden crecer y formar tejidos, es por eso que a la hora de fabricarlos y diseñarlos se debe tener mucha atención en pequeños aspectos como el material que se usará hasta la técnica al fabricarlos, para lograr la porosidad perfecta y con la finalidad de proveer que un mayor número de células migre a su interior. (36)

La degradación es una característica muy importante ya que esta va a permitir que el tejido nuevo se vaya fijando de una manera correcta y que los residuos del mismo no tengan carácter tóxico, sino que al pasar el tiempo siga siendo biocompatible. (37)

Polímeros biodegradables

Un polímero puede definirse como una macromolécula que se forma por la unión de moléculas más pequeñas, llamadas monómeros, a través de enlaces covalentes. (38)

Un polímero biodegradable es aquel que se puede degradar completamente por el medio y una vez finalizada su vida útil, transforma su estructura molecular, así como sus propiedades físicas y químicas, al final el polímero se transforma en sustancias simples como agua o dióxido de carbono. (39)

Por su origen, los polímeros biodegradables se pueden clasificar en 3 grandes categorías: (40)

(1) Origen natural: Se extraen directamente de animales, vegetales e incluso bacterias, por ejemplo: la celulosa y el almidón.

(2) Origen sintético: Pueden ser poliésteres, poliésteramidas y poliuretanos, son más biodegradables y gracias a sus grupos carbonilos absorben energía luminica lo que los hace fotodegradables. Algunos ejemplos de este tipo de polímeros son: PLA (Ácido poliláctico), PGA (Ácido poliglicólico), PCL (Policaprolactona) y PEO (Óxido de polietileno). (42)

(3) Polímeros naturales obtenidos por procesos biotecnológicos: Estos son poliésteres biodegradables que se pueden producir químicamente o



biológicamente. Son usados principalmente en el área industrial por tener buenas propiedades mecánicas. Algunos ejemplos son: PHB y PHBV. (38)

Ácido poliláctico

El ácido poliláctico es un homopolímero derivado del polímero natural L-PLA, se obtiene con la fermentación bacteriana de la dextrosa (Glucosa sin refinar) del maíz (40-45), Tiene excelente potencial para sustituir plásticos convencionales por sus propiedades mecánicas y físicas, si se mezcla con polímeros naturales permite desarrollar materiales con propiedades resistentes al agua.(41)

Se puede formular para ser rígido o flexible, es biodegradable y se clasifica como GRAS (Sustancia generalmente conocida como segura) por la *Food and Drug Administration* de Estados Unidos. (42)

Al ser compatible con el cuerpo humano ha sido muy usado en el área médica, ha sido aplicado en: cirugía, ortopedia, ortodoncia, oftalmología, traumatología, entre otras.(40)

Tiene propiedades mecánicas iguales a polímeros petroquímicos, con una fuerza de tensión de 40-60 MPa, módulo de tensión de 3-4 GPa y una temperatura máxima de 50-60 °C. Se puede imprimir y no necesita un tratamiento específico antes de esta. (43)



Mecanismos de Degradación

Actualmente se aceptan 5 mecanismos básicos de degradación para un polímero:

- **Fotodegradación:** Es el proceso de cambios físicos y químicos que sufre un polímero después de ser irradiado con luz con diversos intervalos del espectro electromagnético, por ejemplo: Luz ultravioleta, rayos X, luz visible, entre otras. (40)
- **Mecánica:** Esta tiene como consecuencia efectos macroscópicos como su deformación o fractura producido por el influjo de fuerza y cambios químicos por los esfuerzos mecánicos. (45)
- **Térmica:** Consiste en la descomposición de moléculas en fragmentos más pequeños, debido a que las uniones tienen resistencia limitada y el calor las vence. (44)
- **Química:** Son procesos que son inducidos, puede ser con sustancias muy agresivas como disolventes o con sustancias más simples como el agua, a esta degradación se le conoce como hidrolítica, se da cuando el material está en un medio acuoso, el agua produce hinchamiento de la matriz polimérica, ruptura de los puentes de hidrógeno, hidratación de las moléculas y finalmente hidrólisis de los enlaces inestables.
- **Biodegradación:** Los microorganismos como hongos y bacterias producen enzimas que reaccionan con los polímeros. (46)

La degradación de polímeros comienza con la pérdida de peso molecular y termina con pérdida de masa molecular.



Degradación del ácido poliláctico

Los microorganismos colonizan la superficie del polímero y segregan enzimas que llegan a romper la colonización, pero esto depende de más factores, como, la tensión superficial, porosidad y textura superficial. (47)

La reacción enzimática ocurre en su mayoría en un medio acuoso y se necesitan diferentes condiciones para que ocurra el proceso de degradación:(48) (Figura 6)

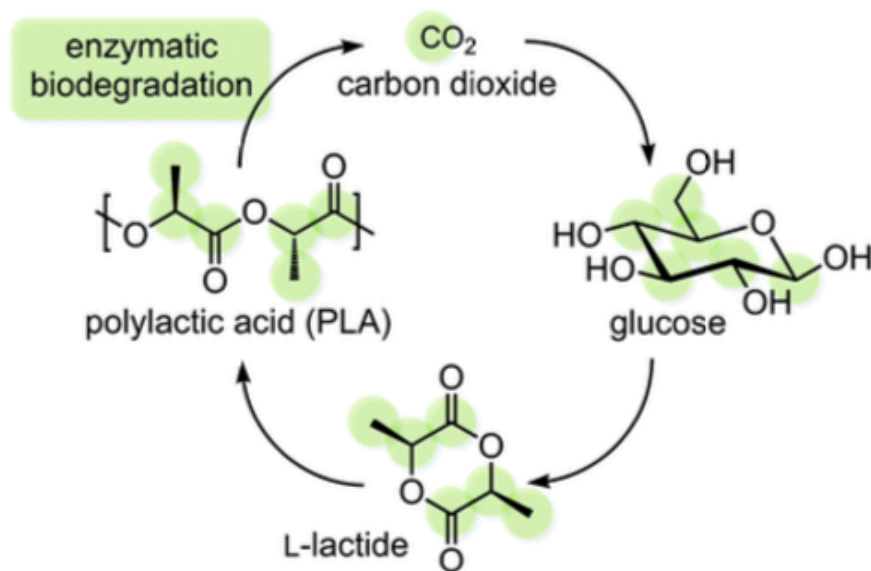


Figura 6 El ciclo de síntesis y posterior degradación del PLA.

Fuente: Labeaga, A. Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones.(49)



- Presencia de microorganismos
- Oxígeno
- Humedad
- Nutrientes
- Temperaturas entre 20-60 Grados
- pH 5-8

El ácido láctico se degrada por los lactatos - piruvatos, y seguidamente es eliminado en forma de CO₂. (49)

Aislamiento y cultivo de hDPSC

Las CMM se aíslan generalmente como población de células adherentes al plástico utilizando procedimientos que implican explantes de tejido, digestión enzimática y crecimiento celular en una superficie de plástico. (50) (Figura 7)

Varios investigadores recomiendan una técnica suave para recuperar la pulpa del órgano dental, podemos evitar el trauma con una irrigación continua, reducción de calor de fricción en la rotación de la fresa y reduciendo el tiempo de contacto. (51)

Los cultivos celulares son esenciales para la investigación científica hoy en día, ya que nos permiten establecer modelos de estudio de los fenómenos biológicos, moleculares y comportamiento celular. (53)

Para evitar la muerte celular por sobrepoblación es necesario realizar subcultivos.

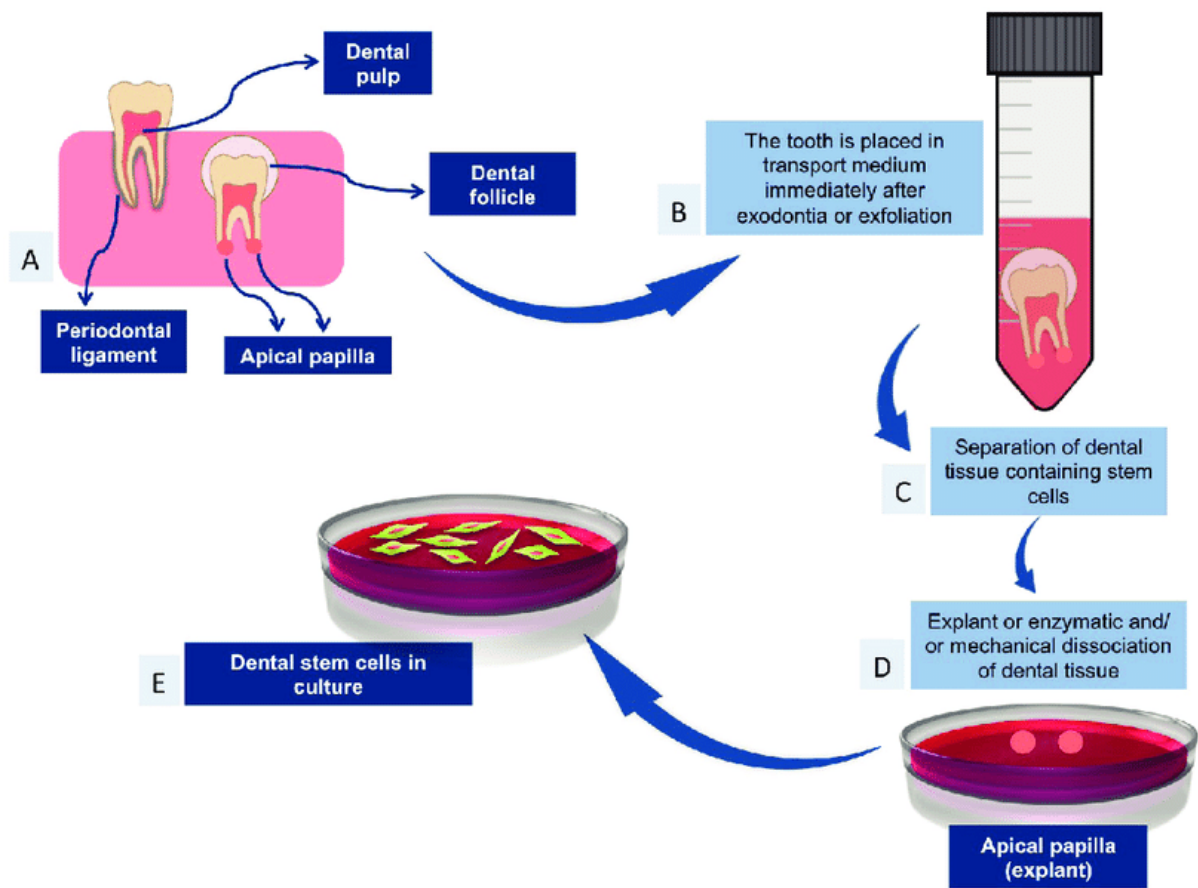


Figura 7 Método para aislar hDPSC.

A: Principales fuentes para extraer células madre dentales. **B:** Después de la extracción, el diente se lleva inmediatamente al laboratorio en un medio de transporte. **C:** Los tejidos que contienen células madre dentales se separan en el laboratorio de cultivo celular en un ambiente estéril. **D:** El tejido celular se puede aislar por disociación enzimática o mecánica y también por explante. **E:** Células madre dentales en cultivo. Estas células se adhieren a la superficie plástica y exhiben una morfología similar a los fibroblastos.

Fuente: *Rev. bras. odontol.*, Rio de Janeiro, v. 73, n. 4, p. 331-5, out./dez. 201 (52)



9. Antecedentes

En 1987 se usó por primera vez el término ingeniería de tejidos, gracias a los doctores Dr. Joseph Vacantti y el Dr. Robert Langer, los cuales redactaron un artículo científico que describía nuevas tecnologías conocidas como el comienzo de una nueva disciplina biomédica.⁽⁵⁴⁾

En 1912 Alexis Carrel, un cirujano ganador del premio nobel, realizó algunos experimentos de trasplantes y reparación de órganos, permitiendo el avance en el campo de cultivos celulares.⁽¹³⁾

Un evento que sin duda cambió la vida de la medicina fue el primer trasplante de corazón en 1967 por el cirujano africano Christian Barnard, esto nos daba abría un mundo de posibilidades para combatir enfermedades degenerativas. ⁽⁵⁴⁾

En 1970 se generó cartílago usando una nueva técnica para aislar condrocitos combinados con andamios a base de hueso. ⁽⁵⁵⁾

1983, Owen y colaboradores describieron la capacidad de las células troncales de generar hueso, cartílago y tejido conjuntivo con una poca cantidad de células de la médula ósea inoculadas en una cámara de difusión en modelos *in vivo*.⁽⁵⁶⁾

Entre 1988 y 1990 se desarrollaron nuevos métodos de impresión 3D: la impresión por deposición de material fundido y la impresión por láser .

En 2005 se desarrolla la primera máquina 3D autorreplicante: RepRap, con lo cual se da un paso gigante en el acceso y uso de las impresoras 3D.⁽⁵⁷⁾

En 2009 la empresa Organovo crea la impresora 3D MMX Bioprinter, la primera capaz de fabricar tejidos orgánicos . Los materiales que actualmente pueden utilizarse para



”imprimir” son variados y lo cierto es que influyen bastante en el coste de la impresora.
(58)

En el 2008 se aplicó por primera vez un trasplante de células madre hematopoyéticas adultas autólogas esto para el tratamiento de defectos óseos periodontales con un historial de periodontitis agresiva. (59)

En el 2020, el Dr. Rene García y colaboradores realizaron un manual en el que especificaba un protocolo para cultivar, caracterizar y criopreservar células madre de la pulpa dental humana de terceros molares, en el cual se concluyó que al ser criopreservadas poseen una mayor proliferación y supervivencia. (50)

En 2021, Daniela Pérez Trujillo presenta un trabajo de tesis el cual consiste en imprimir andamios a base de PLA para identificar proteínas inflamatorias y diferenciación celular de hDPSC, así como la interacción bioquímica que existe.(60)



Capítulo 2



10. Planteamiento del Problema

Un gran reto en la odontología es la restauración de tejidos, ya sea tejido de soporte o mucosa oral, que se hayan perdido por alguna patología o lesión, como puede ser del tipo periodontal, endodóntico o caries. (62)

El mayor motivo de consulta que se determina como urgente son traumatismos maxilofaciales, su compleja anatomía necesita de diferentes análisis de imagen para lograr un excelente diagnóstico y por consiguiente su tratamiento así como su rehabilitación. Existen algunas enfermedades congénitas que pueden llegar a dañar el macizo facial, como puede ser labio y paladar hendido, neoplasias o fisuras orofaciales. (63-64)

Este proyecto propone analizar los efectos del ácido poliláctico en conjunto con células madre para así en un futuro usarlo como un biomaterial que nos ayude a restaurar los tejidos y devolver su función.



11. Pregunta de investigación

¿Cuáles son los efectos de las hDPSC en contacto con andamios impresos en 3D a base de ácido poliláctico?

12. Hipótesis

Los andamios impresos en 3D a base de ácido poliláctico poseen una biocompatibilidad e interacción de las hDPSC aceptable y pueden ser utilizados como biomateriales para odontología regenerativa.



13. Justificación

Desde hace varios años atrás ya se usa la impresión 3D para tratamientos quirúrgicos especialmente en traumatismos dentoalveolares, principalmente para planear meticulosamente los procedimientos, es importante enfocarnos en esta área ya que en México el 30 % de los pacientes que acuden a un hospital es por algún trauma facial.⁽⁶⁵⁾

En México el 47 % de las lesiones traumáticas dentales son tratadas, pero el 59% de los casos su tratamiento es inadecuado, mientras solo que el 4% es tratado por especialistas.⁽⁶⁶⁾ La enfermedad periodontal junto con la caries es una de los padecimientos más frecuentes en el mundo⁽⁶⁷⁾ que inducen pérdida de órganos y tejidos, así mismo existen otros factores como traumatismos, tratamientos inconclusos, fracturas dentales, etc. ⁽⁶⁸⁾

Es por ello que esta investigación tiene la intención de ofrecer una solución a la regeneración con el uso de andamios en 3D para conocer sus efectos en la terapia post-quirúrgica y la no quirúrgica, la pronta regeneración de los tejidos en el área de la odontología, al mismo tiempo queremos dar a conocer los diferentes alternativas para favorecer los procedimientos odontológicos. ⁽⁶⁹⁻⁷⁰⁾



14. Objetivo General

Imprimir andamios en 3D a base de ácido poliláctico y conocer sus efectos en cultivo con hDPSC como biomaterial para odontología regenerativa.

15. Objetivos Específicos

1. Aislar, cultivar y caracterizar hDPSC mediante la diferenciación a diferentes linajes e inmunotipificación por citometría de flujo.
2. Diseñar e imprimir andamios en 3D a base de ácido poliláctico (PLA) mediante fusión térmica.
3. Caracterizar los andamios con estereomicroscopía y microscopía electrónica de barrido (SEM).
4. Identificar el tiempo necesario para la degradación del andamio y porcentajes de degradación del andamio en UV-visible.
5. Evaluar la adhesión inicial y la proliferación de los andamios en cultivo con células madre de la pulpa dental humana mediante pruebas de viabilidad celular con el método de MTT con base en la norma ISO 10993-5 2009-*Biological Evaluation Of Medical Devices -Part 5: Tests For In Vitro Cytotoxicity* . (77)



Capítulo 3



16. Marco metodológico

Tipo de estudio

Estudio experimental *in vitro*, prospectivo, comparativo.

Diseño de estudio

Experimental puro.

Universo de estudio

Terceros molares extraídos en la clínica de la ENES Unidad León, UNAM.

Andamios impresos en 3D a base de ácido poliláctico.

Método de muestreo

No probabilístico por cuotas.

Tamaño de muestra

Los experimentos se realizaron por duplicado de un total de 3 experimentos independientes (n=12) para obtener datos reproducibles

Criterios de selección

- Células de línea celular primaria
 - Células con división celular menor a 15
- Andamios:
 - Andamios con el 95 % de relleno
 - Andamios de 10x10x10 mm
 - Andamios de ácido poliláctico
 - Andamios con desinfección de Rayos UV por 20 minutos.

- Paciente:
 - Pacientes de 16-25 años de edad



- Pacientes con terceros molares permanente retenidos o erupcionados indicados para odontectomía
- Pacientes libres de patología pulpar y periapical

Criterios de exclusión

- Células:
 - Células contaminadas
 - Células con una división celular mayor a 15
- Andamios:
 - Andamios de un tamaño mayor
 - Andamios con otro ácido
 - Andamios sin desinfectar

Criterios de Eliminación

- Células
 - Células contaminadas en el subcultivo



17 Variables de estudio

Variables Dependientes

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición
Tiempo de degradación	Magnitud física que permite ordenar la secuencia de los sucesos(71)	Se identificó el peso inicial y final posterior de los al almacenamiento en solución salina buffer de fosfato (PBS) incubación a 8, 24, 48, 72, 96, 144 y 168 h.	De razón 0-168 h
Viabilidad celular	Mide la proporción de células vivas luego del procedimiento(72).	Número de células adheridas vivas resultantes del cultivo celular junto con los andamios. Se determinaron por conteo con hematocitómetro.	Cuantitativa De razón 0-n células/mL
Inmunotipificación	Proceso en el que se usan anticuerpos para identificar células según el tipo de antígenos o marcadores en su superficie. (75)	Se utilizarán los anticuerpos positivos de CD 150 y CD 90.	Mixta cualitativa : positivo/negativo a cada uno de los antígenos Cuantitativa: número de células positivas/negativas
Diferenciación celular	Capacidad que poseen las células madre de un tejido para producir tipos celulares diferenciados de otro tejido.(74)	Capacidad de hDPSC de diferenciarse en los siguientes linajes celulares: Osteocitos: Son células planas en forma de almendra con núcleos densos, pequeño RER y AG, con prolongaciones citoplasmáticas con uniones comunicantes (gaps) que permiten el flujo de hormonas y de iones entre sí . Condrocitos: Son las células más abundantes del cartílago. Suelen mostrar varias formas. Las más jóvenes son elípticas u ovaladas; esféricas o poligonales. Adipocitos: forma esférica, pero se vuelven poliédricas cuando constituyen los lobulillos . La gran gota de grasa ocupa la mayor parte del volumen de la célula. Su presencia desplaza a todos los componentes del citoplasma hacia la periferia, incluido el núcleo	Cualitativa Nominal 1- Positivo 2- Negativo



Variables Independientes

Variables Independientes	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición
Andamios en 3D de PLA	Un andamio es una estructura microscópica 3D que favorecen y benefician la diferenciación celular.	Andamios 3D a base de PLA con una tamaño de 10x10x10 mm con un 95% de relleno usados para verificar su tiempo de degradación y su viabilidad celular.	Cualitativa



18 Materiales

Impresión y Caracterización 3D de andamios

Ácido Poliláctico (Filamento NinjaFlex 3mm Midnight. LOT: 3D3181290)

Impresora comercial 3D MakerMex (Guanajuato, México) (Modelo: MM1) Método de Fabricación de Filamentos Fundidos.

Aislamiento y caracterización de hDPSC

Equipo

Campana de flujo laminar horizontal (Lumistell MR LH-120, Celaya, Guanajuato, México), Microscopio de contraste de fases (Leica Axio Camp MRc, Wetzlar, Alemania), Centrifugadora (Beckman[®], J2-MC, Indianápolis, EUA), Incubadora (Binder[®], Tuttlingen, Alemania), Ultracongelador (Thermo Scientific[®], Rochester, NY, EUA), Cámara de Neubauer (Bioeco[®], Alemania), citómetro de flujo.

Instrumental

Micropipetas (Thermo Scientific[®], Rochester, NY, EUA), cajas de cultivo de 10 cm y 6 cm (Thermo Scientific Rochester, NY, EUA), placas de cultivo de 96 pocillos (Thermo Scientific Rochester, NY, EUA), filtradores celulares Falcon[®] (40µm) (Corning, NY, USA), Pipetas serológicas, micromotor, Bomba de vacío, Tanque para Nitrógeno líquido, Tanque de CO₂, Baño María, Hoja de bisturí no. 20, Pinzas de disección, Portaobjetos de vidrio, Mango de bisturí, Disco de diamante, Espátula 7A o elevador recto, Pipetas volumétricas de 10 ml descartables estériles, Puntas para micropipeta, Tubos eppendorf de 1.5 ml de capacidad, Cajas Petri de 10-cm y 6-cm, tubos de prolipropileno.

Reactivos

Buffer de fosfato (PBS, pH 7.4), Suero fetal bovino (SFB) (Gibco[®] by Life Technologies Corporation, Gran Island, NY, EUA) al 10%, Tripsina-EDTA al 0.05% (Gibco[®] by Life Technologies Corporation, Gran Island, NY, EUA), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Gibco[®] by Life Technologies Corporation, Gran Island, NY, EUA), αMEM, McCoy, Penicilina/Estreptomicina 10,000 UI/ml y 10,000µg/ml Antimicótico Anfotericina B (Gibco[®] by Life Technologies Corporation, Gran Island, NY, EUA), Glutamax (Gibco[®] by Life Technologies Corporation, Gran Island, NY, EUA),



Dexametasona, B- Glicerolfosfato, Ascorbato-2fosfato, isopropanol al 60%, Agua destilada, Rojo aceitoso O, Rojo de Alizarina, NaH₂PO₄ (Fosfato monosódico), Etanol 70% v/v, Anticuerpos positivos (CD105, CD90), Insulina, Agua bidestilada, Proteína morfognpetica ósea (BMP 4), Safranina O, solución de bloqueo (Albumina, bovina al 1% o SFB al 5% en PBS), Buffer de tinción.

Degradación hidrolítica de los andamios

Solución salina buffer de fosfato (PBS).

Tripsina-EDTA al 0.05% (Gibco® by Life Technologies Corporation, Grand Island, NY, EUA).

UV-vis (Thermo Fisher Scientific, Helsinki, Finlandia).

Balanza analítica eléctrica (Denver Instrument SGC-LII)

Viabilidad Celular de hDPSC en contacto con los andamios

Placas de cultivo de 24 pocillos (Thermo Scientific Rochester, NY, EUA),

Tubos Falcón® (50 mL) (Corning, NY, USA)

Dimetil sulfóxido (Karal, GTO, México)

Lector de microplaca a 570 nm (Thermo Fischer Scientific, Helsinki, Finlandia)



19. Metodología experimental

1 Obtención, aislamiento y cultivo de las hDPSC

El protocolo para el aislamiento, cultivo y caracterización de células madre de la pulpa dental humana, fue evaluado por el comité de bioética de la ENES, Unidad León de la UNAM para su autorización.

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.

- Preparación del medio de transporte:

Correspondió a una solución de PBS con pH 7.3 y se colocó en tubos falcon de 15 mL con 1 % de antibiótico y se almacenó a 4 °C hasta su uso.

- Obtención de terceros molares:

1. Bajo previo consentimiento del paciente y bajo anestesia local, se realizó odontectomía quirúrgica de los terceros molares, en casos necesarios se utilizó incisiones y osteotomías conservadoras para facilitar la extracción del diente. Se utilizó solución desinfectante en la zona de la extracción como puede ser: Clorhexidina al 0.06% y/o yodopovidona. El tercer molar recientemente extraído se colocó inmediatamente en la solución de transporte y se llevó al laboratorio (Figura 8) .



Figura 8 Obtención de terceros molares.
Cirugía bajo anestesia local para extraer órgano dental #38.
Fuente: Directa, Oscar García (ENES León)



- Obtención del tejido pulpar:

El tejido pulpar fue aislado dentro de la campana de flujo laminar horizontal previamente desinfectada con luz UV. Inicialmente, se lavó el diente 3 veces con PBS removiendo los restos de tejido hematopoyético.

1. Se realizó un corte transversal a nivel de la corona anatómica con un disco de diamante a baja velocidad y con refrigeración para separar la corona de la raíz, el corte no alcanzó los límites de la cámara pulpar.
2. Se procedió a fracturar la corona de la raíz con una espátula 7A o un elevador recto.
3. Se retiró con mucho cuidado la pulpa cameral y radicular con pinzas de disección.(Figura 9)

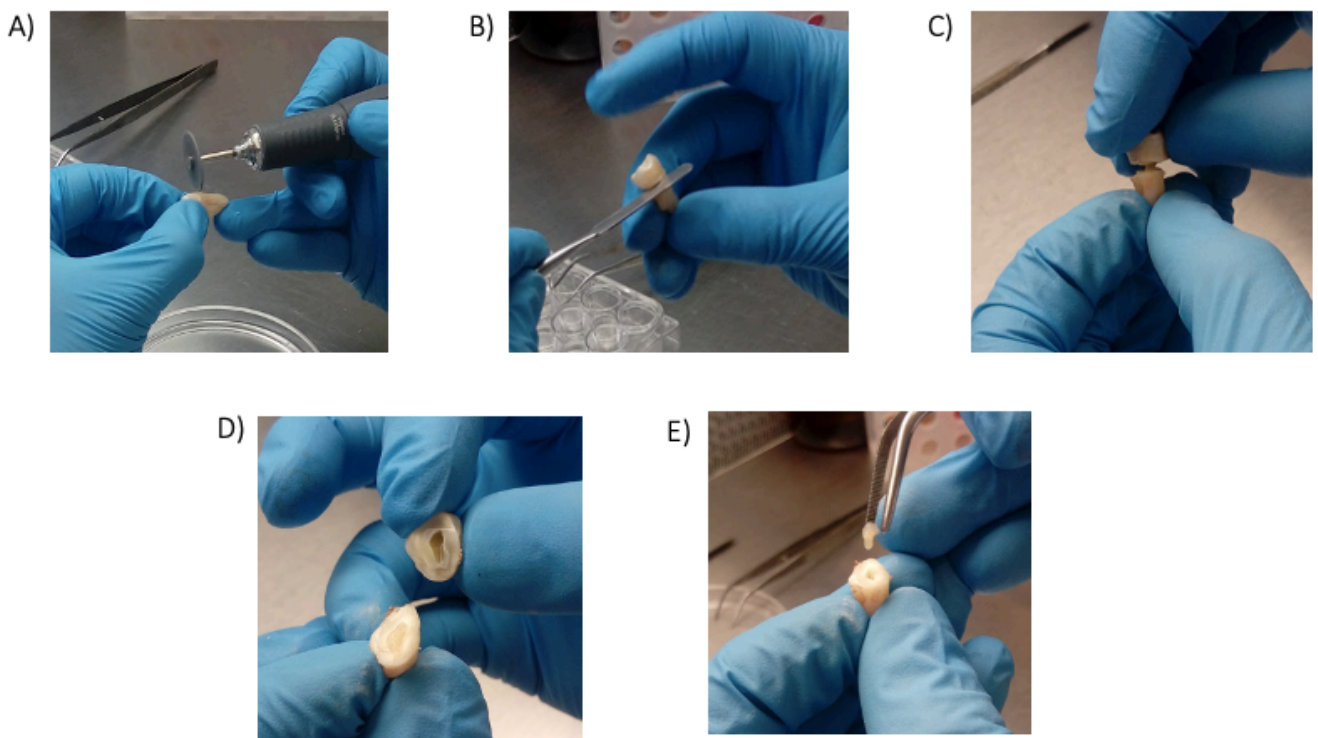


Figura 9 Secuencia de obtención de tejido pulpar **A:**Corte transversal a nivel de la corona anatómica con disco de diamante. **B:**Fractura de la corona de la raíz con una espátula 7. **C:** Se separa con mucho cuidado la corona de la raíz. **D:** Pulpa dental en cámara pulpar. **E:** Se retira con mucho cuidado la pulpa cameral y radicular con pinzas de disección.

Fuente: Directa



- Disgregación enzimática
 1. Se colocó el tejido pulpar sobre un porta objetos de vidrio y se realizaron explantes de 1x1 mm con una hoja de bisturí.
 2. Se depositaron los explantes en platos de cultivo de 10 cm, se inoculó en medio de cultivo α -MEM suplementado al 20% con suero fetal bovino (FBS), glutamina y antibiótico (Gibco) por 7 días.
 3. Posteriormente se realizó la visualización de la migración de células adherentes a partir del explante a lo largo de la caja de Petri y reemplazamos el medio inicial por un volumen igual de medio fresco, prestando especial cuidado en no desalojar los explantes.
 4. Tras la semana inicial y el primer cambio del medio de cultivo, se reemplazó dos veces por semana hasta que las células proliferaron alcanzando una confluencia de aproximadamente el 80% y morfología fibroblastoide (21 días aproximadamente) en la totalidad de la superficie de la placa, se consideró que ya estaba formada la monocapa de células y el cultivo primario se había establecido. (Figura 10)

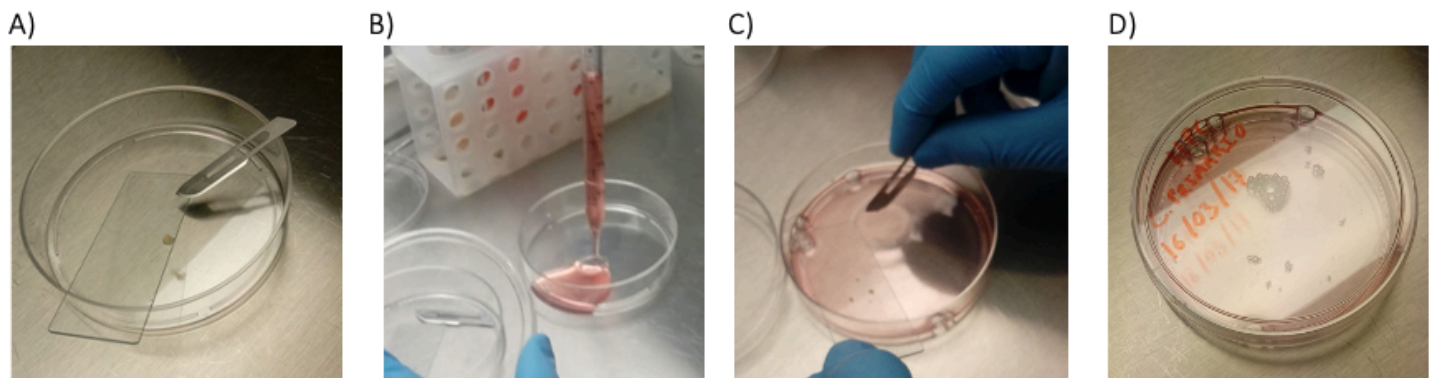


Figura 10 Secuencia de disgregación enzimática **A:** Tejido pulpar sobre un porta objetos de vidrio para realizar explantes. **B:** Se coloca medio de cultivo y sus complementos. **C:** Se colocan los explantes de tejido pulpar en el medio. **D:** Plato de cultivo con explantes y medio.

Fuente: Directa



- Subcultivo y conteo celular:

1. Retirando el medio de cultivo con bomba de vacío, se lavó 2 veces con 4 mL de PBS, se añadieron 5 mL de Tripsina-EDTA.
2. Se incubó por un lapso de 5 minutos a 37 °C, 5 % de CO₂ y 95 % de humedad.
3. Se observó el desprendimiento bajo el microscopio, donde se identificó la presencia redondeada y altamente refractante de los cuerpos celulares.
4. Se agregaron 3 mL de medio fresco para inactivar la Tripsina, se realizó un pipeteado con la finalidad de conseguir la resuspensión completa de las células.
5. Posteriormente se tomaron 10 µL de la muestra de hDPSC y se pipeteó cuidadosamente en uno de los extremos del cubreobjetos.
6. Se observó en el microscopio.
7. Una vez enfocadas las células, se realizó el conteo celular con el hematocitómetro de Neubauer de la cantidad de células a inocular, en cada uno de los cuadros que son en total: L1, L2, L3, y L4.
8. Ya obtenida la cantidad de células contabilizadas en los cuatro cuadros se utilizó la siguiente fórmula para determinar la concentración celular:

$$\text{Concentración} = \text{número de células} / \text{volúmen en mL}$$

9. Posteriormente se añadieron 6-10 mL de medio de cultivo para completar el medio y se colocaron los platos en la incubadora bajo las mismas condiciones iniciales que los cultivos primarios.

2 Caracterización: Diferenciación a linajes celulares

Los ensayos de diferenciación osteogénica, adipogénica, y condrogénica se realizaron con células con un pase celular de 4 o 5 divisiones y una confluencia del 80-100 %.

Subcultivamos hDPSC en DMEM+10% FBS+antibiótico+L-glutamina a una densidad de 3×10^5 células/mL en platos de cultivo de placas de 6 pocillos e incubadas a 37 °C con 5 % CO₂ hasta observar una confluencia celular del 80-100%.

DIFERENCIACIÓN OSTEOGÉNICA:

1. Se retiró el medio de cultivo.
2. Se lavó dos veces con PBS.
3. Se agregó medio de diferenciación osteogénica con α -MEM [SFB 10 %, penicilina y estreptomina (1 %), dexametasona (0.1 mM), B-Glicerofosfato (10 mM), ascorbato-2 fosfato (50 mg/mL)].



4. Se reemplazó el medio cada segundo día durante 4 semanas hasta que se observaron cúmulos de minerales y cristales birrefringentes al microscopio.
5. Se interrumpió la diferenciación con una tinción de rojo de Alizarina (40 mM) en NaH_2PO_4 (0.1 M) y un pH de 4.3.
6. Se lavó las células dos veces con PBS.
7. Se fijaron las células con etanol al 70 % (v/v) por 30 minutos a temperatura ambiente.
8. Se lavó dos veces con PBS.
9. Se agregó 0.25 mL de rojo de Alizarina por 10 minutos a temperatura ambiente.
10. Se lavó dos veces con PBS.
11. Finalmente se lavó cinco veces con agua bidestilada.
12. Se observó en microscopio e identificamos estructuras mineralizantes de apariencia rojiza.

DIFERENCIACIÓN ADIPOGÉNICA

1. Se retiró el medio de cultivo.
2. Se lavó 2 veces con PBS.
3. Se agregó medio de diferenciación adipogénica con α -MEM [SFB 10 %, penicilina y estreptomycin (1 %), dexametasona (0.1 mM), B-Glicerofosfato (10 mM), ascorbato-2 fosfato (50 mg/mL)] adicionado con insulina y L-glutamina.
4. Se reemplazó el medio cada segundo día durante 4 semanas.
5. Se lavó dos veces con PBS.
6. Se agregó medio de cultivo con una solución saturada de rojo aceitoso (0.3 g) en isopropanol 60 % v/v (100 mL) por 1 hora a temperatura ambiente.
7. Se lavó 2 veces con PBS.
8. Se observó bajo microscopía de contraste de fases la presencia de depósitos de lípidos en coloración rojo o naranja.

DIFERENCIACIÓN CONDROGÉNICA:

1. Se subcultivaron células en platos de cultivo de placas de 6 pocillos en forma de microgota o micromasa con medio de diferenciación con α -MEM [SFB 10 %, penicilina



y estreptomicina (1 %), dexametasona (0.1 mM), B-Glicerofosfato (10 mM), ascorbato-2-fosfato (50 mg/mL), proteína morfogenética ósea (BMP-4) e incubamos.

2. Se reemplazó el medio cada segundo día durante 2 semanas.
3. Se lavó dos veces con PBS.
4. Se fijó con etanol al 70 % v/v por 10 minutos.
5. Se lavó una vez con PBS
6. Se agregó 0.15 mL de safranina O (0.1 %) por 5 minutos a temperatura ambiente.
7. Se lavó cinco veces con 0.15 mL de etanol al 100 %.
8. Se lavó cinco veces con agua bidestilada.
9. Se observó bajo el microscopio de contraste de fases e identificamos glucosaminoglicanos de apariencia azul.

3 Inmunotipificación por citometría de flujo

1. Subcultivamos hDPSC en DMEM+10 % FBS+antibióticos+L-glutamina a una densidad de 3×10^5 células/mL en platos de cultivo de placas de 6 pocillos e incubadas a 37 °C con 5 % CO₂ hasta que observamos una confluencia celular del 80-100 %.
2. Se desprendió del plato con tripsina y suspendimos las células.
3. Se agregó Buffer FACS (PBS, 0.5–1 % BSA or 5–10 % FCS, 0.1 % NaN₃).
- 4 Se agregó 100 µl de células en tubos de poliestireno de fondo redondeado.
5. Se agregó 100 µl de solución de bloqueo.(Albumina bovina al 1%)
6. Se incubó sobre hielo por 20 minutos.
7. Se centrifugó a 1,500 rpm por cinco minutos a 4 °C.
8. Se removió el sobrenadante.
9. Se agregó 0.1 -- 10 µg/mL del anticuerpo primario e incubar por lo menos 30 minutos a 4 °C en cuarto oscuro.
10. Se lavó tres veces con PBS.
11. Se centrifugó a 1,500 rpm por cinco minutos.
12. Se resuspendió con 200 µl de PBS frío.



13. Diluimos el anticuerpo secundario siguiendo las indicaciones del fabricante.
14. Se resuspendió las células con el anticuerpo.
15. Se incubó durante 30 min a 4°C en un cuarto oscuro.
16. Se lavó tres veces con PBS.
17. Se centrifugó a 1,500 rpm por 5 minutos.
18. Se resuspendió con 200 µL de PBS frío.
19. Se analizó la suspensión de células en citometría de flujo lo antes posible.



4 Impresión y caracterización de andamios

Los andamios fueron impresos en 3D, con una impresora comercial (MakerMEX, Gto, México), fueron elaborados con ácido poliláctico convencional mediante el método de fabricación de filamentos fundidos, el material debe calentarse de 210 a 230 °C para su extrusión. (Figura 11)

Previamente fue diseñado un andamio con un diámetro de 10 x 10 x .5 mm con relleno de la impresión del 95 % en el Software Blender (Figura 11) que es un programa informático especializado en el modelaje, diseño y creación de estructuras tridimensionales.

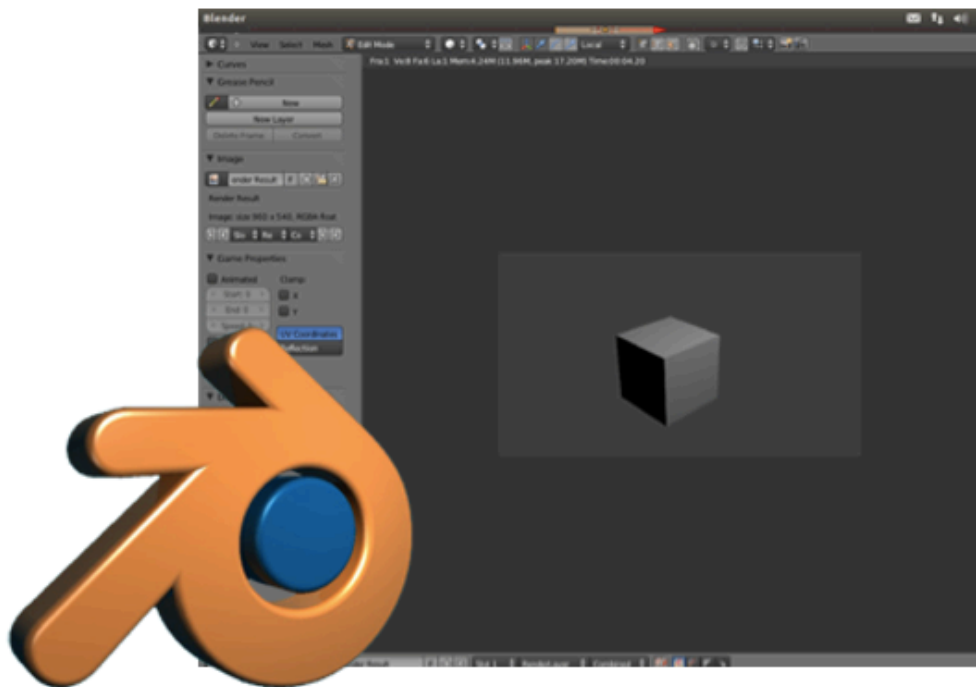


Figura 11 Diseño de Andamio con un diámetro de 10 x 10 x .5 mm con relleno de la impresión del 95 % en el Software Blender Fuente: Propia

La impresión de los andamios se realizó dentro de una campana de flujo laminar horizontal con previa desinfección de todos los componentes y bajo irradiación UV (Figura 12). Se imprimió en aproximadamente 20 minutos y se polimerizó por policondensación.

La caracterización de la ultraestructura y topografía se realizó con estereomicroscopio y microscopía electrónica de barrido (SEM). Los andamios se lijaron con lija de agua del 1000 y suspensión de diamante MetaDi, los andamios se sumergieron en etanol al 100 % y se colocaron por 5 min en el ultrasonido, posteriormente fueron esterilizados durante 20 min.

Se realizó la microscopía la cual nos proporcionó información sobre la morfología del andamio, así como su espesor y distribución de capas.

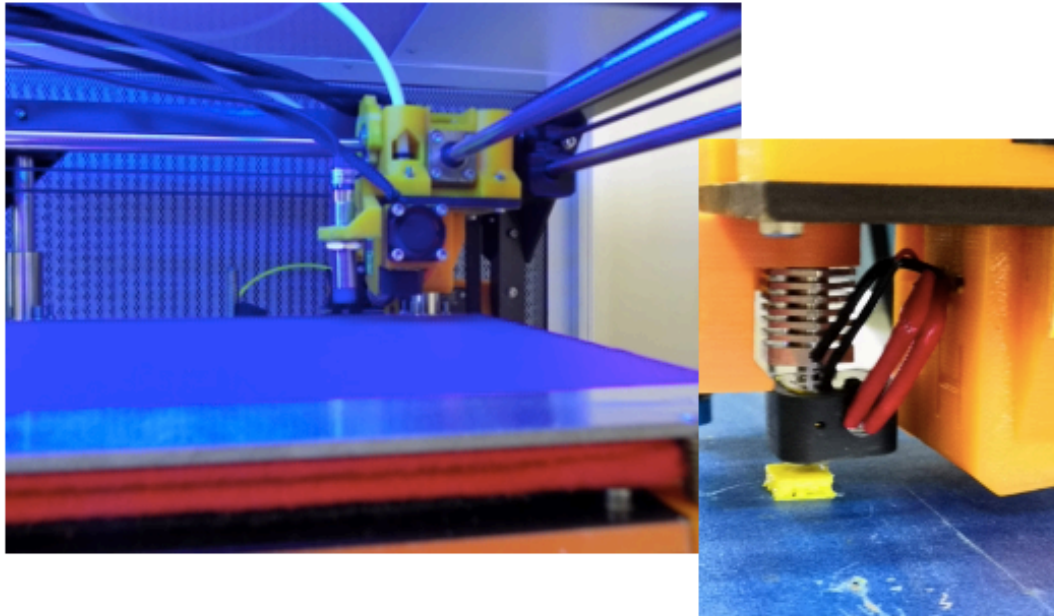


Figura 12 Impresión de andamios a base de PLA en impresora comercial 3D Makermex Fuente:Propia



5 Degradación del andamio

La degradación del andamio correspondió a la reportada por Maet al. 2004 (76), donde se identificó el peso inicial y final con ayuda de una balanza analítica eléctrica (Denver Instrument) (Figura 13) después del almacenamiento en solución salina buffer de fosfato (PBS)/ trypsina al 0.25% e incubación a 8, 24, 48, 72, 96, 144 y 168 h. Además, el grado de degradación fue analizado en UV-vis a una DO de 390 nm (Thermo Fischer Scientific, Helsinki, Finlandia).

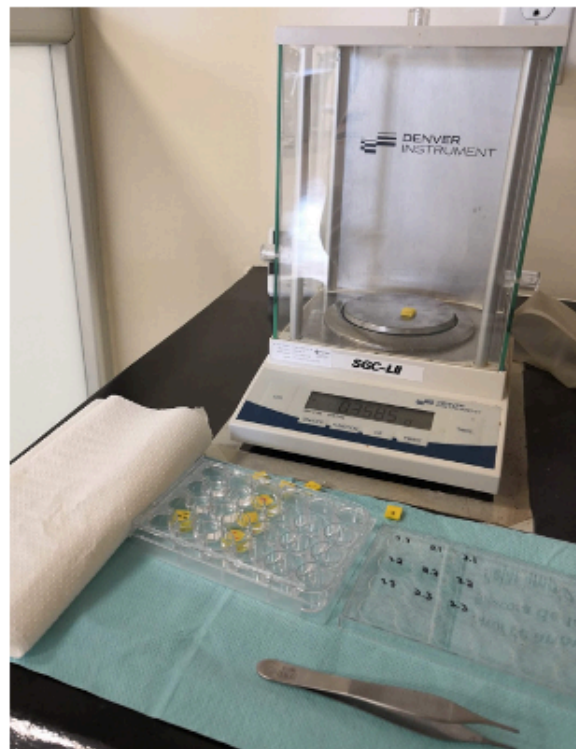


Figura 13 Medición de Peso inicial de Andamios en Balanza Analítica (Denver Instrument) Fuente: Propia

6 Viabilidad celular

Antes de que los andamios entraran en contacto con las células, estos fueron puestos dentro de tubos Eppendorf de 10 mL con etanol al 100 % y se colocaron por 5 minutos en el ultrasonido, posteriormente fueron esterilizados durante 20 minutos.

Las hDPSC fueron sub-cultivadas a 2×10^5 células/mL en platos de 24 pocillos junto con los andamios para conocer la proliferación celular que fue determinada a 1 hora para determinar la adhesión inicial y 96 hrs para determinar la proliferación. La viabilidad celular se determinó por el método de MTT (0.2 mg/mL) (Sigma-Aldrich). Se dejaron incubar durante 4 horas y el formazán fue disuelto con dimetil sulfóxido (Karal, GTO, México). Las muestras se analizaron en un lector de microplaca a 570 nm (Thermo



Fisher Scientific, Helsinki, Finlandia). Los ensayos se realizaron por triplicado de tres experimentos independientes.

7 Análisis e interpretación de los datos

Los datos fueron descritos con porcentajes, desviación estándar y porcentajes y analizados con pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, pruebas t-student o U-Mann Whitney con el paquete estadístico SPSS (*Statistical Package for Social Science*, V15, Chicago, EUA). La significancia estadística fue fijada con un valor $p < 0.05$ y un coeficiente de confiabilidad del 95%. La interpretación de los resultados se realizaron con gráficos de barra y tablas que muestran los porcentajes de viabilidad celular.



Capítulo 4

20 Resultados

Aislamiento y proliferación celular

Se observó que la cantidad de células obtenidas del tejido pulpar de terceros molares aumenta con el tiempo de incubación. Bajo microscopía óptica se observó que las células emigraron desde la superficie de los explantes (Figura 14A).

A los 7 días de cultivo se observaron las células dispersas adheridas al fondo del plato de cultivo y éstas muestran morfología fibroblastoide con contorno fusiforme con uno o dos núcleos ovalados o elípticos y proyecciones fibroblásticas en toda la superficie de la célula (Figura 14B).

A los 15 días se observan conexiones a través de las prolongaciones fibroblásticas de la superficie celular (Figura 14C). A los 21 días se observa una alta confluencia celular y un cambio en la morfología de las células, adquiriendo una forma más redondeada y con disminución de proyecciones fibroblásticas, debido a la confluencia observada del 80-90% del plato (Figura 14D)..(72)

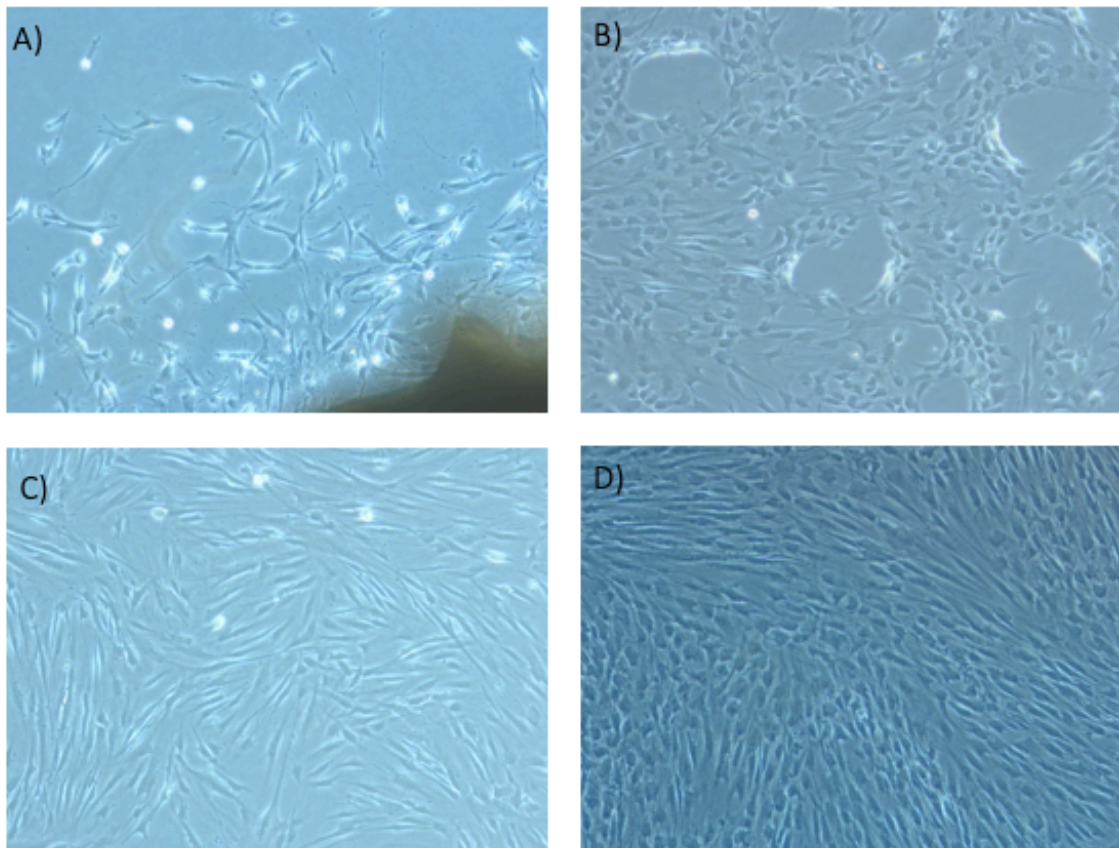


Figura 14 Microfotografías de tiempo de incubación

A) Migración de las celudad desde los explantes **B)** 7 días,células con morfología fibroblastoide dispersas adheridas al fondo del plato de cultivo **C)** 15 días, conexiones a través de las prolongaciones fibroblásticas de la superficie celular. **D)** 21 días, alta confluencia celular. Fuente: Propia



Diferenciación celular: Osteogénica, Adipogénica y Condrogénica

Los explantes fueron expuestos a agentes adipogénicos, osteogénicos y condrogénicos específicos, respectivamente. En la diferenciación osteogénica las células expresaron fosfatasa alcalina en medio osteogénico y observamos bajo microscopía de contraste de fases la presencia de estructuras mineralizantes de apariencia rojiza, debido a la tinción de rojo de Alizarina. Para la diferenciación Adipogénica se detectaron gotas de lípidos gracias a la solución saturada de rojo aceitoso. Finalmente, en la diferenciación condrogénica los condrocitos fueron detectados por tinción con Safranina O, que tiñe la matriz secretada por estas células. (Figura 15)

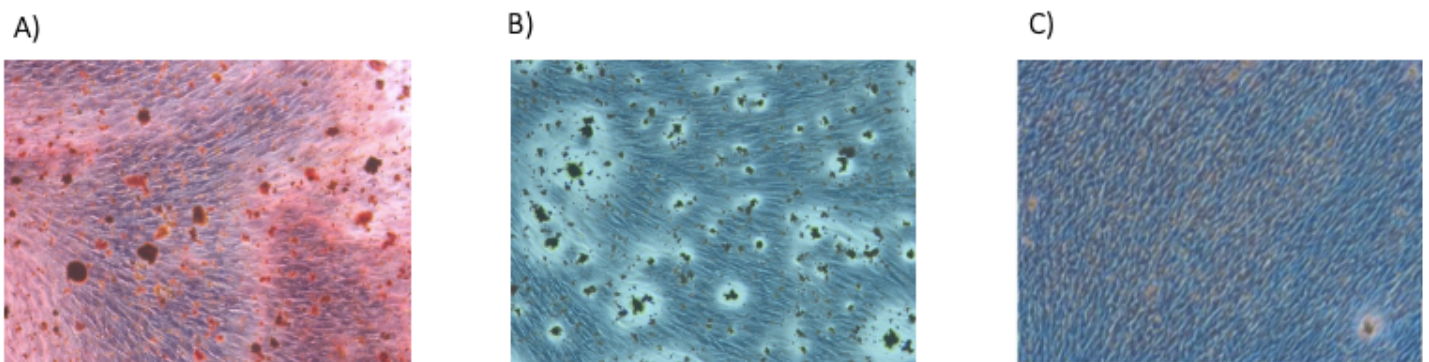
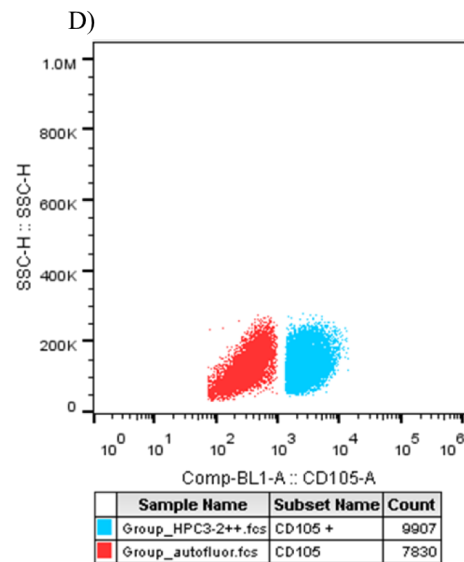
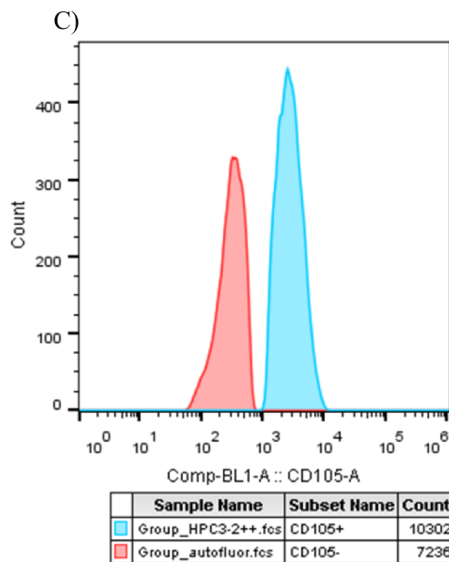
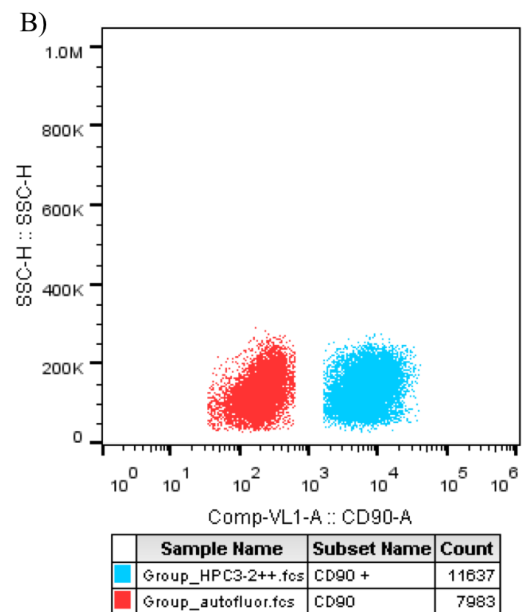
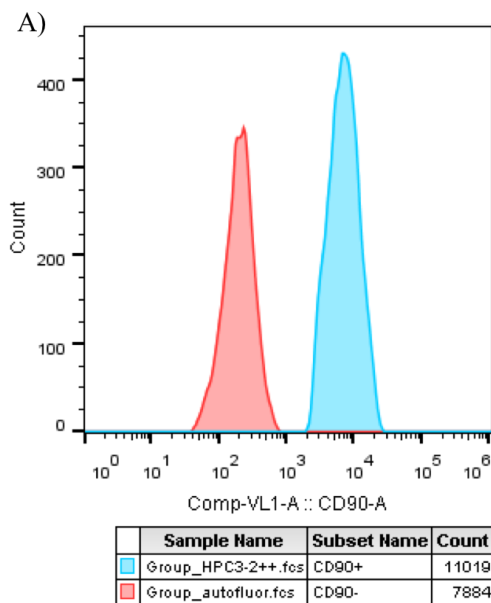


Figura 15 Diferenciación celular **A)** Osteogénica, presencia de estructuras mineralizantes de apariencia rojiza, debido a la tinción de rojo de Alizarina **B)** Adipogénica, presencia de gotas de lípidos gracias a la solución saturada de rojo aceitoso **C)** Condrogénica, se detectó la matriz secretada por las células gracias a la tinción con Safranina O. Fuente: Propia



Inmunotipificación por Inmunofluorescencia y citometría de flujo

Las hDPSCs cultivadas procedentes de terceros molares en el linaje 3, expresaron: 58.1 % de células CD90+/CD105+ (doblemente positivas para estos anticuerpos), con 0.38% de células CD105+ que expresan la molécula CD90- (CD105+/CD90-) y hasta el 11.5% de células CD105-/CD90- (doblemente negativas para ambos anticuerpos) y 30.1% de células CD105-que expresan la molécula CD90+ (CD105-/ CD90+).(Figura 16)



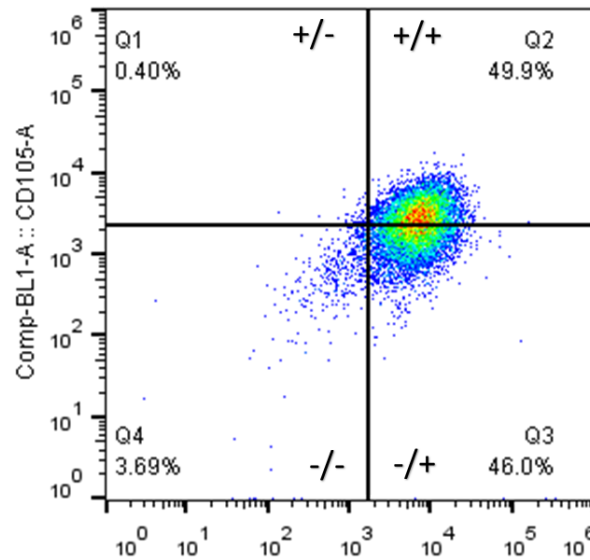


Figura 16. Análisis de citometría de flujo de células de paciente No.2, denominadas hPC3-2 (pasaje 3). A, B) Población de células marcadas con el anticuerpo Anti- CD90. C, D) Población de células marcadas con el anticuerpo anti CD105. En color naranja la población de células negativas (Autofluorescencia), en color azul células positivas. E) Población de células dobles positivas a CD105 y CD90, correspondiente al 50%. Anticuerpo utilizado Anti-human-CD90 superbright 436 y Anti human-CD105 Alexa Fluor.

Impresión y caracterización de andamios

Los andamios tienen una rugosidad promedio de 10 μ m, porosidades de 100 μ m y se observan porosidades de relleno del 95%. (Figura 17)

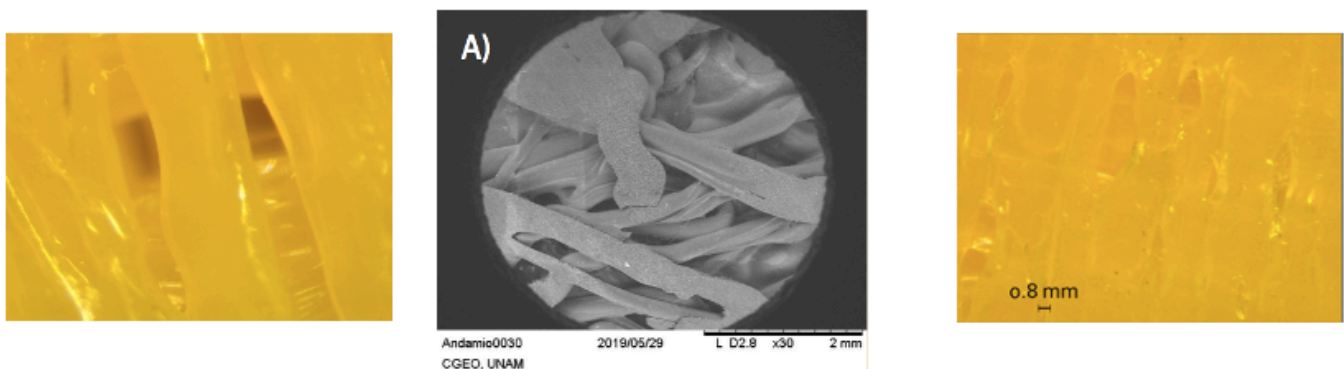


Figura 17 Microfotografías de andamios a base de PLA en donde se puede observar su rugosidad y porosidad. Fuente: Propia



Degradación del andamio

La degradación enzimática e hidrolítica redujo significativamente ($p < 0.05$) a las 166 horas de agitación en tripsina (6%) y en PBS (5%) (Tabla 1-2) (Gráfico 1) La degradación fue confirmada por la absorbancia de las soluciones.

Tabla 1. Degradación enzimática e hidrolítica a 166 hrs de agitación		
Sustancia	Peso (gr; Inicial-Final)	Tamaño (mm)
PBS	0.020 - 0.019 (-5%)	-.1
Tripsina	0.021 - 0.019 (-6%)	-.1

Tabla 2. Grado de Degradación enzimática e hidrolítica por UV-Vis (350 nm, n=12) * $p < 0.05$, t-student pareada					
Sustancia	0 HRS	24 HRS	48 HRS	72 HRS	96 HRS
PBS	.16±.004	.17±.003	.26±.01	.18±.006	.19±.003*
Tripsina	.15±.002	.16±.01	.20±.03	.17±.01	.27±.08*

Tabla 1-2 Tablas de resultados de la degradación obtenida en los andamios a 96/166 hrs Fuente: Propia

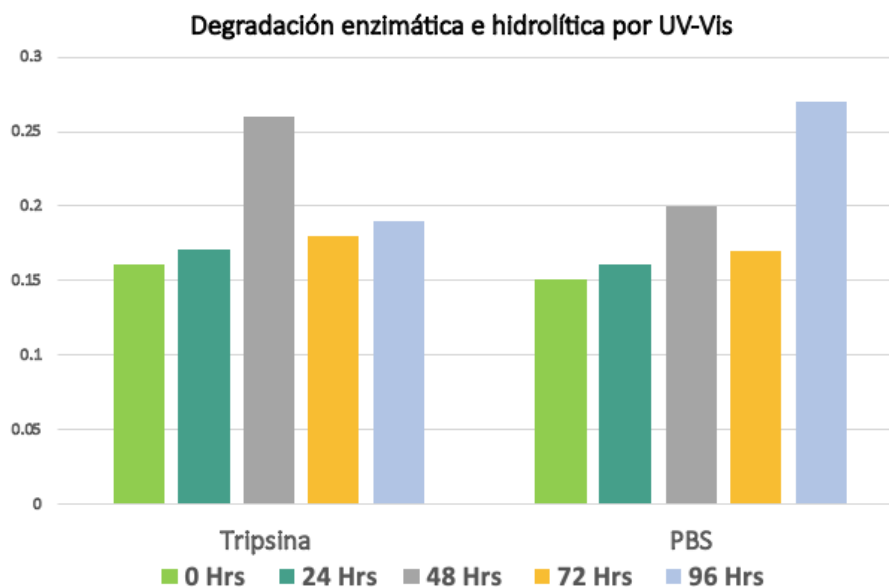


Gráfico 1 Tablas de resultados de la degradación obtenida en los andamios a 96/166 hrs Fuente: Propia



Viabilidad celular

En cuanto a porcentajes de adhesión y proliferación se observó podemos darnos mayor adhesión y proliferación en los andamios a 1 hora de adhesión inicial ($p < 0.05$) y 96 hrs de proliferación ($p < 0.05$) . (Figura 18).

La significancia estadística fue fijada con un valor $p < 0.05$, $n = 9$ y un coeficiente de confiabilidad del 95%.

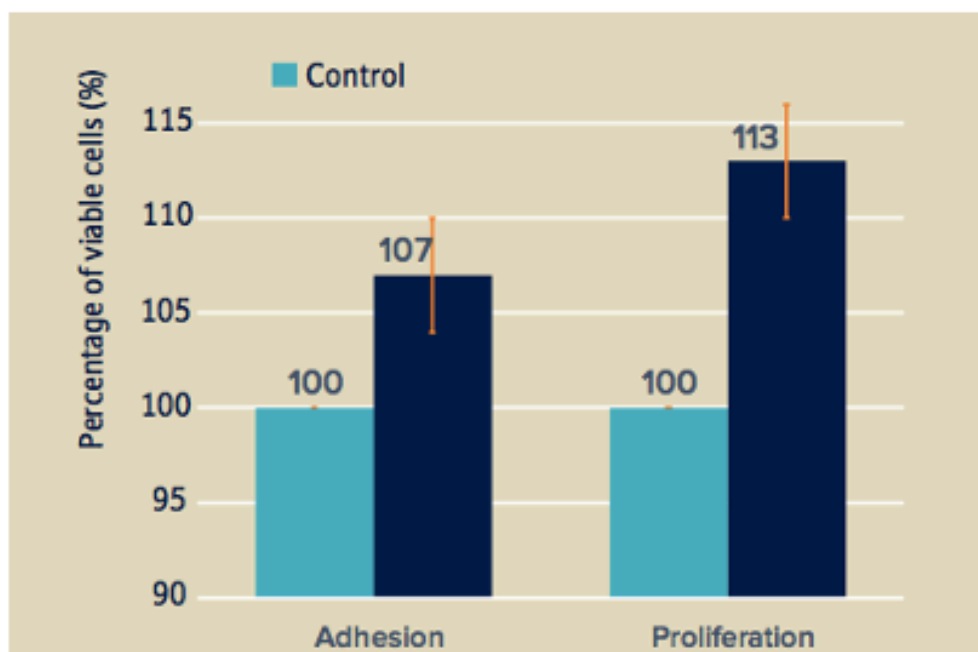


Figura 18 Porcentajes de Viabilidad celular a las 96 hrs Fuente: Propia



21 Discusión

En un estudio de degradación *in vitro* que se llevó a cabo hasta por 8 semanas inicialmente demostrando que el PLA y los andamios PLA mantuvieron su integridad estructural sin perder totalmente la arquitectura original y la fuerza. Sin embargo, se observó un aumento de la rugosidad de la superficie para ambos tipos de muestras. (78) Se demostraron diferencias significativas entre ambos tipos de andamios. Los andamios de PLA exhibieron una mayor y progresiva pérdida de peso durante las primeras dos semanas de degradación *in vitro*. Sin embargo, entre las semanas 4 y 6 su tasa de degradación disminuyó significativamente. Finalmente, después de 8 semanas, el andamio compuesto demostró una pérdida de peso de alrededor del 4.5 %. (79) En nuestra investigación el proceso de degradación mostró una degradación del 6% después de 166 horas (7 días).

Es conocido que un andamio ideal para la regeneración ósea debe transferir gradualmente la carga al hueso de la nueva forma durante la degradación. Por lo tanto, debe hacerse una elección adecuada del diseño de materiales y andamios para ajustar la velocidad de degradación y propiedades mecánicas. (80,82)

En el 2017 se realizó una investigación con andamios neurofibrilares de PLA en el que tuvieron excelentes resultados en la adhesión de las células ya que las fibras pueden llegar a imitar las matrices extracelulares teniendo mejores resultados que su grupo control el cual fue una película delgada de PLA.(83) Nuestros andamios tuvieron excelentes resultados teniendo 7 % de adhesión celular y 13 % de proliferación celular a las 96 hrs comparado con el grupo control.

La hipótesis planteada menciona que los andamios impresos en 3D a base de ácido poliláctico poseen una biocompatibilidad aceptable y buena interacción de las hDPSC, por lo que la hipótesis es aceptada.

Dentro de las perspectivas a futuro se plantea el uso de células hDPSC en conjunto con los andamios impresos para determinar su adhesión focal, la diferenciación celular sobre los andamios, la calidad de su diferenciación y de esa forma proveer potenciales aplicaciones para las áreas como periodoncia, implantología, cirugía bucal o endodoncia.

Dentro de las limitaciones de estudio, podemos destacar que el manejo de los programas para modelados de impresión es un reto para diseñar e imprimir.

La inversión de los anticuerpos y el uso de equipos sofisticados siempre son un reto y es por ello que solo se logró la caracterización únicamente por los anticuerpos antes mencionados.

Para obtener las hDPSC utilizadas en este trabajo, se siguió el protocolo para la obtención y aislamiento de éstas células propuesto por el Laboratorio de Investigación



Interdisciplinaria de la ENES, Unidad León, en el cuál se aislaron células madre de terceros molares con indicación de extracción, gracias a su localización anatómica, estas demostraron ser de fácil acceso y de bajo costo, a su vez, demostraron tener.



22 Conclusiones

Los andamios impresos en 3D a base de PLA mostraron una buena interacción con las hDPSC, dando buenas posibilidades para que en un futuro se desarrolle como un biomaterial viable para la odontología regenerativa.

Las hDPSC aisladas de terceros molares muestran características de células madre (troncales) bajo los estándares internacionales.

En cuanto a la degradación fueron resultados considerables reduciendo aproximadamente 1 mm de su tamaño original, estos resultados fueron paulatinos en el lapso de 1 semana (-6%), nos dimos cuenta que el PLA puede degradarse de manera óptima.

La adhesión celular se logró aumentar 7% y 13% de proliferación.



23 Bibliografía

1. Hernández Ramírez Porfirio. Medicina regenerativa II: Aplicaciones, realidad y perspectivas de la terapia celular. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2006 Abr [citado 2022 Sep];22(1) Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086402892006000100002&lng=es.
2. Curbelo S, Meneses R, Pereira Prado V, Tapia G. Regeneración ósea como un ejemplo de ingeniería tisular en odontología, con énfasis en el desarrollo de los andamios. ode [Internet]. 2020 Dic [citado 2022 Sep];22(36):74-6. Disponible en: <https://www.odon.edu.uy/ojs/index.php/ode/article/view/333>
3. Rubio Valle, J. F., Pérez Puyana, V. M., Félix Ángel, M., & Romero García. Biomateriales: desarrollo de andamios para ingeniería de tejidos. Idus.us.es. [Internet]. 2019 [citado 2022 Sep]. Disponible en: https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/88830/perez-puyana_ponencia_sevilla_2019_biomateriales.pdf?Sequence=1&isallowed=
4. Alvarez Barreto JF. Regeneración ósea a través de la ingeniería de tejidos: una introducción. RET Revista de Estudios Transdisciplinarios [Internet]. 2009 Jul-Dic [citado 2022 Mar];1(2):98–109. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1792/179214945008>.
5. García Contreras et al. Enseñanza práctica del aislamiento, cultivo y caracterización de células madre mesenquimales de la pulpa dental humana. Manual de prácticas de laboratorio, ENES León, UNAM 2019
6. José I. Pedráz., Gorka Orive, Manoli Igartúa, Alicia R. Garcón, Rosa M. Hernández. Ingeniería tisular: retos y realidades. Vitae [Internet]. 2003 [citado 2022 Mar];10(2):46-51. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169817981005>
7. Rosales Ibáñez, R., Alvarado Estrada, K. N., & Ojeda Gutiérrez, F. . Ingeniería tisular en Odontología. ADM [internet]. 2012 Jul-Agos [citado 2022 Mar];1(2):164-67. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2012/od124d.pdf>
8. German D, Falke F, Atala A. Reconstrucción de tejidos y órganos utilizando ingeniería tisular. Arch. argent. pediatr. [Internet]. 2000 [citado 2022 Sep];98(2):103–15. Disponible en: https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2000/00_103_115.pdf
9. Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa. Nih.gov. [Internet]. 2012 [citado 2022 Sep]. Disponible en: <https://www.nibib.nih.gov/espanol/temas-cientificos/ingenier%C3%ADa-de-tejidos-y-medicina-regenerativa-0>
10. Pimentel-Parra GA, Murcia-Ordoñez B. Células madre, una nueva alternativa médica. Perinatol Reprod Hum [Internet]. 2017 [citado 2022 Sep];31(1):28–33. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rprh.2017.10>.
11. Prósper F., Verfaillie C.M.. Células madre adultas. Anales Sis San Navarra [Internet]. 2003 Dic [citado 2022 Sep]; 26(3):345-356. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000500002&lng=es.
12. Andrés S, Vega M, Ayala ÉB. Células madre dentales, reparación y regeneración en pulpa. Medigraphic [Internet]. 2019 Abr [citado 2022 Sep];58(274): 126-130 Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/abril/abr-2019/abr19274g.pdf>



13. Mata-Miranda, M., Vázquez-Zapién, G. J., & Sánchez-Monroy, V. Generalidades y aplicaciones de las células madre. *Perinatología y reproducción humana* [Internet]. 2013 [citado 2022 Sep]; 27(3):194–199. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-53372013000300009
14. Assef Jose Antonio, Escalante, Mantilla. Células madre. Generalidades (Parte I) Stem cells. Overview (Part I) *Rev MediCiego* [Internet]. 2017 [citado 2022 Sep]; 23(2) :71-85 Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/mediciego/mdc-2017/mdc172k.pdf>
15. Tamara Jorquiera J., Carlos León G., Augusto Brazzini A. Células Madre: Conceptos y Oportunidades Presentes y Futuras. *Edu.pe.* [Internet]. 2019 Dic [citado 2022 Sep]; 9 (2): 43-49] Disponible en: <http://repebis.upch.edu.pe/articulos/hm/v9n2/a5.pdf>
16. Jesús L, Orta G, Rytzner AF, De J, García N. Investigación con células madre de origen dentario-Actualización. *Gacetadental.* [Internet]. 2011 Mar [citado 2022 Sep] ;223:118-128 Disponible en: https://www.gacetadental.com/wp-content/uploads/OLD/pdf/223_CIENCIA_Investigacion_celulas_madre.pdf
17. Yamanaka S. Células madre pluripotentes inducidas: pasado, presente y futuro. *Célula madre celular. ASEBIR* [Internet]. 2011 [citado 2022 Sep] ;16(1): 55-61 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3733418>
18. CK-12 Foundation. Crecimiento y Desarrollo Embrionario. CK12-Foundation [Internet]. 2021 Feb [cited 2022 Sep 20]. Disponible en: <https://flexbooks.ck12.org/cbook/ck-12-conceptos-biologia/section/13.66/primary/lesson/crecimiento-y-desarrollo-embrionario/>
19. Camacho AJA, Camacho EL, Gómez MN, et al. Células madre. Generalidades (Parte I) Stem cells. Overview (Part I) *Rev MediCiego* [Internet]. 2017 [citado 2022 Marzo]; 23(2) :71-85 Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/mediciego/mdc-2017/mdc172k.pdf>
20. Hernández Ramírez P, Balea E. Medicina regenerativa: Células madre embrionarias y adultos. *Revista cubana de hematología, inmunología e hemoterapia.* [Internet]. 2004 [citado 2022 Marzo]; 20:0–0. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000300001
21. Prósper F., Verfaillie C.M.. Células madre adultas. *Anales Sis San Navarra* [Internet]. 2003 Dic [citado 2022 Sep]; 26(3):345-356. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000500002&lng=es.
22. Alison MR, Islam S. Attributes of adult stem cells: Attributes of adult stem cells. *J Pathol* [Internet]. 2009 Nov [citado 2022 Sep] ;217(2):144–60. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/path.2498>
23. Ferrer B. Células madre mesenquimales: aspectos relevantes y aplicación clínica en la medicina regenerativa. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2013 Mar [citado Abr 2016]; 29(1):16-23. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v29n1/hih03113.pdf>
24. Prósper F., Verfaillie C.M.. Células madre adultas. *Anales Sis San Navarra* [Internet]. 2003 Dic [citado 2022 Sep] ; 26(3):345-356. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000500002&lng=es.



25. Viviana Marcela Rodríguez-Pardo, Maria Fernanda Fuentes. Aislamiento y caracterización de células "stem" mesenquimales de médula ósea humana según criterios de la Sociedad Internacional de Terapia Celular. Univ. Sci. [Internet]. 2010 Dic [citado 2022 Sep];15(3):0-0. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-74832010000300004
26. Miranda-Rodríguez A, Galván-Cabrera J, de-León-Delgado J. Propiedades inmunomoduladoras de las células madre mesenquimales. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia [Internet]. 2014 [citado May 2022]; 31 (1) Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/221>
27. Brizuela C Claudia, Galleguillos G Sussy, Carrión A Flavio, Cabrera P Carolina, Luz C Patricia, Inostroza S Carolina. Aislación y Caracterización de Células Madre Mesenquimales Provenientes de Pulpa y Folículo Dentario Humano. Int. J. Morphol. [Internet]. 2013 Jun [citado 2022 Sep]; 31(2): 739-746. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022013000200063&lng=es.
28. Yalvac, M. E., Ramazanoglu, M., Rizvanov, A. A., Sahin, F., Bayrak, O. F., Salli, U., Palotás, A., & Kose, G. T. Isolation and characterization of stem cells derived from human third molar tooth germs of young adults: implications in neovascularization, osteo-, adipo- and neurogenesis. The pharmacogenomics journal, [Internet] 2010 [citado Sep 2022] ;10(2):105–113. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/tpj.2009.40>
29. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. J Endod. [internet] 2008 [Citado Mar 2022];34:166–71. Disponible en: <https://doi: 10.1016/j.joen.2007.11.021>
30. Park JC, Kim JC, Kim YT, Choi SH, Cho KS. Acquisition of human alveolar bone-derived stromal cells using minimally irrigated implant osteotomy: in vitro and in vivo evaluations. J Clin Periodontol.[internet] 2012 [citado Abr 2022];39:495–505. Disponible en: <https://doi:10.1111/j.1600-051X.2012.01865.x>
31. Morsczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kuhn U, Mohl C, et al. Isolation of precursor cells (pcs) from human dental follicle of wisdom teeth. Matrix Biol. [Internet]2005 [Citado Ene 2022];24:155–65. Disponible en: Doi: 10.1016/j.matbio.2004.12.004
32. Sharpe P. T. . Dental mesenchymal stem cells. Development [Internet] 2016 Jul [Citado Sep 2022];143(13): 2273–2280. Disponible en: <https://doi.org/10.1242/dev.134189>
33. Marcos Antonio Sabino, Da Silva, Técnicas para la fabricación de andamios poliméricos con aplicaciones en ingeniería de tejidos. Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales [Internet]. 2017 May [citado 2022 Sep];37(2):1-27. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/317003912_Techniques_for_manufacturing_polymer_scaffolds_with_potential_applications_in_tissue_engineering
34. Velazco, D. G. (Ed.). Ingeniería de tejidos y andamios de regeneración celular. Acta bioclinica. [Internet] 2011 Ene- Jul [Citado Sep 2022];1(1) Disponible en: [Http://bdigital.ula.ve/storage/pdf/actabio/v1n1/art01.pdf](http://bdigital.ula.ve/storage/pdf/actabio/v1n1/art01.pdf)
35. Brizuela Cordero, C., Saint Jean, N., e Inostroza Silva, C. . Biocompatibilidad de células madres mesenquimales de tejido gingival humano en cultivo con un andamiaje de polímero sintético de ácido poliláctico (OPLA). Revista Internacional de



- Morfología.[Intenet] 2014 Sep [Citado May 2022] ;32 (3): 767-772. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-728264>
36. Walker JL, Santoro M. Bioresorbable Polymers for Biomedical Applications. Fundamentals to Translational Medicine[Internet] 2017 Ago [Citado ABR 2022] ;1(1):181–203. Disponible en: <https://www.elsevier.com/books/bioresorbable-polymers-for-biomedical-applications/perale/978-0-08-100262-9>
 37. Naira LS, Laurencin CT. Biodegradable Polymers as Biomaterials. Progress in Polymer Science.[Internet] 2016 Ago [Citado Ene 2022];9(9) 762- 798. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017>
 38. Labeaga, A., De Dios, J., & Ruiz, C. (s/f). Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones. Uned.es. [Internet] 2018 [Citado mayo 2022];1:1-46 Disponible en: http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Alabeaga/Labeaga_Viteri_Aitziber_TFM.pdf
 39. Sharpe P. T. . Dental mesenchymal stem cells. Development [Internet] 2016 Jul [Citado Sep 2022];143(13): 2273–2280. Disponible en: <https://doi.org/10.1242/dev.134189>
 40. David Aradilla Zapata, R. O. P. Y. F. E. C. Polímeros biodegradables: una alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente. Técnica Industrial.[Internet] 2012 Mar [Citado Ene 2022];297:76-80 Disponible en: <https://www.tecnicaindustrial.es/wp-content/uploads/Numeros/82/889/a889.pdf>
 41. Blanco Carracedo, Gladys , & Herryman Munilla, Maribel. Ácido láctico y poliláctico: Situación actual y tendencias. ICIDCA. [Internet] 2005 [Citado Mayo 2022]; 9(1):49-59 Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120659007>
 42. Balkcom M, Welt B, Berger K. Notes from the packaging laboratory: Polylactic Acid -- an exciting new packaging material. EDIS [Internet]. 2012 [Citado Mar 2022];2003(17) Disponible en: <http://dx.doi.org/10.32473/edis-ae210-2002>
 43. Benítez, L. P. T., Ortiz, Á. V., Tovar, C. T., & Benítez, L. M. T. B.. Ácido poliláctico: Un plástico biodegradable a partir del almidón. Teknos revista científica. [Internet] 2007 [Citado Ene 2022];3(1): 43–48. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?Codigo=6382678>
 44. Fernández C. Sergio. Respuesta tisular a materiales de relleno. [Internet] [Citado Mar 2022] Disponible en: <http://www.eis.uva.es/~biopolimeros/alberto/pla.htm>
 45. López-Fernández, M. Del M., & Franco-Mariscal, A. J. . Indagación sobre la degradación de plásticos con estudiantes de secundaria. Educación química.[Internet]2021 [Citado Dic 2021];32(2):21-36 Disponible en: <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2021.2.76553>
 46. Blanco Carracedo, Gladys , & Herryman Munilla, Maribel. Ácido láctico y poliláctico: Situación actual y tendencias. ICIDCA. [Internet] 2005 [Citado Mayo 2022] ;9(1):49-59 Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120659007>
 47. Liliana Serna C.,Aída Rodríguez de S., Fred Albán A. Ácido Poliláctico (PLA): Propiedades y Aplicaciones. Ingeniería y Competitividad. [Internet] 2003 Jun [Citado Feb 2022]; 5(1): 16-26
 48. Serna C. L, Rodríguez de S. A, Albán A. F. Ácido Poliláctico (PLA): Propiedades y Aplicaciones. inycomp [Internet]. 4 de junio de 2011 [citado 26 de septiembre de 2022];5(1):16-2. Disponible en: https://revistaingenieria.univalle.edu.co/index.php/ingenieria_y_competitividad/articulo/view/2301



49. Labeaga A, De Dios J, Ruiz C. Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones. Uned.es. [Internet].2018 Feb [citado 2022 Sep]; 1(1): 1-46 Disponible en: http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-cytq-Alabeaga/Labeaga_Viteri_Aitziber_TFM.pdf
50. García Contreras et al. Enseñanza práctica del aislamiento, cultivo y caracterización de células madre mesenquimales de la pulpa dental humana. Manual de prácticas de laboratorio, UNAM 2019
51. Bakkar M, Liu Y, Fang D, Stegen C, Su X, Ramamoorthi M, et al. A simplified and systematic method to isolate, culture, and characterize multiple types of human dental stem cells from a single tooth. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2017 [Citado Ene 2022];1553:191–207. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-6756-8_15
52. Paula Nascimento Almeida KSC. Dental stem cells and their application in Dentistry: a literature review. *Revista Brasileira de Odontologia* [Internet]. 2016 [citado 2022 Sep];73(4):331-335. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/313020349_Dental_stem_cells_and_their_application_in_Dentistry_a_literature_review
53. John Wiley & Sons, Inc. *Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos*, 7e. México, D.F.: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V.; 2014.
54. López CDM. *Ingeniería de tejidos, generalidades y actualidad en Odontología*. Edu.co [Internet]. 2019 [citado 2022 Sep]; 1:0-0 Disponible en: https://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/15222/3/2019_ingenieria_tejidos_odontologia.pdf
55. Barker CF, Markmann JF. Historical overview of transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med.*[Internet] 2013 Apr [Citado Ene 2022];3(4) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3684003/>
56. Hernández Ramírez Porfirio, Dorticós Balea Elvira. *Medicina regenerativa: Células madre embrionarias y adultas*. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2004 Dic [citado 2022 Sep];20(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000300001&lng=es.
57. Esquivel, L. (2017).IMPRESIONante 3D. *Ciencia UNAM*. [Internet] [Citado 20 Sep. 2021];1:1-12 Disponible en: Http://www.cienciorama.unam.mx/a/pdf/373_cienciorama.pdf
58. Saenz del Burgo, L., Ciriza, J., Espona-Noguera, A., Illa, X., Cabruja, E., Orive, G., ... & Alvarez, M.3D Printed porous polyamide macrocapsule combined with alginate microcapsules for safer cell-based therapies. *Scientific reports*. [Internet] 2018 [Citado Dic 2021]; 8(1):1-14 Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-26869-5>
59. Mcs. Dra. Amparo Pérez Borrego. *Historia de la aplicación de la terapia celular en periodoncia*. Sld.cu. [Internet] [Citado Ene 2022] Disponible en: Http://scielo.sld.cu/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S1729-519X2009000500002
60. Pérez T.Mayra D.“Diferenciación celular y expresión de proteínas inflamatorias de hdpsc sobre andamios 3D de PLA”[Tesis de licenciatura] 2021 [citado Ene 2022] ;1:1-46 Disponible en: <https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/EICRV5P9HMTFNQPBRJTIKE2KEN8EMYJTGQ33JRU>



- EI763BCNNQ9-33763?func=full-set-set&set_number=690318&set_entry=000001&format=999
61. S.S. Liao, F.Z. Cui in vitro and in vivo degradation of mineralized collagen-based composite scaffold: nano hydroxyapatite/collagen/poly(L-lactide) Tissue Eng. [Internet] 2004 [Citado mar 2022];10(2):73-80 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15009932/>
 62. Rosales Ibáñez, R., Alvarado Estrada, K. N., & Ojeda Gutiérrez, F. . Ingeniería tisular en Odontología. Revista ADM [internet]2012. [Citado mar 2022];49(4):164-67. Disponible en : <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2012/od124d.pdf>
 63. Sorolla, P. J. P. Anomalías craneofaciales. Revista Médica Clínica Las Condes. [internet] 2010 [Citado mar 2022];21(1):5-15. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-869431>
 64. Wirth, C., & Bouletreau, P. Cirugía de los traumatismos del macizo facial óseo. EMC-Cirugiaplástica reparadora y estética. [internet] 2012 [Citado mar 2022];20(1): 1-24 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1634214312608279>
 65. Morales-Olivera, J. M., Pacheco-López, R., Residente De Cirugía Plástica, M., & Adscrito Al, M. (s/f). Estudio epidemiológico del trauma facial en el Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva del Hospital General «Dr. Rubén Leñero» en la Ciudad de México. Incidence de 5 años Epidemiological study of facial trauma at the Plastic and Reconstructive Surgery Service of the General Hospital «Dr. Rubén Leñero» in Mexico City. 5 year incidence. Cirugía plástica.[internet] 2016 [Citado mar 2022]; 26 (3): 119-124 Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cplast/cp-2016/cp163c.pdf>
 66. Chana Rodríguez, F., Pérez Mañanes, R., Narbona Cárceles, F. J., & Gil Martínez, P. Utilidad de la impresión 3D para el tratamiento quirúrgico de las fracturas acetabulares. Beca proyecto de investigación SECOT 2014. Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología. .[internet] 2018 [Citado Ene 2022];62(4): 231–239. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.recot.2018.02.007>
 67. Cortés-García MI, Hernández-Palma J, Valenzuela-Espinoza E. Tratamiento del diente avulsionado: caso clínico, seguimiento a 5 años. Rev Odont Mex. [internet] 2010 [Citado mar 2022];14(4):249-257. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-199X2010000400249
 68. En México, la enfermedad periodontal tiene una prevalencia de 70 por ciento. UNAM [Internet] 2016 [citado 2022 Sep]. Disponible en: http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2016_476.html
 69. Curbelo Sofia, Meneses Romina, Pereira-Prado Vanesa, Tapia Gabriel. Regeneración ósea como un ejemplo de ingeniería tisular en odontología, con énfasis en el desarrollo de los andamios. Odontoestomatologia [Internet] 2020 [citado 2022 Sep];22(36):74-86 Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392020000300074&lng=es. Epub 01-Dic-2020.
 70. Morales Navarro Denia. Ingeniería tisular como puntal de la medicina regenerativa en estomatología. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2014 Sep [citado 2022 Sep 20];51(3):288-304. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072014000300006&lng=es.



71. Samuel LL, Céspedes NL, Villalón MF. La pérdida dentaria. Sus causas y consecuencias. *Revista de Medicina Isla de la Juventud* [Internet]. 2018 [cited 2022 Sep 21];19(2) Disponible en: <http://www.remij.sld.cu/index.php/remij/article/view/212/417>
72. Real Academia Española. *Diccionario Usual*. Lema.rae.es. [Internet]. 2017 [Citado 17 Nov]. Disponible en: <Http://lema.rae.es/drae2001/srvsearch?Id=f5yivaxrdxx2ef4tvyd>
73. Jawetz M y. A. *Microbiología médica* [Internet]. México, D.F.: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V.; 2011. Disponible en: https://cmapspublic3.ihmc.us/rid=1RP7PC45V-WZK14Y-1H7Z/Microbiologia_medica_Jawetz.pdf
74. Biología. *InfoBiología*. [Internet]. 2015 [citado 2022 Sep]. Disponible en: <http://Http://www.infobiologia.net/2015/08/ramas-biologia>.
75. Células madre [Internet]. *Sobrecelulasmadre.com*. 2017 [Citado Nov 2021]. Disponible en: <Https://www.sobrecelulasmadre.com/plasticidad-celular.htm>
76. Hojas, u. P. P. B. U. *Facultad de ciencias farmaceuticas, bioquímicas y biotecnológicas escuela profesional de ingeniería biotecnológica* (doctoral dissertation, universidad católica de Santa María). Curso de métodos físico químicos en biotecnología [Internet]. 2007 [citado 2022 Sep];1(1):1-102 Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/233005169.pdf>
77. Saito E, Liu Y, Migneco F. Hollister Strut size and surface area effects on long-term in vivo degradation in computer designed poly(L-lactic acid) three-dimensional porous scaffolds. *Acta Biomater.* [Internet]. 2012 [cited 2022 Sep 21]; 8(7): 68–77 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/221974796_Strut_size_and_surface_area_effects_on_long-term_in_vivo_degradation_in_computer_designed_polyL-lactic_acid_three-dimensional_porous_scaffolds
78. ISO 10993-5:2009 Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. *Iso.org*. [Internet]. 2009 [citado 2022 Sep] Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/>
79. Guerrero Gutierrez GR. Aislamiento, cultivo, caracterización y criopreservación de células madre Mesenquimales de la pulpa dental humana de terceros molares.[internet] 2020 [citado 2022 Sep] Disponible en: https://tesiumam.dgb.unam.mx/F/EICRV5P9HMTFNQPBRJTIKE2KEN8EMYJTGQ33JRU EI763BCNNQ9-02815?func=find-b&local_base=TES01&request=Aislamiento%2C+cultivo%2C+caracterización+y+criopreservación+de+células+madre+Mesenquimales+de+la+pulpa+dental+humana+de+terceros+molares.+&find_code=WRD&adjacent=N&filter_code_2=WYR&filter_request_2=&filter_code_3=WYR&filter_request_3=
80. Serra T, Planell JA, Navarro M. High-resolution PLA-based composite scaffolds via 3-D printing technology. *Acta Biomater.* [internet] 2013 [citado 2022 Sep];9(3):21–30 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23142224/>
81. Saito E, Liu Y, Migneco F. Hollister Strut size and surface area effects on long-term in vivo degradation in computer designed poly(L-lactic acid) three-dimensional porous scaffolds. *Acta Biomater.* [internet] 2012 [citado 2022 Sep];8(7): 68–77 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/221974796_Strut_size_and_surface_area_effects_on_long-term_in_vivo_degradation_in_computer_designed_polyL-lactic_acid_three-dimensional_porous_scaffolds



82. Zhou H, Lawrence JG, Bhaduri. Fabrication aspects of PLA-cap/PLGA-cap composites for orthopedic applications. *Acta Biomater.* [internet]. 2012 [citado 2022 Sep] ;8(6):1999–2016 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22342596/>
83. Granados MV, Montesinos-Montesinos JJ, Álvarez-Pérez MA. Adhesión y proliferación de las células troncales mesenquimales de médula ósea en andamios fibrilares de poli (ácido L-láctico). *PLA) Revista mexicana de ingeniería biomédica* [Internet]. 2017[Citado May 2022];38:88–96. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17488/rmib.38.1.2>



Anexo

Líder emprendedor en el programa de entrenamiento en emprendimiento en *Customer Discovery* con el tema: Banco de células troncales de la región oral 2017


México


El Nodo Binacional del BAJÍO otorga el presente


**COHORTE
2017**

CERTIFICADO DE TERMINACIÓN

A Nathalia E. Calleja quien fungió como
Líder Emprendedor del proyecto:
Banco de células troncales adultas de la región oral

Por su conclusión exitosa del programa de entrenamiento en emprendimiento en
Customer Discovery

Realizado del 31 de julio al 22 de septiembre de 2017 con duración de más de 150 horas

Irapuato, Gto., a 22 de septiembre de 2017


Dr. Agustino Martínez Antonio
Líder de NoBI Bajío


Dra. Candy Flores Gracia
Lideresa de Instructores





Participación en el marco del Primer encuentro InterENES con el trabajo “Medios de cultivo para la proliferación celular”



Unidad León
Escuela
Nacional de
Estudios
Superiores



ESCUELA
NACIONAL
de ESTUDIOS
SUPERIORES
UNIDAD MORELIA

Otorgan la presente

CONSTANCIA

a:

Nathalia Estefania Calleja López, Maria de Jesús Guerrero Gutiérrez,
René Garcia Contreras

Por su participación académica con el trabajo

“Medios de cultivo para la proliferación celular”

En el marco del Primer Encuentro InterENES

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

León, Guanajuato a 26 de abril de 2018

Dra. Laura Susana Acosta Torres

Directora

PRIMER ENCUENTRO
inter
enes

Dra. Diana Tamara Martínez Ruiz

Directora



Participación en el XXVI Encuentro Nacional y XVII Iberoamericano de Investigación en Odontología con el trabajo: "Impresión 3D de andamios a base de PLA y sus efectos en cultivo con células madre dentales" en Noviembre 2018



Cartel de Reconocimiento otorgado por la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y la Sociedad Nacional de Investigadores en Odontología (SNO) a un grupo de investigadores por su participación en el XXVI Encuentro Nacional y XVII Iberoamericano de Investigación en Odontología. El cartel incluye logos de la UNAM y SNO, el nombre de la institución, los nombres de los investigadores reconocidos, el motivo del reconocimiento, el título del evento, y las firmas de la Directora de la Escuela Nacional de Estudios Superiores y el Presidente de la SNO.

Universidad Nacional Autónoma de México
Escuela Nacional de Estudios Superiores
Unidad León

**Otorga el presente
RECONOCIMIENTO a:**

Nathalia Estefania Calleja López,
María de Jesus Guerrero Gutierrez, René García Contreras,
Laura Susana Acosta Torres, Rosa Elvira Nuñez Anita

Por la presentación del cartel

Impresión 3D de andamios a base de ácido poliláctico (PLA) y sus efectos
en cultivo con células madre dentales


XXVI ENCUENTRO NACIONAL Y XVII IBEROAMERICANO DE
**Investigación
en Odontología**

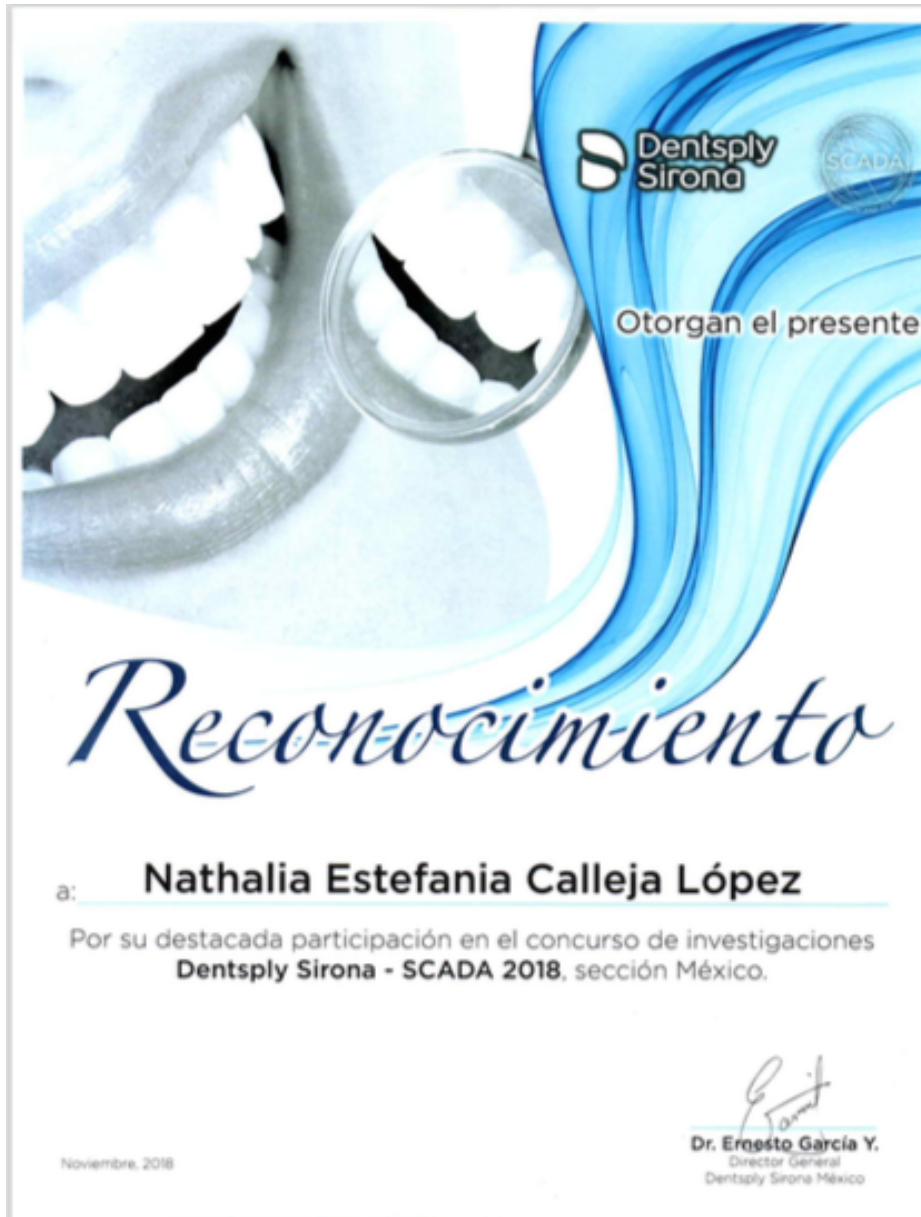

Dra. Laura Susana Acosta Torres
Directora
Escuela Nacional de Estudios Superiores,
Unidad León

León, Gto. 7 al 9 de Noviembre de 2018


Dr. Jorge Alanís Tavira
Presidente
Sociedad Nacional de Investigadores
en Odontología (SNO) A.C.



Participación y 1er Lugar en el concurso nacional de investigaciones Dentsply-Sirona SCADA 2018 con el trabajo: "Impresión 3D de andamios a base de PLA y sus efectos en cultivo con hDPSC"







Participante como co-autora en el VIII Simposio Nacional, Encuentro Nacional de Estomatología en La Habana Cuba : "Impresión 3D de andamios a base de PLA y sus efectos en cultivo con células troncales de la pulpa dental humana"

 
Sociedad Cubana de Estomatología ENSAP
VISIÓN SALUD BUCAL
VIII SIMPOSIO NACIONAL

ENCUENTRO INTERNACIONAL DE ESTOMATOLOGÍA
CERTIFICADO

A: Dr.C René García Contreras, Nathalia Esthefania Calleja López, Ángel D. Paulino González, Laura S. Acosta Torres Rosa E. Nuñez Anita.

.....

Título: Impresión 3D de andamios a base de Ácido poliláctico (PLA) y sus efectos en cultivo con células troncales de la pulpa dental humana.

.....

Conferencia Mesa Redonda Tema Libre Cartel comentado

DECRETAMEN NÚM. 090/18 CRÉDITO 2

La Habana, 18 y 19 de octubre de 2018


.....
Presidente




.....
Secretario



Participación en el Simposio de Biomateriales ENES-UG con el trabajo: "Impresión 3D de andamios a base de PLA y sus efectos en cultivo con hDPSC" en Febrero 2019





Coautor del manual de prácticas del laboratorio para la enseñanza del aislamiento, cultivo y caracterización de células madre mesenquimales de la pulpa dental humana. 2019.



Autores

- Dr. René García Contreras
- Dra. Laura Susana Acosta Torres
- Dra. Ma. Concepción Arenas Arroceña

Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LII),
Área de Nanoestructuras y Biomateriales,
Escuela Nacional de Estudios Superiores,
Unidad León, UNAM.

- Dra. Rosa Elvira Nuñez Anita

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

- LO. Angel David Paulino González


Estudiante de la Maestría en Ciencias Odontológicas, Escuela
Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, UNAM.

- C. Nathalia Estefanía López Calleja
- C. María de Jesús Guerrero

Estudiantes de la Licenciatura en Odontología Escuela Nacional
de Estudios Superiores, Unidad León, UNAM.



Participante en IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition en Vancouver, BC, Canada, 2019, presentando el trabajo: *Effect of 3D-printing-scaffolds Based on PLA in Culture With hDPSC.*



IADR
International Association
for Dental Research

VERIFICATION OF ATTENDANCE AND PRESENTATION

The International Association for Dental Research verifies that:

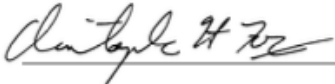
Nathalia E. Calleja

attended the 2019 IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition
in Vancouver, BC, Canada, June 19-22, 2019, and presented the following research:

Effect of 3D-printing-scaffolds Based on PLA in Culture With hDPSC

ADA CERP® | Continuing Education
Recognition Program The International Association for Dental Research
is an ADA CERP Recognized Provider.

ADA CERP is a service of the American Dental Association to assist dental professionals in identifying quality providers of dental education. ADA CERP does not approve or endorse individual courses or instructors, nor does it imply acceptance of credit hours by boards of dentistry.
Concerns or complaints about a CE provider may be directed to the provider or the ADA CERP at www.ada.org/cerp.



Christopher H. Fox, D.M.D., D.M.Sc.
Chief Executive Officer, IADR/AADR



Consentimiento Informado



Universidad Nacional Autónoma de México
Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León

Conforme a la NOM-168-SSA1-1998
 y a la NOM-013-SSA2-2006

CONSENTIMIENTO INFORMADO

NOMBRE DEL PACIENTE _____

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana 168-SSA1-1998. Del expediente clínico médico, publicado el lunes 14 de diciembre de 1998, en su capítulo 10.1.1 es presentado este documento escrito y firmado por el paciente, persona responsable o tutor. A través de este documento acepta, bajo la debida información de los riesgos y los beneficios esperados del tratamiento quirúrgico a realizar. Por consiguiente y en calidad de paciente o responsable del paciente:

DECLARO

1. Estoy enterado (a) y acepto que para iniciar el plan de tratamiento, deberá integrarse previamente mi expediente (o del paciente del cual soy padre o tutor), que cuenta con radiografías con interpretación de las mismas, plan de tratamiento y los estudios que se consideren necesarios para complementar dicho expediente. Estoy consciente y enterado (a) de que la información que se aporta en el interrogatorio de mi expediente (o del paciente del cual soy padre o tutor) es completa y veraz y que cualquier dato que no fuera aportado a esta, no involucra ninguna responsabilidad para el Dr. (a):

2. Que he sido claramente informado (a) sobre mi diagnóstico (o del paciente del cual soy padre o tutor, el cual es

3. Que se me ha explicado detalladamente el plan de tratamiento para atender mi padecimiento (o del paciente del cual soy padre o tutor), el cual consiste en

4. Entiendo el procedimiento a realizar, los riesgos que implica y la posibilidad de las complicaciones me han sido explicadas por el odontólogo a cargo y comprendo perfectamente la naturaleza y consecuencias del procedimiento, se me ha explicado que las posibles complicaciones pueden ser:

5. Que cuento con la información suficiente sobre los riesgos y beneficios durante mi tratamiento quirúrgico (o del paciente del cual soy padre o tutor), y sé que puede cambiar de acuerdo a las circunstancias quirúrgicas que surjan durante el mismo.
6. Que puedo requerir de tratamientos complementarios a los que previamente me han mencionado, con el objeto de mejorar el curso de mi padecimiento y del tratamiento (o del paciente del cual soy padre o tutor).
7. Que se me ha informado, que el personal médico que me atiende (o que atiende al paciente del cual soy padre o tutor), cuenta con experiencia y con el equipo necesario para mi tratamiento y aun así, no me exime de presentar complicaciones durante éste.
8. Consiento para que se me administre anestesia general balanceada, anestesia por sedación endovenosa y anestesia local, si así lo requiere el tratamiento (o al paciente del cual soy padre o tutor).
9. Autorizo a mi Odontólogo (o del paciente del cual soy padre o tutor) a que conserve con fines científicos o didácticos aquellos tejidos, partes u órganos como resultado del tratamiento quirúrgico al que me someteré. Además permito la toma de radiografías y fotografías de mi cabeza, cuello y cavidad bucal, así como la toma de muestras de saliva y tejidos, para los propósitos de diagnóstico, plan de tratamiento, por razones de educación científica, así como la demostración o publicación de las mismas de ser necesario.
10. Estoy consciente que como parte de mi tratamiento (o del paciente del cual soy padre o tutor) puedan ser prescritos algunos medicamentos en beneficio del mismo y de mi salud, que serán anotados en la receta médica, y que debo seguir cuidadosamente las instrucciones para su uso y administración.
11. Y que soy responsable de comunicar mi decisión y lo antes informado a mi familia.

ACEPTO

 NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE O TUTOR

 NOMBRE Y FIRMA DEL PROFESOR A CARGO

 NOMBRE Y FIRMA DE UN TESTIGO

