



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIDAD LEÓN**

**TÍTULO:**

**IMPLANTES DE Ti BIOFUNCIONALIZADOS CON SUSTANCIAS  
NATURALES EN ODONTOLOGÍA: REVISIÓN SISTEMÁTICA Y  
ENSAYO *IN VITRO***

**MODALIDAD DE TITULACIÓN:**

**ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA**

**P R E S E N T A :**

**RUBÉN TORRES PERALES**

**TUTORA:**

**M. EN C. PATRICIA ALEJANDRA CHÁVEZ GRANADOS**

**ASESOR:**

**DR. RENÉ GARCÍA CONTRERAS**



**UNAM**  
ENES LEÓN

**LEÓN, GUANAJUATO, MÉXICO. 2023**



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.

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la oportunidad de estudiar en la máxima casa de estudios del país.

A la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, por brindarme los espacios y oportunidades para desenvolverme y crecer profesionalmente.

Al laboratorio de Nanoestructuras y Biomateriales por brindarme las herramientas y espacio necesario para realizar este proyecto.

A la Clínica de Medicina Familiar del ISSSTE de León, Guanajuato, por abrirme las puertas y permitirme aprender mucho durante mi estancia en el servicio social

A los programas PAPIIT IT200922 y PAPIIME PE203622, por el financiamiento otorgado para la realización del proyecto.

A los profesores de la licenciatura por su profesionalismo, empeño, creatividad y comprensión, en cada lección, práctica y asesoría.

A mi tutora la Dra. Alejandra Patricia Chávez Granados, por apoyarme y guiarme en este trabajo de investigación, por el tiempo y la paciencia que tuvo conmigo en cada asesoría y plática para llevar a cabo este proyecto.

A mi asesor el Dr. René García Contreras por brindarnos conocimiento y adentrarnos al campo de la investigación odontológica, siempre guiándonos y explicándonos a mí y a mis compañeros.

## **Dedicatoria**

A mi padre Rubén y a mi madre Elizabeth, por siempre brindarme su apoyo incondicional en cada etapa y momento importante de mi vida, por siempre creer en mí y alentarme todos los días a superarme siendo un gran pilar en mi formación académica y personal. Por todo el cariño y amor que diariamente me demuestran, ustedes son con quienes compartiré este y todos los logros de mi vida, los amo y los quiero mucho, gracias por siempre estar conmigo.

A mi hermana Diana, quien es mi compañera de vida, mi confidente, mi gran amiga y mi ejemplo a seguir, gracias por siempre estar dispuesta a darme tu apoyo incondicional, tu consejo y sobre todo tu amor.

A mi tía Isis y a mis abuelitos Raúl y Margarita, gracias por siempre cuidarme, quererme y procurarme durante toda mi vida.

A Megan y Tom, gracias por su amor y su compañía en mis horas de estudio.

A Adriana, gracias por caminar a mi lado en esta etapa de mi vida, por todos los momentos maravillosos que pasamos, por brindarme tu apoyo, amor y cariño.

A Jorge y Alex, gracias por acompañarme durante toda la carrera, por el apoyo, los consejos y las risas que nunca faltaron.

## Índice

|  |           |
|--|-----------|
| Abreviaturas .....   | 5         |
| Resumen.....   | 6         |
| Abstract.....  | 8         |
| <b>1. Introducción.....</b>  | <b>10</b> |
| <b>1.1. Sustancias naturales.....</b>  | <b>10</b> |
| <b>1.2. Función de los extractos naturales en los procesos de osteointegración... 11</b> | <b>11</b> |
| <b>1.3. Cafeína .....</b>  | <b>13</b> |
| <b>1.4. Cafeína en odontología.....</b>  | <b>15</b> |
| <b>1.5. Titanio.....</b>   | <b>15</b> |
| <b>1.5.1. Titanio en implantología dental .....</b>                                      | <b>15</b> |
| <b>1.5.2. Tratamiento superficial del Titanio .....</b>                                  | <b>18</b> |
| <b>1.5.3. Biofuncionalización .....</b>  | <b>20</b> |
| <b>1.6. Células troncales mesenquimales.....</b>   | <b>21</b> |
| <b>1.7. Células troncales mesenquimales dentales .....</b>                               | <b>22</b> |
| <b>1.8. Células hDPSC.....</b>   | <b>23</b> |
| <b>1.9. Cultivos celulares.....</b>  | <b>24</b> |
| <b>2. Revisión sistemática .....</b>   | <b>25</b> |
| <b>2.1. Metodología .....</b>  | <b>25</b> |
| <b>2.1.1. Estrategia de búsqueda y bases de datos: .....</b>                             | <b>25</b> |
| <b>2.1.1.1 Criterios de selección .....</b>  | <b>28</b> |
| <b>2.1.1.2 Criterios de inclusión .....</b>  | <b>28</b> |
| <b>2.1.1.3 Criterios de exclusión .....</b>  | <b>28</b> |
| <b>2.1.1.4 Criterios de eliminación.....</b>   | <b>28</b> |
| <b>2.2 Resultados .....</b>  | <b>29</b> |
| <b>2.2.1 Análisis de calidad.....</b>  | <b>35</b> |
| <b>2.2.2 Riesgo de sesgo .....</b>   | <b>36</b> |
| <b>2.3 Discusión.....</b>  | <b>38</b> |
| <b>2.4 Conclusión.....</b>   | <b>39</b> |
| <b>3. Estudio Experimental <i>In vitro</i>.....</b>                                      | <b>41</b> |
| <b>3.1. Planteamiento del problema.....</b>  | <b>41</b> |
| <b>3.2. Justificación.....</b>   | <b>41</b> |
| <b>3.3. Pregunta de investigación .....</b>  | <b>42</b> |

|   |    |
|---|----|
| <b>3.4. Objetivos</b> .....                               | 42 |
| <b>3.4.1. Objetivo General</b> .....                      | 42 |
| <b>3.4.2. Objetivos Específicos</b> .....                 | 42 |
| <b>3.5. Hipótesis</b> .....                               | 43 |
| <b>3.6. Diseño de estudio</b> .....                       | 43 |
| <b>3.6.1. Variables de estudio</b> .....                  | 43 |
| <b>3.6.2. Criterios de selección</b> .....                | 43 |
| <b>3.7. Metodología experimental</b> .....                | 44 |
| <b>3.7.1. Preparación de las placas de Titanio</b> .....  | 44 |
| <b>3.7.2. Subcultivo de HDPSC</b> .....                   | 45 |
| <b>3.7.3. Ensayo de MTT y lectura de resultados</b> ..... | 46 |
| <b>3.8. Resultados</b> .....                              | 47 |
| <b>3.9. Discusión</b> .....                               | 48 |
| <b>3.10. Conclusión</b> .....                             | 50 |
| <b>4. Referencias</b> .....                               | 51 |

## Abreviaturas

| Abreviatura      | Palabra                                 |
|------------------|---|
| ASC              | Células adultas                         |
| ESC              | Células embrionarias                    |
| PDLSC            | Células madre del ligamento periodontal |
| SCAP             | Células madre de la papila apical       |
| DEPC             | Células precursoras del folículo dental |
| MSC              | Células troncales mesenquimales         |
| hDPSC            | Células troncales pulpares humanas      |
| DMSO             | Dimetilsulfóxido                        |
| MED              | Dipterocarpus tuberculatus              |
| MTT              | Ensayo colorimétrico celular            |
| GGe              | Extracto de ajo y jengibre              |
| GMPc             | Guanosin monofosfato cíclico            |
| UV               | Irradiación ultravioleta                |
| MEC              | Matriz extracelular                     |
| Mg               | Miligramos                              |
| ml               | Mililitros                              |
| Mm               | Milímetros                              |
| AMPc             | Monofosfato de adenosina cíclico        |
| OMS              | Organización mundial de la salud        |
| TiO <sub>2</sub> | Óxido de Titanio                        |
| O <sub>2</sub>   | Oxígeno                                 |
| SNC              | Sistema nervioso central                |
| SD               | Sprague Dawley                          |
| CT               | Tomografía computarizada                |
| Ti               | Titanio                                 |
| PTi              | Titanio puro                            |

## Resumen

El crecimiento constante en el área de implantología dental ha promovido el interés de los pacientes, lo que requiere de una constante innovación y/o actualización para mejorar las propiedades de los implantes dentales. El Titanio, por sus características biocompatibles, es el material más utilizado. En consecuencia, sustancias naturales, sintéticas y farmacológicas pueden integrarse en la superficie del implante a través del método de biofuncionalización con el propósito de mejorar la calidad y cantidad de los tejidos periimplantarios, que son cruciales para la estabilidad y éxito del tratamiento.

**Objetivo:** Evaluar la eficacia de la biofuncionalización del Titanio con cafeína en la adhesión y proliferación celular, y el impacto de las sustancias naturales en la literatura científica a través de una revisión sistemática.

**Metodología:** Para la funcionalización de las placas de Titanio (Ti), inicialmente se lavaron y esterilizaron a 121 °C, se incubaron con 300 µL de cafeína [0.025 µg/mL], y se dejaron secar a 25 °C. Brevemente, se realizó un subcultivo de hDPSC, 300 µL de células se incubaron sobre las placas de Ti por 1 h a 25 °C. Para evaluar el proceso de adhesión se realizó ensayo de MTT; las placas se incubaron con 300 µL de MTT [0.02 mg/mL] 4 h a 25 °C. Subsiguiente, se colocaron 300 µL de dimetilsulfóxido (DMSO). Por último, se distribuyeron 100 µL del ensayo de MTT en una placa de 96 pozos, la lectura se realizó a 570 nm. Como grupos controles se consideraron: (1) Experimental: Ti+Cafeína. (2) Positivo: Ti+Sin/Cafeína. (3) Negativo: Sin Cafeína. La parte experimental se realizó en condiciones estériles. Para analizar los resultados obtenidos se emplearon las pruebas de normalidad *Shapiro Wilks* y *t-Student*.

**Resultados:** Las placas de Ti biofuncionalizadas con cafeína mostraron mejor adherencia (8.5%) y proliferación (25%) de hDPSC superior a comparación con el grupo control positivo.



**Conclusión:** El estudio de la biofuncionalización de los implantes de Ti con diferentes sustancias favorece las propiedades de adhesión inicial y proliferación celular. La cafeína se plantea con un metabolito con alto potencial para biofuncionalizar implantes con aplicación dental.

**Palabras clave:** Biofuncionalización, sustancias naturales, cafeína, Titanio, Hdpsc

## Abstract

Constant growth in dental implantology area has promoted the interest of patients, which requires constant innovation and/or updating to improve the properties of dental implants. Titanium, due to its biocompatible characteristics, is the most widely used material. Consequently, natural, synthetic, and pharmacological substances can be integrated into the implant surface through the biofunctionalization method with the purpose of improving the quality and quantity of peri-implant tissues, which are crucial for the stability and success of the treatment.

**Objective:** Evaluate the efficacy of the biofunctionalization of Titanium with caffeine on cell adhesion and proliferation, and the impact of natural substances on the scientific literature through a systematic review.

**Methodology:** For the biofunctionality of the Titanium (Ti) plates, they were initially washed and sterilized at 121°C, incubated with 300 µL of caffeine [0.025 µg/mL], and allowed to dry at 25°C. Briefly, hDPSC subculture was performed, 300 µL of cells were incubated on Ti plates for 1 hr at 25°C. To evaluate the adhesion process, an MTT test was performed; the plates were incubated with 300 µL of MTT [0.02 mg/mL] for 4 hrs at 25°C. Finally, 100 µL of the MTT assay was distributed in a 96-well plate, reading was performed at 570 nm. The following were considered as control groups: (1) Experimental: Ti+Caffeine. (2) Positive: Ti+Sin/Caffeine. (3) Negative: Without caffeine. The experimental part was carried out under sterile conditions. To analyze the results obtained, the Shapiro Wilks and t-Student normality test were used.

**Results:** The Ti plates biofunctionalized with caffeine showed better adhesion (8.5%) and higher proliferation (25%) of hDPSC compared to the positive control group.

**Conclusion:** The study of the biofunctionalization of Ti implants with different substances favors the properties of initial adhesion and cell proliferation. Caffeine is considered a metabolite with high potential to biofunctionalized dental implants.

**Keywords:** Biofunctionalization, natural compounds, caffeine, Titanium, Hdpsc

## 1. Introducción

### 1.1. Sustancias naturales

Un estudio realizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre la salud bucodental, se plasma que, a pesar del aumento de la publicidad sobre la salud bucal en distintas poblaciones de diferentes países, las enfermedades bucodentales todavía son un problema de salud en el mundo <sup>(1)</sup>. Esto principalmente al coste que representan los tratamientos, siendo las enfermedades orales las más costosas de atender en algunos países <sup>(2)</sup>.

La enfermedad periodontal y la caries dental son de los problemas de salud más frecuentes en México y a nivel mundial, siendo la causa principal de pérdida dental debido a que un gran número de personas no tienen el conocimiento o la motivación para llevar una salud bucal adecuada, en especial aquellas personas que habitan en zonas rurales <sup>(3)</sup>. Por lo que existe la necesidad de crear estrategias que ayuden a la población y a los odontólogos a combatir con estas enfermedades de forma simultánea, así como evitar la resistencia bacteriana debido al uso constante de antibióticos y bactericidas artificiales <sup>(3,6)</sup>.

México cuenta con una gran variedad y diversidad de plantas medicinales, las investigaciones para indagar acerca de sus efectos sobre la salud oral han sido muy limitados <sup>(5)</sup>. Se ha demostrado en diversos estudios del área odontológica que las hierbas naturales utilizadas de forma exclusiva o en combinación, son seguras y eficaces en el manejo de varios problemas de salud bucal como lo puede ser la halitosis, periodontitis, úlceras bucales y caries dental <sup>(4)</sup>.

El método de preparación varía dependiendo de la zona de extracción de la planta ya sea a partir de sus raíces, tallos u hojas, la forma de administración puede ser local, en presentación de enjuague o tópico <sup>(5)</sup>. Muchos de estos extractos y sustancias naturales han sido utilizados como antisépticos, antibacterianos, antimicrobianos, antioxidantes, antivirales y analgésicos <sup>(5)</sup>.

Las hierbas deben sus propiedades curativas a la concentración del compuesto biológicamente activo que poseen, los cuales son flavonoides, cumarinas, glucósidos, ácidos fenólicos, resinas, taninos, sales minerales y aceites esenciales<sup>(3)</sup>. En los últimos años diversas áreas de la odontología como implantología dental, periodoncia y endodoncia han comenzado a implementar sustancias y extractos naturales en sus procedimientos. El uso de propóleo, fruta de noni, raíz de bardana y hoja de neem, han sido utilizados como medicamento intraconducto mostrando excelentes resultados y promoviendo la integración de agentes herbolarios en la terapéutica pulpar<sup>(5)</sup>.

Diversos estudios han utilizado extractos naturales originarios de México y han sido eficaces en la prevención de enfermedades gingivales, así como en la acumulación de la placa dentobacteriana sobre la zona supragingival, dichas sustancias naturales son la Escobilla (*Sida rhombifolia L.*), aguacate (*Persea americana Miller*), cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*), cornezuelo (*Acacia cornigera*), aloe vera (*Acemannan*) y extractos de ajo y jengibre (GGe)<sup>(5,7)</sup>. Para aliviar el dolor dental desde las épocas prehispánicas e inclusive actualmente, el empleo de extractos herbolarios como lo son el epazote, flor de manita, chilcuague, cacao, chile de árbol y huizache, siguen siendo parte de la medicina herbolaria en México como forma de solucionar de manera económica el malestar de origen dental<sup>(5)</sup>.

## **1.2. Función de los extractos naturales en los procesos de osteointegración**

La osteointegración consiste en la unión estructural y funcional entre la superficie del implante y el hueso receptor, sin embargo, su mantenimiento depende del conocimiento clínico para lograr una adecuada cicatrización, reparación y remodelación del tejido óseo alrededor del implante<sup>(12)</sup>.

La osteointegración se activa al momento en que la matriz ósea presenta un traumatismo, provocando el inicio de la cicatrización lo cual promueve la producción

de líquido extracelular, generando proteínas no colágenas y factores de crecimiento para comenzar con el proceso de reparación <sup>(11)</sup>.

Los compuestos derivados de las plantas han sido de mayor interés para los investigadores en la búsqueda de nuevos candidatos para lograr una mejor regeneración ósea sin crear efectos secundarios indeseables. La creación de nuevas alternativas terapéuticas para prevenir y tratar defectos o fracturas óseas se ha convertido en un objetivo de gran interés en el área de la medicina regenerativa, con el propósito de mejorar la calidad y expectativa de vida de muchas personas en todo el mundo <sup>(13)</sup>.

La terapia de regeneración ósea forma parte obligatoria de muchos procedimientos en odontología <sup>(9)</sup>. El área de implantología dental ha estado en constante innovación y evolución ya que el éxito de los tratamientos ha ido en aumento debido a que en la práctica clínica odontológica y la rehabilitación dental en pacientes que han perdido piezas dentales unitarias, múltiples o totales han logrado tener un tratamiento beneficioso de manera estética y funcional a largo plazo, debido a que está relacionado a un adecuado desarrollo del proceso de la osteointegración <sup>(8)</sup>.

La medicina herbolaria ha comenzado a participar en investigaciones relacionadas al área de la implantología, en donde ya se han realizado algunos estudios *in vitro* e *in vivo*, con el propósito de analizar las propiedades que presentan ciertas sustancias y extractos naturales sobre los procesos de regeneración ósea con el objetivo de mejorar la osteointegración sobre implantes de uso ortopédico y dental, ver tabla 1 <sup>(10)</sup>.

Estos extractos naturales pueden desempeñar diferentes actividades farmacológicas en función y diferenciación de los osteoclastos, debido a la presencia de propiedades antioxidantes y antiinflamatorias que pueden optimizar la regeneración ósea <sup>(13)</sup>.

### **Tabla 1. Extractos naturales que promueven la osteointegración**

| AUTOR                             | SUSTANCIA NATURAL  | EFEECTO EN OSTEOINTEGRACIÓN  |
|-----------------------------------|--|--|
| WANG Z (2017) <sup>(43)</sup>     | <i>Icariin (Herba Epimedii)</i>  | Mejora la bioactividad y la biocompatibilidad en implantes de Ti al mejorar el crecimiento óseo e inhibir la reabsorción ósea.   |
| TENKUMO (2020) <sup>(41)</sup>    | Extracto de semilla de uva rico en <i>proantociacianidina</i>                    | Previene la pérdida ósea y la degradación de la osteointegración, por sus propiedades antiinflamatorias y anti oxidativas.   |
| PACHIMALLA (2020) <sup>(42)</sup> | Extracto de <i>Acemann</i> del gel de <i>Aloe vera</i> y <i>Moringa olifeira</i> | Incremento de la actividad osteoblástica y nueva formación ósea mediante la estimulación de células osteoblásticas, promoviendo la osteointegración mediante la proliferación celular. |
| JUNG (2022) <sup>(44)</sup>       | <i>Dipterocarpus tuberculatos</i>  | Induce la adhesión, supervivencia y proliferación de células sobre las superficies del implante de Ti y promoviendo la osteointegración.   |
| BHAT (2022) <sup>(45)</sup>       | <i>Cissus quadrangularis</i>   | Estimula las células progenitoras osteoblásticas depositándolas en la superficie de los implantes y favoreciendo el crecimiento óseo alrededor del implante.                           |
| KANG (2020) <sup>(46)</sup>       | Extracto de ginseng rojo coreano ( <i>Panax ginseng</i> )                        | Al inducir y promover la actividad osteoblástica se produce una alta formación de cantidad y densidad ósea alrededor del implante, favoreciendo y potencializando la osteointegración. |

### 1.3. Cafeína

Siendo una de las sustancias que más se consumen diariamente alrededor del mundo por todas las edades y niveles económicos <sup>(14)</sup>, la cafeína es un producto natural que se encuentra en más de 80 especies de plantas, principalmente la cafeína es un extracto natural que proviene de granos de café o cacao, nueces de cola y hojas de té <sup>(16)</sup>, siendo comercializada en productos de consumo diario como lo es el té, café, refrescos, dulces, chocolates, helados, bebidas energizantes, yerba mate e inclusive en jugos <sup>(14)</sup>.

Fue en el año de 1819 cuando el químico de origen alemán llamado Friedlieb Ferdinand Runge aisló la cafeína de sustancias como el café y del té,

posteriormente en el año de 1875 E. Fisher describió la estructura y composición química <sup>(17)</sup>. Siendo un alcaloide metilxantámico, la cafeína es derivada del grupo de las xantinas, que forma parte del grupo de las purinas y se caracteriza por sus efectos psicoestimulantes <sup>(17)</sup>.

El mecanismo de acción de la cafeína al pertenecer al grupo de las metilxantinas y de las purinas se une directamente a los receptores de la adenosina A1 y A2a, comportándose como antagonistas competitivos <sup>(17,19)</sup>, provocando una inhibición de la fosfodiesterasa que origina un aumento en los niveles de GMPc y AMPc, la interrupción de los canales de Ca de tipo N y la excitación de los canales de K<sup>+</sup> <sup>(17,19)</sup>. Una de las principales actividades de la adenosina es que restringe la liberación de dopamina, serotonina, noradrenalina, serotonina y acetilcolina, que son los principales neurotransmisores, sin embargo, la cafeína realiza una actividad contraria, debido a que los receptores A2a se relacionan con receptores de dopamina D2 y de encefalina en las neuronas del estriado <sup>(17,19)</sup>.

La cafeína proporciona un efecto psicoestimulante ya que produce una excitación en el sistema nervioso central (SNC), debido al aumento de noradrenalina y en consecuencia a la inhibición de la percepción de fatiga y cansancio, lo que provoca un aumento en el estado de alerta <sup>(15,17,19)</sup>. Las metilxantinas provocan una broncodilatación debido al estímulo en el sistema respiratorio al limitar el movimiento del diafragma <sup>(17)</sup>. Al administrar cafeína incita un aumento en la presión arterial y proporciona un efecto de vasoconstricción, debido al consumo en grandes cantidades siendo el tope máximo de hasta 300mg/día para no provocar otros efectos adversos en el cuerpo como lo pueden ser el insomnio, migrañas, dolor premenstrual y adicción <sup>(17,19)</sup>. La cafeína no incita o complica la gravedad de las arritmias ventriculares ni tampoco aumenta la posibilidad de tener fibrilación auricular o flutter, a excepción de ingerir dosis considerablemente altas <sup>(17)</sup>. Un promedio diario de ingesta de 2 tazas de café es equivalente a 180 mg/día de cafeína <sup>(53)</sup>.



La cafeína siendo una de las metilxantinas más activas tiene la capacidad de producir vasodilatación a nivel muscular, inhibiendo o disminuyendo la sensación de fatiga y cansancio <sup>(17,18)</sup>.

En algunas investigaciones se han estudiado y analizado los distintos componentes del café (*Coffea arabica* y *Coffea canephora*) y del té verde (*Camellia sinensis*) los cuales su contenido consta de catequinas, cafeína, aminoácidos, carbohidratos, proteínas, clorofila, fluoruro, minerales y otros compuestos aún no definidos <sup>(52)</sup>, en donde la cafeína ha demostrado tener altos niveles de actividad antimicrobiana e impedir el crecimiento de bacterias *E. coli*, *P.aeuroginosa*, *P. mirabilis*, así como bacterias gram + como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cerus* <sup>( 49-51)</sup>.

#### **1.4. Cafeína en odontología**

El consumo de café proporciona a la dieta diaria una alta aportación de antioxidantes debido a sus componentes como la cafeína y el ácido clorogénico, los cuales proporcionan una protección contra diversas enfermedades que se pueden desarrollar en el cuerpo humano, como la periodontitis, la formación de *Candida albicans* y la inhibición de la adherencia en la superficie del esmalte del *Streptococcus mutans* el cual es el principal agente formador de la caries dental <sup>(47-48,53-54)</sup>.

#### **1.5. Titanio**

##### **1.5.1. Titanio en implantología dental**

El área de implantología dental ha estado en constante innovación y evolución ya que el éxito de los tratamientos ha ido en aumento debido a que en la práctica clínica odontológica y la rehabilitación dental en pacientes que han perdido piezas dentales unitarias, múltiples o totales han logrado tener un tratamiento beneficioso de manera estética y funcional a largo plazo, debido a que está relacionado de una manera

proporcional debido a la respuesta cicatrizante de los tejidos periimplantarios y al desarrollo del proceso de osteointegración <sup>(20)</sup>.

La definición de biomaterial tiene origen en la ciencia que estudia la estructura y propiedades de los materiales ya conocidos y su interacción con el medio biológico, en donde se busca establecer un contacto funcional permanente o intermitente con el propósito de reemplazar de manera restaurativa las funciones de articulaciones óseas <sup>(21)</sup>.

Si un material ya sea de origen natural o sintético demuestra que puede ser aplicado en experimentos *in vivo*, como lo puede ser mediante un dispositivo médico o un implante, se le denomina biomaterial <sup>(22)</sup>. El empleo de estos materiales en el cuerpo humano requiere de características y elementos importantes que van desde el diseño, el cual engloba una serie de características como lo puede ser la química superficial, si presenta alteración de nano-micro rugosidad y porosidad, las cuales evitaban el rechazo del material y por lo tanto una posible reintervención quirúrgica <sup>(22)</sup>.

El Titanio (Ti) necesita ser extraído de minerales como la ilmenita y el rutilo, siendo el noveno elemento más abundante en el mundo, en la tabla periódica pertenece al grupo de los elementos de transición y es altamente reactivo, su número atómico es de 22 y su masa atómica de 47.88 <sup>(21)</sup>. En el área de implantología dental el uso del Ti se debe a su capacidad de lograr una alta osteointegración en la zona implantada, este descubrimiento lo realizó Branemark en donde más tarde acuñó el término como una “conexión estructural y funcional directa entre la zona receptora y la superficie del implante portador de carga” <sup>(21)</sup>.

Debido a que el Ti posee propiedades mecánicas, fisicoquímicas, biológicas y tener una alta resistencia a la corrosión al momento de tener contacto con fluidos que se encuentran en el medio ambiente bucal, así como por su bajo coste, por presentar buenos niveles de osteointegración y favorecer la adherencia gingival, se convierte en uno de los biomateriales más empleados en el área de implantología dental <sup>(23)</sup>.

Para su uso en el área de la implantología se clasifica para el Titanio puro (PTi) acorde a su estado de pureza, ductilidad, resistencia y por su capacidad anticorrosiva <sup>(56)</sup>. Se clasifican del 1 al 4, siendo precisamente el 1 y el 4 los únicos que se utilizan en implantología oral, en donde el PTi grado 1 presenta características anticorrosivas, pero presenta poca resistencia, en cambio el grado 4 es el ideal por su alta resistencia a la manipulación mecánica y por presentar un alto rechazo a la corrosión, siendo el más utilizado en implantología dental <sup>(56)</sup>. El éxito clínico del Ti a largo plazo en implantes dentales registra una tasa de 87.8% de aceptación en un estudio que se realizó a través de 36 años <sup>(55)</sup>.

Existen dos factores que determinan la calidad y capacidad de biocompatibilidad de un material: la reacción de los tejidos en el área implantada y la degradación del material en el medio ambiente <sup>(23)</sup>.

La estabilidad y duración en buen estado de un implante depende de diversos factores que se deben tomar en cuenta al momento de la toma de decisiones, dichas características van desde la edad, toxicomanías, sexo, el tamaño del implante, la localización, calidad y volumen óseo de la zona a implantar, enfermedades sistémicas como la osteoporosis, diabetes o que el paciente haya tenido tratamiento con radioterapia y factores inmunitarios presentes en el medio bucal como las bacterias causantes de enfermedad periodontal <sup>(27)</sup>

La pérdida ósea en la zona cráneo mandibular se debe principalmente a enfermedades crónicas, traumatismos y anomalías congénitas, lo que provoca un problema fisiológico y psicológico en el paciente <sup>(24)</sup>. Por lo que la necesidad de restaurar la funcionalidad fisiológica es de suma importancia y un biomaterial debe tener dichas características ya que, al momento de ser insertado en tejido vivo, se inicia una cascada de eventos que inicia con la absorción del biomaterial en la superficie del tejido <sup>(24,22)</sup>. El éxito en el proceso de la osteointegración está relacionado directamente con las características que debe cumplir el diseño del implante seleccionado <sup>(56)</sup>, que constan de cualidades básicas como el diseño, tamaño, geometría y longitud, además de factores modificables como lo puede ser su composición y micro-rugosidad de su superficie <sup>(56)</sup>.

### 1.5.2. Tratamiento superficial del Titanio

El utilizar metales como biomateriales tiene la desventaja de que son materiales artificiales y por lo tanto su nivel de biofuncionalidad es menor <sup>(28)</sup>. Para añadirle biofuncionalidad es necesaria la incorporación de una alteración y modificación superficial, debido a que dicha característica no se puede modificar al momento de la fabricación del material <sup>(28)</sup>. Para una correcta comprensión acerca del funcionamiento y efectos que las distintas técnicas modificadoras que alteran la composición estructural superficial del Ti, es necesario conocer las propiedades que conforman a la capa superficial del Ti <sup>(28)</sup>.

Para la protección contra la corrosión al momento de la exposición a fluidos de la cavidad oral, el Ti desprende una fina capa pasiva de un diámetro aproximado de 1 a 5 nm a una rapidez de 30 ms, esta estructura contiene moléculas de agua que incitan y mantienen la amorfia de la superficie, lo que genera una fina capa de óxido (TiO<sub>2</sub>) la cual una vez formada crea grupos hidroxilo al momento de la exposición al medio ambiente bucal <sup>(26)</sup>, Estos grupos contienen cargas positivas y negativas en donde su carga se determinará mediante el pH de la superficie <sup>(26)</sup>, teniendo un papel importante en la unión e inmovilización de películas así como de mucha importancia debido a que en la fase inicial del tratamiento es cuando se desarrolla la compatibilidad tisular <sup>(26)</sup>. Debido al contenido químico y a las características morfológicas de la capa superficial del Ti, se instiga la actividad de plaquetas sanguíneas, fibrina y estimula la adherencia de células osteogénicas a causa de la formación de la capa de TiO<sub>2</sub>, en donde al momento de la interacción fisicoquímica con los fluidos sanguíneos y salivales de la zona quirúrgicamente intervenida, la capa de TiO<sub>2</sub> acelera el proceso de osteointegración <sup>(20,25-26)</sup>.

La calidad de la superficie de los implantes que tienen uso dental ha sido clasificada en propiedades mecánicas, fisicoquímicas y topográficas <sup>(60)</sup>. Las cualidades mecánicas que se encuentran sobre la superficie del Ti están asociadas directamente con la tensión superficial potencial y con la rigidez del material <sup>(60)</sup>. Las características topográficas están ligadas a las irregularidades de la superficie y las

fisicoquímicas se centran en la energía y carga superficial. Por lo tanto, una superficie de alta energía superficial tendrá mayor afinidad de adsorción <sup>(60)</sup>.

Los tratamientos superficiales en biomateriales como el Ti buscan modificar las características morfológicas y estructurales de la superficie, teniendo como objetivo el dejar intactas las propiedades mecánicas que se necesitan en el área de la implantología dental con el propósito de potencializar, maximizar y mejorar la respuesta tisular y ósea, teniendo como propósito el brindarle al paciente una mejor y más rápida recuperación <sup>(28,29)</sup>.

El cambio en la topografía de la rugosidad y la implementación de recubrimientos en la zona superficial proporcionan un ambiente adecuado para que las proteínas y el crecimiento celular puedan darse, promoviendo la rapidez con la que se desarrolla el proceso de osteointegración, así como, la adhesión gingival y favorecer la actividad antimicrobiana para la inhibición de formación de biopelícula en la zona implantada <sup>(30-31)</sup>.

La alteración superficial a través de la esterilización ha demostrado promover y mantener niveles altos de osteointegración en estudios *in vivo* <sup>(59-60)</sup>. La esterilización mediante una cámara de luz ultravioleta (UV) produce una desinfección de la superficie y al mismo tiempo crea una capa de TiO<sub>2</sub> más delgada, creando mejores resultados a comparación de la esterilización en autoclave <sup>(57)</sup>.

La exposición a irradiación UV induce a una fotocatalisis <sup>(58)</sup> lo que disminuye el porcentaje de carbono de la superficie del implante y aumenta la cantidad de oxígeno, creando una superficie hidrofílica mediante enlaces estructurales de agua mediante la formación de grupos -OH y O<sub>2</sub> sobre la capa de TiO<sub>2</sub>, promoviendo la interacción de proteínas y células óseas <sup>(58)</sup>.

### 1.5.3. Biofuncionalización

La superficie de implantes de Ti puede ser modificada con el propósito de maximizar sus características mediante una serie de circunstancias, las cuales empiezan con la creación de una capa de oxido sobre una superficie pasiva, la reconstrucción y formación de películas pasivas, así como, la formación de un grupo hidroxilo con una superficie activa <sup>(26)</sup>. El recubrimiento de la superficie del implante de uso ortopédico o dental con diversas sustancias naturales y sintéticas que tienen origen natural, han comenzado a ser estudiadas en varios estudios de investigación *in vivo* e *in vitro* <sup>(41-46)</sup>.

Los objetivos principales que se buscan obtener al momento de utilizar una técnica de recubrimiento sobre la superficie de un implante de Ti es el obtener una mejor adhesión y diferenciación celular, permitir la fijación ósea, limitar la cantidad de la solución que se distribuirá sobre los fluidos de la cavidad oral y funcionar de forma terapéutica <sup>(60)</sup>. Al momento de realizar la intervención quirúrgica previamente ya colocado el recubrimiento sobre la superficie del implante a implantar, el recubrimiento se intercala sobre la interfaz del hueso receptor y la superficie del implante, soportando todas las fuerzas empleadas impuestas al implante, creando una tensión en la interfaz hueso-implante debido a la diferencia en el módulo de elasticidad entre la prótesis y el hueso, por lo que si la tensión es superior a la fuerza de la adhesión, el recubrimiento tendrá éxito <sup>(60)</sup>.

Los procedimientos en seco y en húmedo han sido utilizados como técnicas aisladas que se emplean en el área de la implantología dental, siendo la solución acuosa en la que casi en su totalidad se utiliza debido a su adherencia superficial con el implante <sup>(26-28)</sup>. Existen otros métodos adicionales los cuales también de forma de recubrimiento, alteran la superficie del Ti, estas técnicas son la inmovilización de poli(etilenglicol), inmovilización de biomoléculas como proteína morfogenética ósea, péptido, colágeno, hidrogel y gelatina <sup>(26)</sup>, recubrimiento químico y electroquímico, inmovilización de moléculas y biomoléculas funcionales <sup>(26,28)</sup>.

## 1.6. Células troncales mesenquimales

La medicina regenerativa y la ingeniería en tejidos tienen el objetivo de reemplazar o regenerar células, tejidos u órganos, con el propósito de reestablecer la función.<sup>(32)</sup> La terapéutica basada en la utilización de células se convierte en elemento fundamental de la medicina regenerativa, debido a la capacidad inherente que tienen las células madre para diferenciarse en tipos de células específicas<sup>(32)</sup>.

Una característica fundamental que poseen las células troncales mesenquimales (MSC) es la autorrenovación, así como tener la capacidad de pasar por diversas divisiones celulares mientras conservan el estado indiferenciado, ya que, la diferenciación ocurre al momento en que una célula consigue propiedades de una célula especializada<sup>(32)</sup>. Otra característica de las MSC es su capacidad de crear células intermedias (progenitoras- precursoras), las cuales tienen la inteligencia de diferenciarse en distintos tipos de células, y, por lo tanto, tener la capacidad de generar tejidos u órganos complejos<sup>(33)</sup>.

Este tipo de células se catalogan en células pluripotentes inducidas (iPSC), células embrionarias (ESC) y las células adultas/postnatales (ASC)<sup>(34)</sup>. Fue en el año de 1998 cuando Thompson y cols. dieron a conocer por primera vez información acerca de las líneas de células madre embrionarias, las cuales tienen origen al momento de aislarse del blastocito durante el desarrollo embrionario, originando 3 capas germinales, dividiéndose en ectodermo, endodermo y mesodermo<sup>(33)</sup>. Las ESC son pluripotentes o totipotentes, por lo que su capacidad es ilimitada al momento de diferenciarse, lo que le otorga a este tipo de células poder convertirse en más de 200 tipos de células que tiene el cuerpo humano<sup>(33)</sup>.

Cuando las células madre son adultas se localizan en diversos tejidos del cuerpo humano, como ejemplo está la médula ósea, vasos sanguíneos, el páncreas, hígado, piel, la retina, tejido adiposo, músculos y tejido dental<sup>(33)</sup>. Se encuentran en nichos propios donde se lleva a cabo la regulación de la proliferación, migración, supervivencia y envejecimiento<sup>(33)</sup>.

Estas células tienen la capacidad de dividirse y originar otra célula con las mismas características e inclusive más diferenciada, pero la posibilidad de diferenciarse en otros tipos de células es limitada, por lo que se les conoce como multipotentes, característica que las diferencia con las células madre embrionarias <sup>(33)</sup>.

### **1.7. Células troncales mesenquimales dentales**

Un órgano dental se origina debido a las interacciones orquestadas por las células ectodérmicas epiteliales de origen oral, las cuales se encargan de la formación del esmalte, también participan las células mesenquimales que proceden de la cresta neural, siendo las responsables de la formación de la papila y el folículo dental <sup>(32-34)</sup>. Estas células son las encargadas de producir las estructuras dentinarias como lo es la dentina, el cemento, ligamento periodontal y la pulpa dental <sup>(32)</sup>. La Sociedad Internacional para la Investigación de Células Madre (ISSCR) declaró que las células troncales de origen dental (DSC) forman parte de la población de MSC <sup>(32)</sup>.

Fue durante el año 2000 cuando se comenzó con el aislamiento y caracterización de diversas células madre/progenitoras dentales <sup>(32,33)</sup>. Las primeras en incluirse fueron las provenientes de tejido de la pulpa dental humana (hDPSC), le siguieron las células madre de dientes deciduos exfoliados (SHED), posteriormente fueron las células madre de la papila dental (SCAP), células madre del ligamento periodontal (PDLSC) y por último las células precursoras del folículo dental (DEPC) <sup>(32-34)</sup>. Entre las características más comunes de las DSC se encuentra su capacidad de autorrenovación y de diferenciación en multilínea, siendo 3 líneas las principales, la osteo/odontogénica, adipogénica y neurogénica <sup>(38)</sup>, así como de respuesta efectiva sobre marcadores específicos a antígenos de superficie <sup>(36)</sup>.

Varias ventajas valiosas que presentan las DSC es su sencilla accesibilidad debido a que el banco de células madre es la opción principal para la recolección; asimismo, presentan una adecuada interacción en los andamios y tienen altos niveles de proliferación <sup>(37)</sup>.



El hallazgo de las células madre de origen dentinario ha originado el interés científico de la odontología regenerativa debido a la probabilidad de obtener estas células directamente de los pacientes y comenzar con un futuro esperanzador que permitirá aumentar la calidad de los tratamientos, haciéndolos parte hasta incluirlos en los tratamientos de rutina que se realizan en la práctica dental <sup>(37)</sup>.

## **1.8. Células hDPSC**

La pulpa dental tiene varias funciones, una de ellas es proporcionar nutrición e irrigación a los tejidos dentinarios y reaccionar a estímulos externos, lo que provoca la sensibilidad neuronal <sup>(38)</sup>. Es un tejido vascularizado e innervado compuesto por tejido conectivo blando, terminaciones nerviosas y componentes linfáticos que se encuentran en la cavidad pulpar de cada órgano dental <sup>(34)</sup>.

Las células madre de la pulpa dental humanas (hDPSC) tienen derivación directa del ectodermo y se originan a través de la migración celular de la cresta neural y contienen propiedades mesenquimales de células madre (MSC) lo que les proporciona una mayor tasa de proliferación celular, así como la facilidad de formación de colonias con células madre/progenitoras, un mayor porcentaje de capacidad clonogénica y niveles altos de mineralización <sup>(34)</sup>. Presentado una morfología y características similares a los fibroblastos debido a su capacidad de adherencia y formación de cultivo en análisis *in vitro* <sup>(32)</sup>. Fueron Ghotos y cols quienes durante el año 2000 las aislaron directamente de terceros molares humanos <sup>(33)</sup>. En investigaciones realizadas a las hDPSC se ha confirmado que tienen la capacidad de diferenciarse en adipocitos, condrocitos y odontoblastos, inclusive se ha demostrado que tienen capacidad de diferenciación hacia osteoblastos y mioblastos con una capacidad de autorrenovación <sup>(33)</sup>. Las hDPSC presentan una doble ventaja ya que tienen un alto contenido de MSC y el procedimiento para su obtención es menos invasivo <sup>(32)</sup>.

La sencillez de aislamiento y su alta capacidad de supervivencia en estudios *in vitro* ha llamado la atención del campo de la medicina regenerativa debido a sus

características prometedoras para tratamientos regenerativos de cartílago, hueso, tejido nervioso y dientes <sup>(32)</sup>

### **1.9. Cultivos celulares**

El cultivo celular es la herramienta más eficaz que se está desarrollando en el campo de la biología molecular y la ingeniería genética <sup>(39)</sup>, debido a que es un modelo que comprende los sistemas de órganos complejos y propaga células *in vitro* que otorgan suplementos y nutrientes <sup>(35)</sup>. Los estudios desarrollados bajo este modelo experimental han demostrado tener ventajas en su manejo y cuidado, como el tener la posibilidad de controlar el entorno fisicoquímico, las condiciones fisiológicas celulares, utilizar células homogéneas y caracterizadas, evitando el uso de animales en el área experimental <sup>(35)</sup>.

La elaboración del sistema y aplicación del cultivo celular simple consiste en la recolección celular exponiendo el tejido a una digestión química, enzimática o mecánica, con el objetivo de suprimir la matriz extracelular (MEC)<sup>(39)</sup>. Posterior al asilamiento celular, se realiza una dilución mediante medios de cultivo y se esparcen en recipientes de cultivos esterilizados. Como resultado, se obtiene un cultivo directo que da las características muy similares al tejido original <sup>(39)</sup>.

En la última década se han actualizado las herramientas para realizar cultivos *in vitro* para la investigación biomédica al introducir el desarrollo de cultivo celular en 3D, con el objetivo de obtener heterogeneidad celular, así como, las características y funciones de los tejidos primarios investigados <sup>(35)</sup>. Para obtener resultados deseados se han llevado a cabo métodos de cultivo celular que se basan en andamios biopoliméricos, hidrogeles, laminas celulares y cultivos de gotas colgantes <sup>(38)</sup>. La microscopía electrónica de barrido (SEM) y la microscopía óptica son ideales para producir la caracterización de los cultivos <sup>(38)</sup>.

## 2. Revisión sistemática

### 2.1. Metodología

Los estudios fueron seleccionados en base al diseño de la guía PRISMA 2009 (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), para revisiones sistemáticas. La pregunta de investigación planteada fue: ¿Los implantes de titanio biofuncionalizados con extractos naturales tienen un impacto positivo en el proceso de la osteointegración? De la cual derivó el siguiente acrónimo PICO (Population, Intervention, Control, Outcomes, study type) en donde:

- (P) Población: implantes de TI biofuncionalizados con extractos naturales
- (I) Intervención: extractos naturales
- (C) Control: Implantes de Ti sin biofuncionalizar
- (O) Resultados: Proliferación y adhesión celular al implante de Ti
- (S) Estudio: *In vivo e in vitro*

#### 2.1.1. Estrategia de búsqueda y bases de datos:

Se realizó una búsqueda en tres bases de datos: *ScienceDirect*, *Google académico* y *PubMed*. El orden de la planificación para la búsqueda de artículos científicos se organizó en base a la implementación de palabras clave, términos del índice y texto libre, empleando la nomenclatura booleana “OR” y “AND”. Para la selección de los artículos, una vez que se obtuvieron en su totalidad, eliminando duplicados y títulos sin conexión con los términos de búsqueda se procedió al análisis siguiendo las pautas establecidas en el diagrama de flujo PRISMA 2009. (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) (Figura 1) <sup>(70)</sup>.

En Pubmed, se estableció la búsqueda como Titanium implants AND coated AND natural-herbal AND extract. Se obtuvieron inicialmente 28 resultados, posteriormente se establecieron criterios de búsqueda; límite de tiempo de la publicación (2016-2023), lo cual disminuyó los resultados hasta 18.

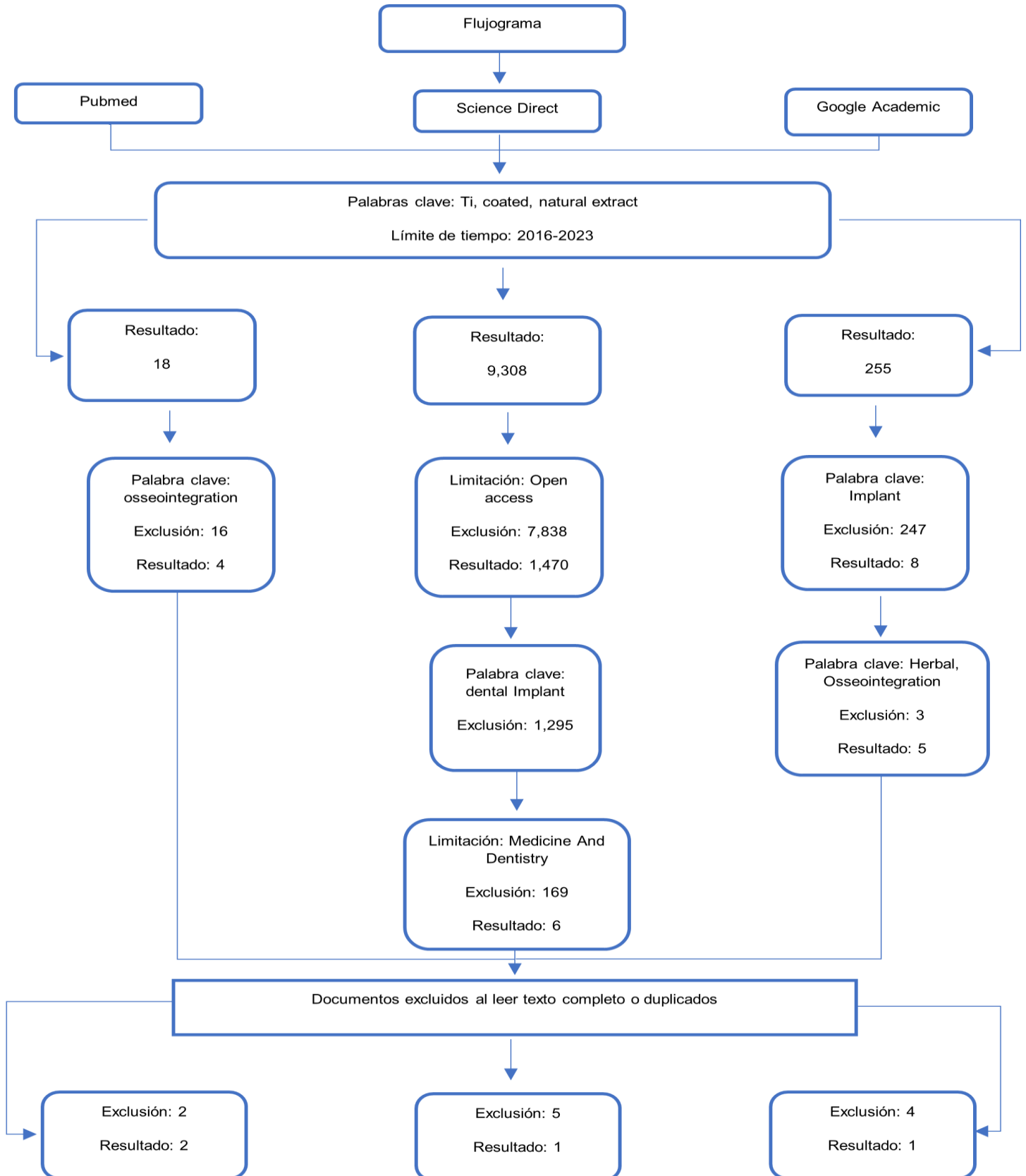
Se añadió la palabra clave AND osseointegration; consiguiendo 4 artículos. Eligiendo aquellos artículos que mediante título y resumen tuvieron la mayoría de las palabras clave previamente establecidas.

En la base de datos ScienceDirect se colocaron las mismas palabras clave Titanium implants AND coated AND natural AND extract, se aplicó el mismo rango de búsqueda por años, a partir del 2016 hasta el 2023, obteniendo un total de 9,308 artículos, por lo que se colocaron criterios de búsqueda como open Access, reduciendo los resultados de búsqueda a 1,470, se colocó una palabra clave adicional que fue Dental implant y los resultados disminuyeron a 147 y por último se seleccionó el área Medicine and Dentistry, obteniendo 6 artículos, se aplicaron los mismos criterios de selección con base en el título y resumen.

En la base de datos Google Academic, se buscó con la frase exacta “Ti implant coated” en donde se buscó que en todos los artículos apareciera la palabra herbal extract, con el mismo periodo de rango de tiempo del 2016 hasta el 2023. Se obtuvieron 4 resultados de la búsqueda, descartando aquellos que no cumplieran con título y resumen o bien que estuviesen duplicados.

En los artículos seleccionados se analizó la metodología experimental referente al proceso de los recubrimientos de extractos naturales sobre las placas de titanio en los estudios *in vitro*, así como de los implantes colocados *in vivo*.

**Figura 1. Diagrama PRISMA**



#### **2.1.1.1 Criterios de selección**

Para elegir los artículos de investigación que formaron parte de la revisión sistemática, se llevó a cabo una selección de la literatura con base en los criterios de selección.

#### **2.1.1.2 Criterios de inclusión**

Los artículos seleccionados inicialmente respondían al tipo de estudios ya fuera *in vivo* o *in vitro*, que utilizaran extractos naturales como método de potencialización de las características fisicoquímicas superficiales de implantes de Ti. Se tomaron en cuenta aquellos que fueron publicados dentro de los últimos 6 años (2016-2022), que se encontraban en texto completo, acceso abierto e idioma inglés.

#### **2.1.1.3 Criterios de exclusión**

Se excluyeron trabajos de investigación relacionados a revisiones sistemáticas, resúmenes de trabajos de investigación, trabajos de tesis, enciclopedias, artículos de opinión, capítulos de libro

#### **2.1.1.4 Criterios de eliminación**

Se eliminaron los artículos científicos que no presentaran metodología experimental completa, también se eliminaron artículos que no abordaran de forma correcta la validez interna y externa, aquellos que no cumplieran con los criterios metodológicos necesarios para la investigación, que no utilizaran sustancia natural o cualquier otro tipo de material que no fuera el Ti y los artículos duplicados

## 2.2 Resultados

Se utilizaron 3 bases de datos para la obtención de los artículos que se incluyeron en la presente revisión sistemática, 4 artículos fueron seleccionados ya que cumplían con las características previamente establecidas en los criterios de selección que se plasman en el diagrama PRISMA de la figura 1.

La búsqueda consto en cuatro etapas principales, que son en primer lugar, la (1) Identificación: En esta etapa, se identificaron los estudios relevantes, posteriormente hubo una (2) Selección: Durante esta etapa se realizó una revisión de los artículos ya que debían cumplir con los criterios de selección previamente establecidos y se excluyeron o eliminaron aquellos que no lo cumplían o bien eran duplicados. Posteriormente se hizo una (3) Evaluación: en donde se revisó la metodología experimental de cada artículo, y su relevancia para el estudio (Tabla 2 y 3). Finalmente se revisaron los hallazgos (tabla 3) y se calificó el (4) riesgo de sesgo y la calidad de los artículos científicos seleccionados.

En los 4 artículos se realizaron investigaciones *in vivo* e *in vitro* en los que se utilizaron sustancias naturales como el *Dipterocarpus tuberculatus* (MED), un extracto de aloe vera en gel llamado *acemannan*, un gel del extracto de ajo (*Allium sativum*) y jengibre, y un extracto de raíz de ginseng rojo coreano.

El proceso para la obtención de la sustancia o extracto natural se describió de forma clara en todos los artículos revisados, Jung y cols. (2022) <sup>(43)</sup>, realizó una mezcla entre el polvo liofilizado del tallo seco de MED y metanol (1:10) en donde se siguieron los pasos de sonicación, incubación y filtración en membranas de poro de 0,4 µm, finalizando con una liofilización mediante vacío rápido. Banerjee (2019) <sup>(61)</sup>, descontaminó con hipoclorito al 3 %, para la planta de aloe vera, se realizó un corte en la corteza y se extrajo el gel para posteriormente obtener el *acemannan* mediante el proceso de extracción etanólica Soxhlet y el polvo se obtuvo mediante evaporación disolvente a 37 °C.

Prabakaran y cols. (2021)<sup>(7)</sup>, obtuvo una pasta con la mezcla de 25 g de jengibre, 25 g de ajo y se agitó en 500 mL de agua bidestilada por 10 días, se filtró con membranas Whatman de papel y se almacenó a 41 °C. Kang y cols. (2020)<sup>(45)</sup>, por otro lado, utilizaron un extracto de raíz del Ginseng rojo 4.5 mg/g y agua destilada con una relación 1:2. De los 4 artículos, 3 de ellos evaluaron *in vitro* la actividad osteoblástica así como su viabilidad, proliferación y bioactividad sobre superficies de discos y placas de Ti, en donde Jung y cols. (2022), Banerjee y cols. (2019) y Kang y cols. (2020) utilizaron el método de tinción con MTT y DMSO para romper los cristales de formazan y evaluar a 570 nm la absorbancia en una placa de 96 pocillos. Banerjee y col. (2019), evaluó el efecto antimicrobiano de sustancias naturales sobre bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli* ); observó las zonas de inhibición mediante una prueba de difusión en agar por disco observando después de 18 h, un buen efecto. Prabakaran y cols. (2021) también realizó la evaluación antimicrobiana a través del método de difusión de agar.

Prabakaran y cols (2021) realizaron pruebas experimentales *in vivo* en animales, las cuales fueron supervisadas y consensuadas por diversos comités sobre el cuidado y uso experimental en animales como lo son el Comité Institucional de Cuidado y uso de animales, así como por el Comité Ético de experimentos en Animales de la Universidad Nacional de Jeonbuk y principalmente por la Asociación Internacional para la Acreditación y Evaluación del cuidado de los animales de laboratorio. El principal objetivo del estudio elaborado por Prabakaran y cols (2021) fue evaluar y analizar los efectos de sustancias naturales sobre el proceso de adherencia osteoblástica. Por otro lado, Jung y cols. (2022) utilizó ratas Sprague Dawley (SD) que se mantuvieron en dieta Chow y bajo específicas condiciones libres de patógenos. Se utilizaron n=15 ratas macho y se dividieron a cada grupo implantado ConTiF (n=5), OzoneTiF (n=5) y MEDTiF (n=5) y se implantaron en un defecto fabricado en la parte de la tibia de la rata y se realizó eutanasia a las 4 semanas de la implantación. Posteriormente se realizó análisis Western Blot, RT-qPCR e histopatológico.



Banerjee (2019) prepararon un defecto circular en la parte distal del fémur de ratas SD en donde se colocaron n=6 implantes, se aplicó eutanasia a las 5 semanas y se retiró el fémur para posteriormente conservarlo en una solución salina neutra al 10 % y se realizó evaluación histológica y análisis en escáner de tomografía computarizada (CT). Kang (2020) utilizó 20 ratas distribuidas en el grupo control N-Ti (n=10) y GN-Ti (n=10) a las cuales se les extrajo el primer molar inferior, posterior a 4 semanas se realizó la implantación y durante 4 días post quirúrgicos se realizó antibioticoterapia.

Desde la 2 y 4 semana se llevó a cabo un análisis con CT para calificar y analizar la alteración en los tejidos periimplantarios y en la 4ta semana se valoró la creación de tejido óseo, así como la formación de tejido periodontal alrededor del implante mediante la tinción con tricrómico de Masson y H&E.

En la tabla 3 se resumen de manera más detallada los datos y metodología experimental de los artículos seleccionados, en donde se tomaron en cuenta todo aquel dato relevante para el estudio: 1) Autor/año, 2) Sustancia Natural, 3) Análisis, 4) Número de muestras, 5) Tiempo y 6) Comparación.

**Tabla 2. Metodología experimental de cada artículo incluido en la revisión sistemática.**

| Artículo                 | Método   |
|--------------------------|--|
| Jung y cols. (2022).     | <p>Estudio <i>in vitro</i> en donde se preparó <i>Dipterocarpus tuberculatus</i> Roxb (MED) a una concentración 1:10 p/v, se realizó sonicación, incubación por 2 h, 10 veces al día por 3 d y se realizó un filtrado a través de una malla con porosidad de 0.4 <math>\mu\text{m}</math>, se realizó un concentrado con un evaporador rotatorio y un liofilizado en vacío rápido. La muestra final se disolvió en dimetilsulfóxido. Las placas de Titanio puro fueron cortadas en cuadrados de 20 mm x 20 mm. Se observó y analizó la alteración superficial con microscopia de fuerza atómica, el ángulo de contacto se evaluó con un mediador de ángulo de contacto y agua destilada. Se observó y cuantificó la viabilidad celular mediante método de tinción MTT y DMSO, la absorbancia se midió a 570 nm.</p> <p><i>In vivo</i> se colocó un implante de Ti de 10 mm en la tibia de 15 ratas macho. En donde se dividieron en ConTiP(5), OzoneTiP(5) y MEDTiP(5). Se observó mediante CT la densidad ósea.</p> |
| Banerjee y col. (2019).  | <p>Estudio <i>in vitro</i>, se utilizó Ti6Al4 grado V y se cortó en discos de 12,5mm. En el estudio <i>in vivo</i> se utilizaron varillas de 2,5mm. La extracción del <i>Acemmanan</i> del gel de aloe vera fue con soxhlet etanólico por evaporación a 37 °C. La evaluación <i>in vitro</i> de la respuesta osteoblástica fue evaluada con base a su morfología a través de FESEM y su viabilidad por ensayo de MTT.</p> <p>Durante el estudio <i>in vivo</i> se utilizaron 15 ratas SD y se evaluó la interfaz de los tejidos y el implante mediante CT y evaluación histológica a la respuesta osteoblástica de la zona femoral de las ratas.</p>   |
| Prabakaran y col (2021). | <p>Se evaluó un biomaterial con propiedades osteoconductoras y antibacterianas a través de minerales como el Zinc (Zn), Hidroxiapatita, compuesto de Chrysin cargado con extracto natural de ajo y jengibre (GGe) y gentamicin. El compuesto se usó como recubrimiento de una placa de Ti de grado ortopédico tratada superficialmente con el método de deposición electroforética.</p>  |

|                     |   |
|---------------------|---|
|                     | <p>El GGe se preparó moliendo el extracto (25g), se adicionaron 500 mL de agua destilada (DD) por 10 d. Se realizó un filtrado con una membrana Whatman y se almacenó a 4 °C. Se evaluó la bioactividad mediante una simulación de fluido corporal que se encuentra en plasma sanguíneo durante 1,4 y 7 días, se lavó con DD y se examinó por SEM y EDX. Se probó el efecto antimicrobiano sobre <i>Staphylococcus aureus</i> (Gram +) y <i>Escherichia coli</i> (Gram -) a través del método de difusión en agar. La viabilidad osteoblástica (MG-63) se evaluó manteniendo las células en un medio modificado de águila de dulbeco (DMEM). Se colocaron sobre placa de 96 pocillos y se incubaron por 24 h, se colocaron 10 mg/mL en cada muestra y se llevaron a la incubadora por 1,3 y 7 días a 37 °C. Se intercambio el medio por MTT y se rompieron los cristales de formazán con DMSO y se realizó la lectura de la absorbancia a 570 nm.</p> |
| Kang y cols (2020). | <p>En este estudio se analizó extracto de ginseng rojo coreano (KRGE) sobre implantes de titanio y su posible efecto en la osteogénesis y osteointegración. Se utilizaron placas de Ti puro (grado 2), los cuales se lavaron con acetona, DD y tina ultrasónica. El extracto de KRGE se preparó en una relación 1:2 con DD. Se evaluó la humectabilidad y el ángulo de contacto usando un microscopio eteroscópico. <i>In vitro</i> se usaron células MC3T3-E1 (osteoblastos de ratón) incubados a 37 °C. se cambió el medio cada 3 d y se usaron cuando alcanzaron el 80% de confluencia, MTT para determinar la proliferación celular y se midió la densidad a 570 nm. <i>In vivo</i> se utilizaron 20 ratas SD y se dividieron en grupo control (10) y GN-Ti (10) y los cambios en la morfología alrededor del implante fue medido con una microcomputarizada tomografía.</p>  |

**Tabla 3. Resumen de los datos recolectados en las pruebas experimentales de cada artículo incluido en la revisión sistemática (Parte 1)**

| <b>Autor</b>                    | <b>Extracto natural</b>               | <b>Análisis</b>   | <b>N° de muestra</b>  | <b>Tiempo</b>   | <b>Comparación</b>  |
|---------------------------------|---------------------------------------|---|---|---|---|
| <b>Jung y cols (2022)</b>       | Dipterocarpus tuberculatus roxb (MED) | <b>In vitro:</b> Células MG63<br><b>In vivo:</b> tibias de rata SD  | <b>In vitro:</b> 3 placas cuadradas de Ti (20x20 mm)<br><b>In vivo:</b> 3 tornillos de Ti de 3mm en 5 ratas | <b>In vitro:</b> 1-5 días<br><b>In vivo:</b> 4 semanas  | <b>In vitro:</b> ConTip, OzoneTip y MEDTip<br><br><b>In vivo:</b> ConTiF, OzoneTiF y MEDTiF   |
| <b>Banerjee y col. (2019)</b>   | Acemannan (extracto de aloe vera)     | <b>In vitro:</b> osteoblastos y Staphylococcus epidermis<br><b>In vivo:</b> fémur de rata   | <b>In vitro:</b> 4 discos de Ti<br><b>In vivo:</b> 6 implantes de Ti en 5 ratas                             | <b>In vitro:</b> 2-5 días<br><b>In vivo:</b> 5 semanas  | <b>In vitro e In vivo:</b> HA+Ti, Ag-Si+HA. Ag-Si HA+Acemannan, Ag-Si HA+ acemannan+ chitosan |
| <b>Prabakaran y col. (2021)</b> | Extracto de jengibre y aloe vera      | <b>In vitro:</b> análisis de viabilidad osteoblástica y análisis antimicrobiano contra Staphylococcus aureus y E. coli                  | <b>In vitro:</b> 5 placas de Ti (10x10)   | <b>In vitro:</b> 7 día                                  | <b>In vitro:</b> MHAP, MHAP/ChN, MHAP/ChN/GTN, MHAP/ChN/GGe y MHAP/ChN/GGe                    |
| <b>Kang y cols. (2020)</b>      | Extracto de raíz ginseng rojo (KRGGE) | <b>In vitro:</b> análisis de viabilidad con células MC3T3 y análisis de mojabilidad superficial<br><b>In vivo:</b> Mandíbula de rata SD | <b>In vitro:</b> Placas de Ti (10x10mm)<br><b>In vivo:</b> Tornillos de Ti de 4.5mm en 20 ratas SD          | <b>In vitro:</b> 7 día<br><b>In vivo:</b> 2 y 4 semanas | <b>In vitro:</b> P-Ti, N-Ti y GN-Ti<br><br><b>In vivo:</b> N-Ti (control) y GN-Ti.            |

**Tabla 3. Resumen de datos recolectados en las pruebas experimentales de cada artículo incluido en la revisión sistemática (Parte 2).**

| Autor/año                       | Sustancia natural                     | Hallazgos   |
|---------------------------------|---------------------------------------|---|
| <b>Jung y cols (2022)</b>       | Dipterocarpus tuberculatus roxb (MED) | MEDTiP presentó mayor proliferación celular (1.33) que OzoneTip (1.26) y ConTip (1.00) A la 4ta semana de implantación, se observó mayor osteointegración en MEDTip   |
| <b>Banerjee y col. (2019)</b>   | Acemannan                             | El Ti+Ag-Si HA+Acemannan tuvo una excelente proliferación celular al 2do (0.15) y al 5to día (0.17), el Ti+HA 2do día (0.9) y al 5to día (0.13), el Ti+ Ag-Si HA al 2do día (0.07) y al 5to (0.10) y el Ti+Ag-Si HA+ acemannan+ chitosan obtuvo al 2do (0.10) y al 5to día (0.08) . A la 5ta semana mostro mejores niveles de osteointegración que los grupos comparativos. |
| <b>Prabakaran y col. (2021)</b> | Extracto de jengibre y aloe vera      | El compuesto MHAP/ChN/Gge/GTN mostró mayor proliferación celular al 7mo día (84.5%) que los otros compuestos.MHAP(74.4),MHAP/ChN(68.8),MHAP/ChN/GTN(66.9) y MHAP/ChN/GGe (82.1)   |
| <b>Kang y cols. (2020)</b>      | Extracto de raíz ginseng rojo (KRGE)  | El GN-Ti fue el de mayor proliferación celular in vitro (8.5%) que el N-Ti (2.5%) y el P-Ti(4%). A la 4 semana se observó mayor cantidad y densidad ósea en el implante con GN-Ti en comparación del N-Ti.  |

### 2.2.1 Análisis de calidad

Evaluar la calidad de los estudios nos permite calificar de manera integral la manera en la que se llevó a cabo el proyecto de investigación en donde se evalúan partes fundamentales como lo es el diseño experimental, su realización y los resultados. El análisis de la calidad de los estudios que se integraron en la presente revisión sistemática está basado en los parámetros establecidos de la escala Jadad Scale<sup>(70)</sup>

, la cual es utilizada para proporcionar una puntuación a los estudios de intervención controlados aleatorios.

El análisis nos permitió determinar la fortaleza de la evidencia disponible, pudiéndose utilizar para informar la toma de decisiones clínicas en un futuro. Se puede observar en la tabla 4 un resumen de la información del análisis de calidad de los artículos seleccionados, dándoles una calificación en escala del 0 a 2 en donde el malo= 0, bueno=1 y Excelente= 2. El valor más alto para cada artículo fue de 9, ya que se tomaron en cuenta 6 *items* <sup>(70)</sup>. Analizando los estudios integrados en esta revisión sistemática se obtuvieron un total de 31 puntos y se dividieron en los 4 artículos integrados en la revisión, generando una mediana de 7.75.

**Tabla 4. Análisis de la calidad de los artículos de forma individualizada**

| Autor                     | Cálculo de la muestra<br>0- No<br>1- D | Comparación<br>0-No<br>1-D | Método descrito en extenso<br>0-No<br>1-PM<br>2-Ex | Variable<br>0-No<br>1-PM<br>2-Ex | Análisis estadístico<br>0- No claro<br>1- PM<br>2- Ex | Resultados<br>0- IC<br>1- C | Total |
|---------------------------|--|----------------------------|--|----------------------------------|---|-----------------------------|-------|
| Jung y cols. (2022)       | 1                                      | 1                          | 1  | 1                                | 2   | 1                           | 7     |
| Banerjee y cols. (2019)   | 1                                      | 1                          | 2  | 1                                | 2   | 1                           | 8     |
| Prabakaran y cols. (2021) | 1                                      | 1                          | 2  | 1                                | 2   | 1                           | 8     |
| Kang y cols. (2020)       | 1                                      | 1                          | 2  | 1                                | 2   | 1                           | 8     |

D-Descrita, PM-Parcialmente, Ex-Exhaustivo, C-Completo/Correcto, IC-Incompletos. Tipo de calidad: Baja calidad= 0-3, Mediana calidad 4-6, Alta calidad= 7-9.





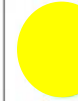










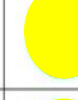

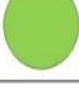





### 2.2.2 Riesgo de sesgo




La distorsión de la verdad en los artículos seleccionados, sobre los efectos del uso de biofuncionalización de sustancias naturales en implantes de Ti, se evaluó mediante “Riesgo de Sesgo” sobre la validez de ensayos clínicos.

El análisis de riesgo de sesgo se refiere a la posibilidad de que los resultados de un estudio sean incorrectos debido a algún error sistemático durante el diseño experimental, su realización y al momento de realizar el análisis o la interpretación de los resultados finales obtenidos. Este análisis puede comprometer la validez y fiabilidad de los resultados y, por lo tanto, puede comprometer el avance del conocimiento científico <sup>(70)</sup>.

Los artículos que forman parte de la presente revisión sistemática mostraron un riesgo de sesgo alto (100%) ya que ninguno de los artículos seleccionados mencionó los retiros o abandonos durante la sección experimental, en cuanto a la sección de cegamiento a los participantes o a los mismos evaluadores el 100% de los artículos mostró un riesgo bajo, los cuales se encuentran plasmados en la tabla 5.

**Tabla 5. Riesgo de Sesgo**

|                          | Sesgo de selección  | Sesgo de realización  | Sesgo de detección  | Sesgo de desgaste   | Sesgo de notificación  | Otros sesgos  |
|--------------------------|---|---|---|---|--|---|
| Jung y cols (2022)       |  |  |  |  |  |  |
| Banerjee y col. (2019)   |  |  |  |  |  |  |
| Prabakaran y col (2021). |  |  |  |  |  |  |
| Kang y cols (2020)       |  |  |  |  |  |  |

 Alto Riesgo   
  Bajo Riesgo   
  Dudoso

## 2.3 Discusión

Se realizó una revisión sistemática para encontrar artículos que cumplieran con los criterios previamente establecidos. La búsqueda se centró en aquellos estudios que investigaron la biofuncionalización de implantes o placas de titanio con sustancias o extractos naturales utilizando un método de recubrimiento superficial, para potencializar las características del Ti, evaluando la respuesta tisular y celular en procesos de osteointegración en experimentos *in vitro* e *in vivo*.

Uno de los estudios seleccionados para esta revisión fue el realizado por Jung y cols. en 2022 <sup>(43)</sup>, el cual evaluó la actividad osteoblástica de células MG63 incubadas en placas de Ti recubiertas con extracto de *Dipterocarpus tuberculatus Roxb.* (MED). La meta del ensayo experimental era establecer si el MED pudiera ser considerado como candidato para pruebas *in vivo*. Los análisis de los resultados del estudio demostraron que el MED es efectivo en promover la humectabilidad de la superficie del Ti, mejorando la resistencia oxidativa de la misma. Además, el recubrimiento de MED promovió la adhesión, proliferación y supervivencia de células óseas MG63 cotejando con los grupos control, lo que indica un efecto estimulante sobre el crecimiento óseo alrededor del implante de Ti <sup>(43)</sup>.

Estos resultados también se confirmaron en el estudio experimental *in vivo*, donde se implantó el implante de Ti recubierto con MED en la zona de la tibia de ratas SD. Los hallazgos de este estudio respaldan la biofuncionalización de Ti mediante recubrimiento superficial con sustancias naturales para mejorar la osteointegración y la adhesión de células óseas <sup>(43)</sup>.

En el trabajo de investigación de Banerjee y cols. (2019)<sup>(61)</sup>, emplearon hidroxiapatita como recubrimiento de la superficie de implantes de Ti para aprovechar sus propiedades osteoconductoras. Además, se incorporó extracto de gel de aloe vera (*acemannan*) y quitosano para controlar la liberación del extracto en la matriz de fosfato cálcico.



Los resultados *in vitro* mostraron una correcta liberación del *acemannan* y una buena osteointegración de los implantes recubiertos <sup>(61)</sup>.

Por otro lado, Prabakaran y cols. (2021) <sup>(7)</sup>, elaboraron un compuesto con propiedades osteoconductoras y antibacterianas mediante la incorporación de extractos de pasta de ajo y jengibre (GGe) y antibióticos modernos (gentamicina), sustituyendo los minerales por hidroxiapatita (MHAP) y moléculas de crisina (ChN). Los resultados en el análisis bacteriostático demostró una mayor eficacia del compuesto MHAP/ChN/GGe/GTN contra patógenos *E.coli* en comparación con muestras solo con antibiótico. También se evaluó la biocompatibilidad del compuesto MHAP/ChN/GGe/GTN sobre células MG-63 durante 1, 4 y 7 días, sin presentar citotoxicidad y mostrando una bioactividad natural, lo que proporcione una mayor osteointegración <sup>(7)</sup>

Kang y cols. (2020) <sup>(45)</sup>, realizaron un estudio *in vitro* de un extracto natural de la raíz de ginseng rojo coreano (KRGE) como recubrimiento de la superficie de placas de Ti grado 2 para evaluar la actividad osteoblástica de células MC3T3-E1, en donde se pudo cuantificar una mayor diferenciación celular sobre la superficie de Ti recubierta con KRGE en estudios *in vivo* <sup>(45)</sup>.

## 2.4 Conclusión

La biofuncionalización de superficies de Ti mediante el uso de extractos naturales ha demostrado ser una estrategia efectiva para mejorar la respuesta celular tanto en ensayos *in vitro* como en estudios *in vivo*. Aunque el Ti es un biomaterial biocompatible por sí solo, la adición de extractos naturales maximiza sus propiedades y puede mejorar la tasa de éxito y la recuperación post-tratamiento.

Los cuatro estudios revisados en esta revisión sistemática mostraron una mayor actividad y supervivencia de células osteoblásticas en ensayos *in vitro*, así como una mayor cantidad y densidad de tejido óseo alrededor de los implantes de Ti *in vivo*. Además, dos de los estudios demostraron que los extractos naturales también proporcionaron actividad antibacteriana contra bacterias gram + y gram -.

Sin embargo, son necesarios más estudios para indagar en otros extractos naturales que puedan maximizar las propiedades biocompatibles de los implantes de Ti y realizar más pruebas experimentales *in vivo*. Por lo que la biofuncionalización con extractos naturales tiene el potencial de mejorar la eficacia del tratamiento y evitar intervenciones quirúrgicas adicionales.

### **3. Estudio Experimental *In vitro***

#### **3.1. Planteamiento del problema**

La pérdida de piezas dentales debido a enfermedades como caries, periodontitis y traumatismos conduce a la pérdida ósea en las zonas anodónticas <sup>(61)</sup>, lo que hace necesaria la búsqueda de técnicas para restaurar y regenerar dichas áreas en la odontología. La implantología dental ha sido una técnica exitosa en la restauración de piezas dentales, y la modificación superficial del implante ha sido una investigación de creciente interés en la investigación en animales *in vivo* <sup>(7,41-45)</sup>. Aunque la mayoría de las técnicas utilizan sustancias artificiales y farmacológicas, se han utilizado extractos naturales de plantas, hierbas y raíces por sus propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antimicrobianas y analgésicas <sup>(41-45)</sup>. La periimplantitis es la afectación del tejido óseo y mucoso que rodea al implante la cual afecta del 12-40% de los implantes colocados de acuerdo con el Workshop europeo de periimplantitis de 2008 <sup>(62)</sup>. Y dada la gran resistencia antibiótica de los patógenos presentes, el empleo de sustancias naturales pueden ser una alternativa por sus propiedades antimicrobianas y osteointegrables<sup>(4)</sup>.

#### **3.2. Justificación**

Hay una necesidad de encontrar alternativas más seguras y efectivas para aumentar-potencializar la calidad de la osteointegración y evitar posibles complicaciones después del tratamiento. Además, el uso de sustancias naturales puede reducir el riesgo de resistencia antibiótica y efectos secundarios no deseados asociados con el uso de sustancias farmacológicas.

Un estudio realizado por Martin y cols <sup>(63)</sup>, demostraron que un extracto natural obtenido del grano de café robusta a una concentración de 10mg/mL, el cual contiene un alto porcentaje de cafeína (1.6% al 2.4%) mediante la combinación con

células madre de la pulpa dental, pueden mejorar la regeneración ósea al séptimo día en un estudio *in vivo* realizado a ratas wistar afectadas periodontalmente.

Este proyecto busca contribuir al campo de la investigación en odontología, al explorar y comprender mejor las propiedades biofuncionales de la cafeína en la superficie de placas de Ti, en donde los resultados obtenidos podrían ser útiles para desarrollar nuevas técnicas, mejorar la tasa de éxito clínico y por lo tanto proporcionarle al paciente una mejor calidad de tratamiento.

### **3.3. Pregunta de investigación**

¿El purificado de cafeína recubierto sobre placas de Ti es eficaz en el proceso de adhesión y proliferación celular?

### **3.4. Objetivos**

#### **3.4.1. Objetivo General**

Observar y evaluar la eficacia de la adhesión y proliferación celular de la biofuncionalización de placas de Ti con cafeína

#### **3.4.2. Objetivos Específicos**

1. Recubrir las placas de Ti con un purificado de cafeína
2. Realizar un cultivo celular con hDPSC sobre las placas de Ti previamente recubiertas con cafeína
3. Valorar la adhesión inicial de las de las hDPSC en las placas de Ti.
4. Evaluar el proceso de proliferación de las hDPSC sobre las placas de Ti.

### 3.5. Hipótesis

El uso del purificado de cafeína sobre las placas de Ti será eficaz en el proceso de adhesión y proliferación de *hDPSC*

### 3.6. Diseño de estudio

**Tipo de estudio:** Experimental Puro *in vitro*

**Población de estudio:** Cafeína y *hDPSC*

**Tamaño de muestra:** n=9 (Los experimentos se realizaron por triplicado en 3 experimentos independientes para lograr una n=9)

#### 3.6.1. Variables de estudio

**Dependientes:** proliferación, Células *hDPSC*, funcionalización con cafeína

**Variables Independientes:** Placas de titanio, tiempo de incubación

#### 3.6.2. Criterios de selección

Los criterios de inclusión, exclusión y eliminación en el ensayo *in vitro* constaron de características esenciales que son fundamentales para analizar los resultados de la adhesión como en el de la proliferación celular, ver tabla 7.

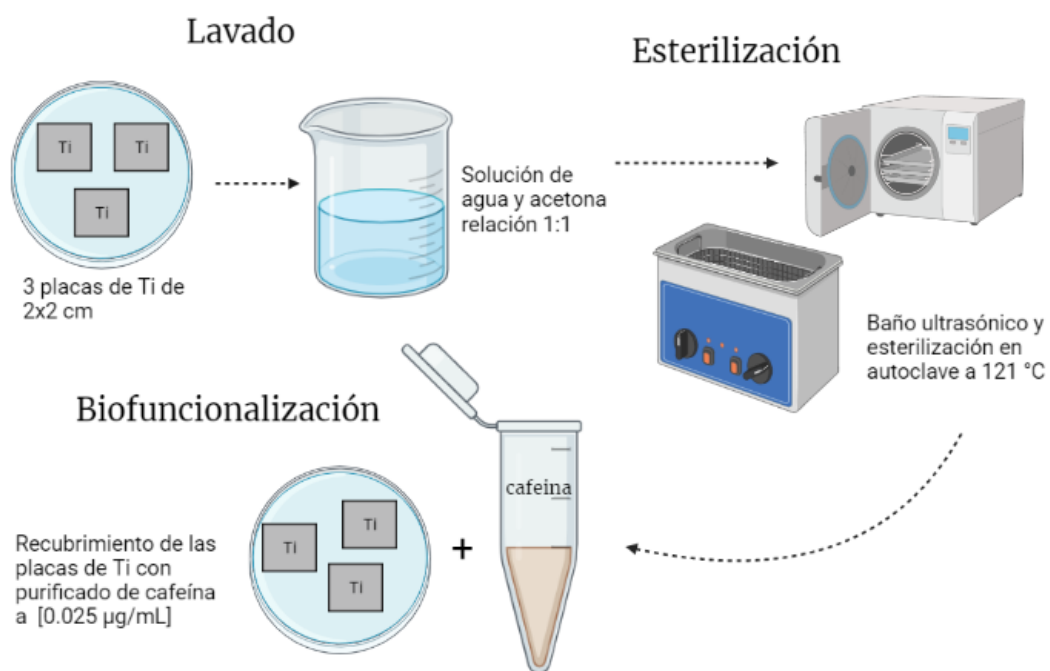
**Tabla 7. Criterios de selección**

| Criterios de inclusión  | Criterios de exclusión             | Criterios de Eliminación                     |
|---|------------------------------------|--|
| Cafeína [0.025 µg/mL]<br>Placas de titanio 2x2 cm<br>Células con más del 80 %<br>de confluencia | Muestras sin viabilidad<br>celular | Dosis citotóxicas y<br>muestras contaminadas |

### 3.7. Metodología experimental

#### 3.7.1. Preparación de las placas de Titanio

Se obtuvieron placas de Titanio de 2x2 cm del laboratorio de investigación interdisciplinaria de la ENES-León UNAM, las cuales se lavaron con una solución acetona y etanol en relación 1:1 durante 5 minutos. Brevemente, se realizó baño ultrasónico durante 3 min y se dejaron secar a temperatura ambiente. Después se procedió a esterilizar en autoclave a temperatura de 121 °C por 20 min. Pasado el tiempo se les colocó 300  $\mu$ L de purificado de cafeína a una concentración de [0.025  $\mu$ g/mL] sobre la superficie de la placa, se retiró el purificado y se dejó secar por 5 min bajo una campana de flujo laminar para poder subcultivar las hDPSC sobre su superficie como se muestra en la figura 1.

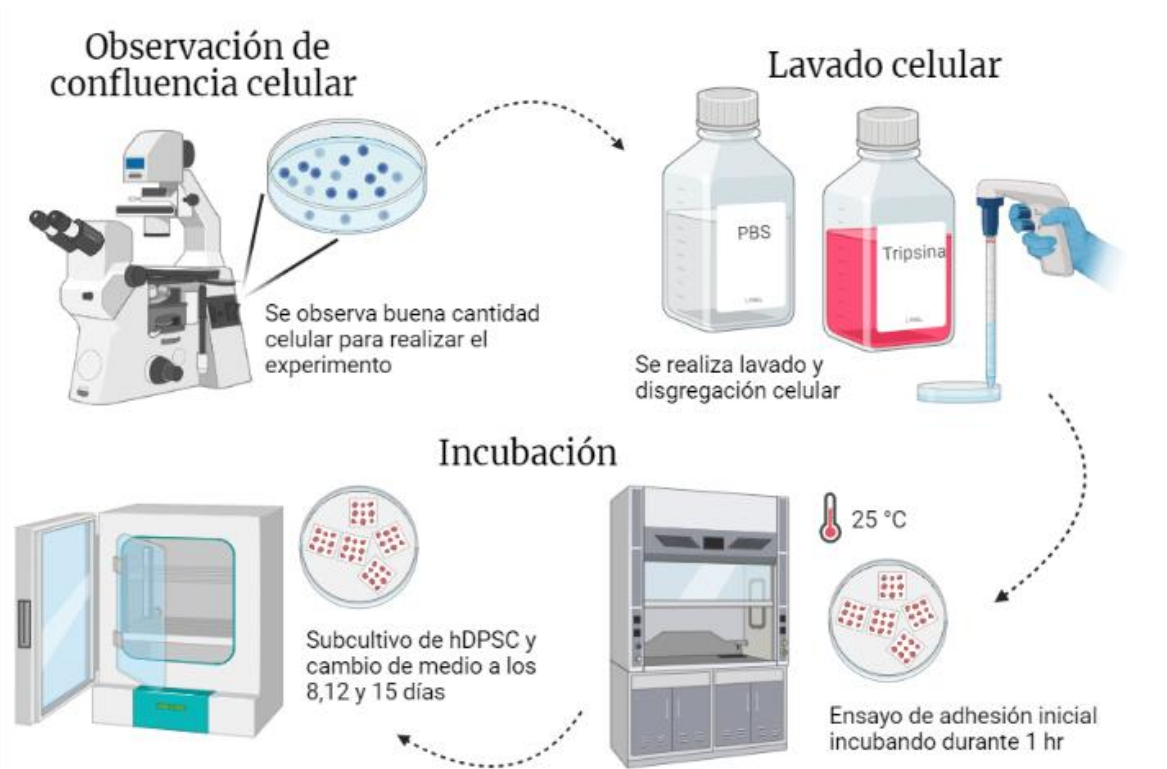


**Fuente:** elaboración propia

**Figura 1.** Preparación de las placas de Ti para ser biofuncionalizadas mediante recubrimiento superficial con un purificado de cafeína a una concentración de [0.025  $\mu$ g/mL]

### 3.7.2. Subcultivo de HDPSC

Se verificó en el microscopio que el cultivo de hdpSC tuvieran más del 80 % al 100% de confluencia; se retiró el medio de cultivo y se enjuagaron dos veces con PBS, posteriormente se les colocó 0.05 mL de tripsina al 5 % incubando por 5 min. Se corroboró en el microscopio el desprendimiento celular y se procedió a colocar 2 mL de medio de hasta disgregar las células. Finalmente se colocaron 300  $\mu$ L sobre las placas de titanio incubándose por 1 h a temperatura ambiente (25 °C) dentro de la campana de flujo para el ensayo de adhesión y se incubaron durante 8,12 y 15 días para el ensayo de proliferación celular, representado en la figura 2

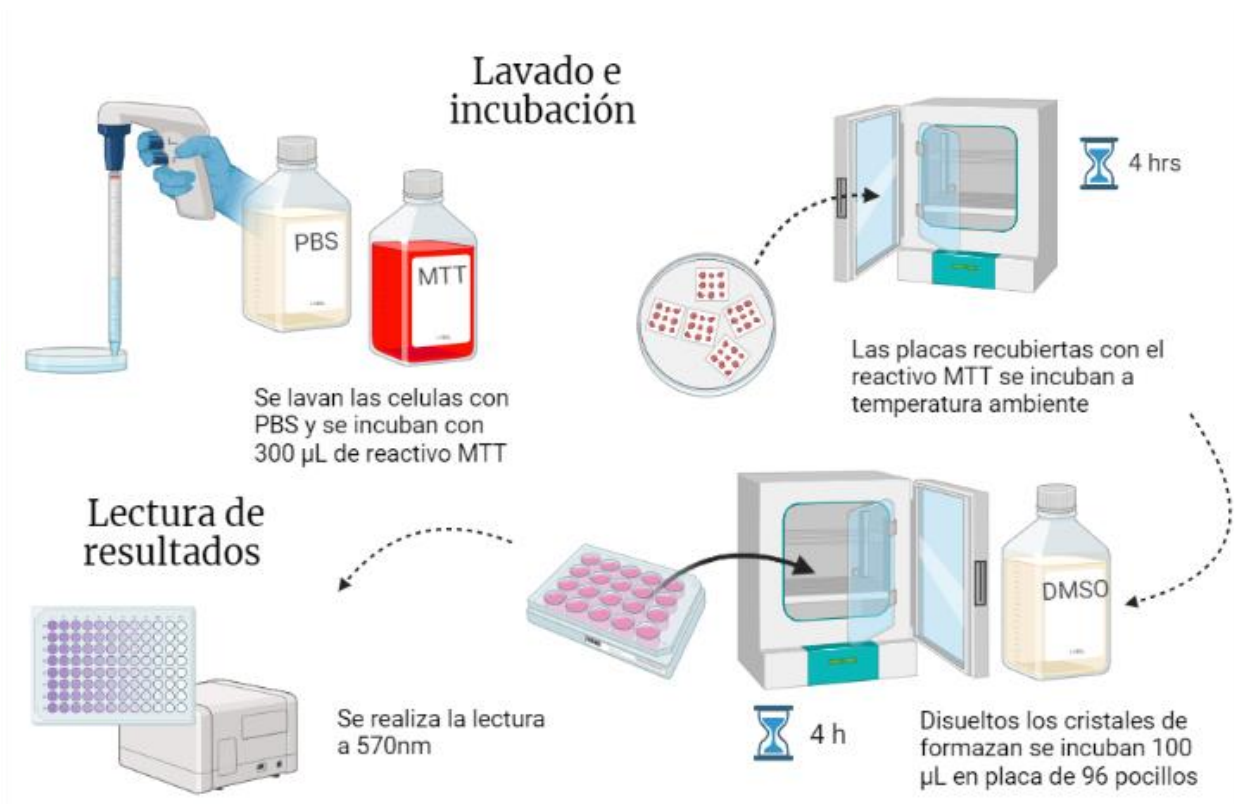


**Fuente:** elaboración propia

Figura 2. Preparación de las células hDPSC para el ensayo de adhesión y proliferación celular.

### 3.7.3. Ensayo de MTT y lectura de resultados

Se retiró el medio de cultivo de las células, se lavaron dos veces con PBS y se incubaron con 300  $\mu$ L de la solución de MTT (0.02 mg/mL) durante 4 h a temperatura ambiente. Posterior a las 4 h, se retiró el MTT y se colocaron 300  $\mu$ L DMSO (dimetilsulfóxido) para poder disolver los cristales de formazán que se forman sobre la placa y finalmente se incubaron 100  $\mu$ L en placa de 96 pocillos y se realizó la lectura a 570 nm, representado en la figura 3.



Fuente: elaboración propia

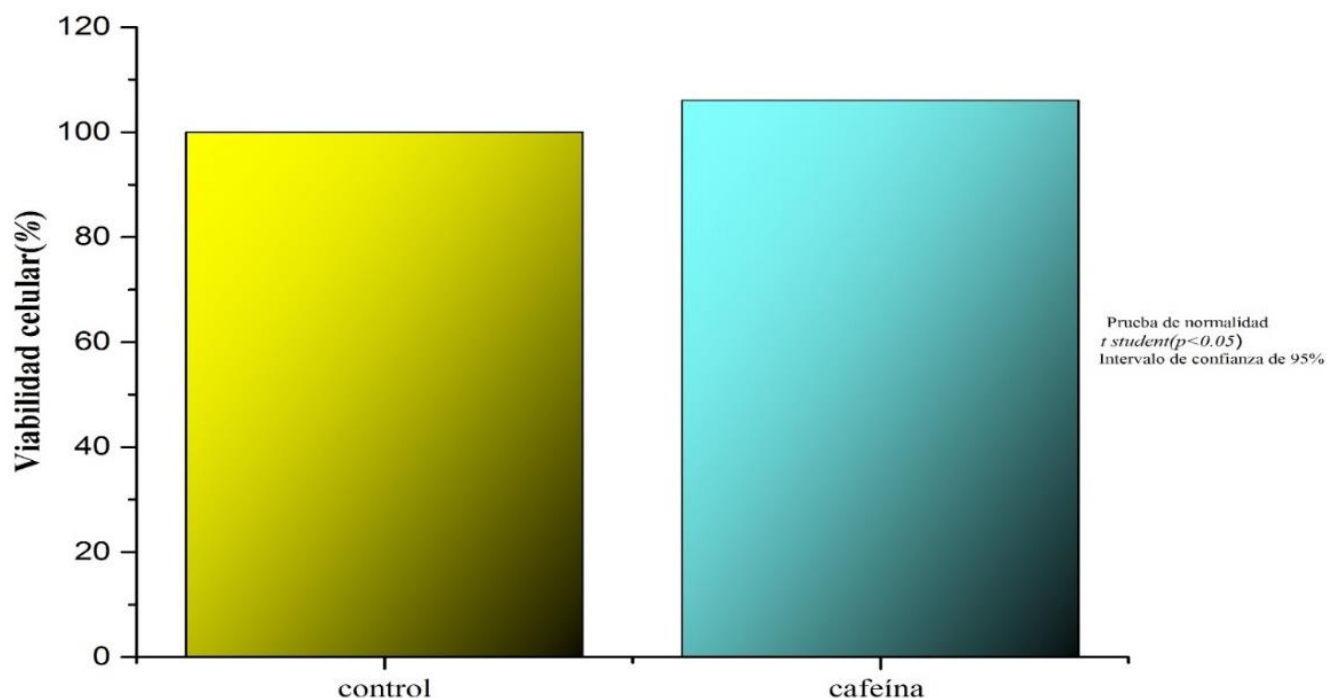
**Figura 3.** Representación del ensayo de MTT y la lectura de los resultados posteriores a la incubación de las placas de Ti con DMSO



### 3.8. Resultados

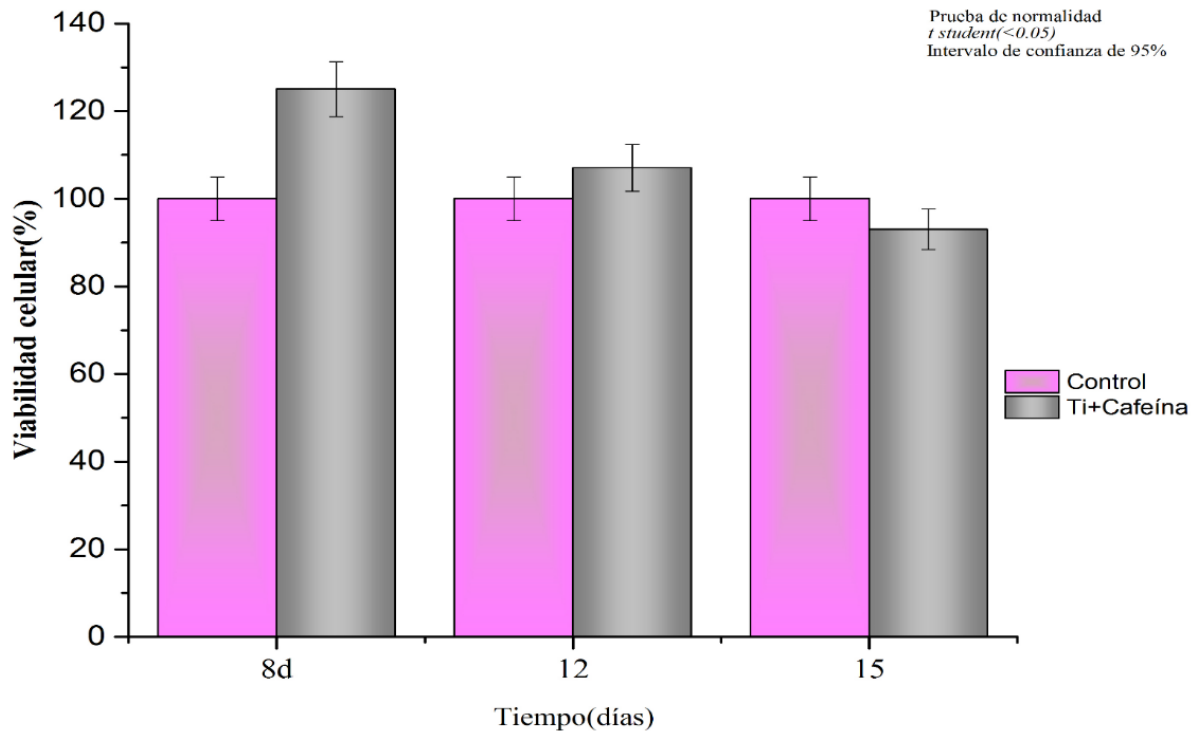
Las placas de titanio recubiertas con cafeína [1.6 µg/mL] mostraron una mejor adherencia de las células hDPSC con un 8.5 % superior al grupo control (Gráfica 1). El ensayo de proliferación mostró que a los 8 y 12 días se incrementó la proliferación de las hDPSC en un 25 y 6 % respectivamente (Gráfica 2).

**Gráfica 1. Efecto sobre la adhesión inicial de hDPSC en superficies de titanio**



**Gráfica 1.** Grafica que representa los resultados obtenidos en el ensayo de adhesión de células hDPSC sobre superficie de placas de Ti. Se evaluó la viabilidad celular en donde el grupo control no contuvo cafeína sobre su superficie, es representado con la barra de color amarillo que obtuvo un resultado de 100, mientras que las placas recubiertas con cafeína son representadas con la barra de color azul, obteniendo un resultado de 108.5.

**Gráfica 2. Efecto proliferativo de hDPSC en superficies de titanio**



**Grafica 2.** Grafica que presenta los resultados obtenidos durante el ensayo de proliferación celular en placas de Ti sin y con cafeína en donde se evaluó el tiempo (x) y la viabilidad celular (y). Siendo las barras de color purpura las representantes del grupo control al cual se asignaron las placas de Ti sin cafeína y las barras de color gris las placas de Ti con cafeína. El estudio demostró que a los 8 días se obtuvo un 125, a los 12 días 108 y al 15vo día se obtuvo un 95.

### 3.9. Discusión

En el ensayo *in vitro* de esta investigación se llevó a cabo un estudio experimental *in vitro* para determinar si un purificado de cafeína a una concentración a [0.025 µg/mL] podría ser utilizado como recubrimiento para biofuncionalizar las placas de Ti y obtener propiedades adhesivas y proliferativas mediante la incubación de células hDPSC. Los resultados obtenidos demostraron una buena adhesión inicial después de 4 h de incubación y una proliferación celular considerable en el 8vo y 12vo día.

En comparación con otros estudios, como los de Bo-Hyun y cols (2017) y Jung y cols (2022), que utilizaron fibronectina, elastina y extracto de *Dipterocarpus tuberculatus* respectivamente, para biofuncionalizar la superficie de las placas de Ti, nuestro estudio demostró resultados comparables en términos de adhesión y proliferación celular.

Además, el estudio de Benerjee y cols (2019) que utilizó extracto de *acemannan* y quitosano sobre la superficie de discos de Ti también demostró efectos osteopromotores y antibacterianos. Los resultados obtenidos en nuestro estudio también concuerdan con el estudio de Prabakaran y col (2021) en donde se utilizó un extracto natural de ajo y jengibre para elaborar un compuesto formado por hidroxiapatita, crisina gentamicina y el extracto natural de ajo-jengibre, incubándolas con 10 µg/mL en un intervalo de 1,4 y 7 días. En este estudio, el séptimo día fue el que presentó mayor actividad de células osteoblásticas.

Por otro lado, el estudio de Kang y cols (2020) biofuncionalizó las superficies de las placas de Ti con un extracto de ginseng rojo (4.5 mg/m), utilizando células osteoblásticas MC3T3-E1 para medir la actividad osteoblástica. Los resultados demostraron un aumento en la proliferación y diferenciación celular después de 7 días de incubación. En un estudio realizado por Yang y cols <sup>(64)</sup> se utilizó una solución a base de polvo de cafeína a concentraciones de 100-1 mM para observar la respuesta metabólica de los osteoblastos mediante un ensayo *in vitro*, dando como resultado la disminución de la viabilidad celular al tercer y séptimo día, estos resultados son comparables con el estudio realizado por Yusuke y cols <sup>(65)</sup> en donde la cafeína sola a concentración de 1mM inhibió la proliferación celular a las 24 hrs.

Mohammad y cols <sup>(66)</sup> estudiaron los efectos de cafeína (400mg/día-100mg/día) en la estabilidad del implante durante el tiempo de curación en un periodo de tiempo de 4,6 y 8 semanas. Sus resultados se pueden interpretar de manera que la cafeína no tiene un efecto negativo en la estabilidad del implante durante el periodo de curación. A pesar de estos estudios previos, no se encontraron datos sobre la biofuncionalización de las placas o implantes de Ti con cafeína.

En un estudio realizado por Al Reef <sup>(68)</sup> se determinó que la cafeína tiene una respuesta bifásica en donde se demostró que la cafeína a dosis elevadas de uso crónico puede generar un aumento en los niveles de AMPc y generar apoptosis celular, así como, niveles bajos de cafeína aumentan el recuento de agentes inmunes ya que nivelan el nivel de adenosina <sup>(68)</sup>. En el estudio realizado por Shu Jem <sup>(69)</sup> también se demostró que la cafeína tiene dosis-respuesta bifásicas ya que concentraciones a partir de .2mM inhiben la mineralización, disminuyen los niveles de fosfatasa alcalina (ALP) y concentraciones de .1mM mejora diferenciación osteoblástica al expresar proteínas OPG, RUNX2, SIRT1 Y ALP <sup>(69)</sup>.

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que la cafeína puede ser una alternativa eficaz y prometedora para la biofuncionalización de las placas de Ti, lo que puede mejorar la osteointegración en la superficie del implante dental.

Sin embargo, es necesario realizar más estudios *in vitro* para confirmar estos resultados y así determinar la viabilidad de su uso clínico.

### **3.10. Conclusión**

En base a los resultados obtenidos en el presente ensayo *in vitro* se observó una buena actividad, adhesión y proliferación de células hDPSC en la superficie de placas de Ti recubiertas con un purificado de cafeína a [0.025 µg/mL], como método de biofuncionalización. En donde la actividad celular tuvo una mayor respuesta al 8vo y 12vo día, superando al grupo control. Por lo que este estudio nos permite promover a la cafeína como posible metabolito bioactivo para la implementación en estudios *in vivo* ya que aún no hay registro en la literatura sobre el uso de la cafeína para biofuncionalizar superficies de Ti

## 4. Referencias

1. Petersen P, Bourgeois D, Ogawa H, Estuphinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bulletin of the World Health Organization* 2005;83:661-669. Disponible en: <https://www.scielosp.org/article/bwho/2005.v83n9/661-669>
2. Sheiham A. Oral health, general health and quality of life. *Bull World Health Organ.* 2005;83(9):644. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2626333/>
3. Taheri JB, Azimi S, Rafieian N, Zanjani HA. Herbs in dentistry. *Int Dent J.* 2011;61(6):287-96. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22117784/>
4. Shital Gandhalikar, Neeraj Chauhan, Abhishek Gupta, Junaid Kapadia, Manoj Jain, Arshdeep Kaur. A Review on Herbal Extracts in Dentistry: Current Scenario and Future Trends. *South Asian Res J Oral Dent Sci*,2022.4(2),15-19. Disponible en: [https://scholar.google.com.mx/scholar?q=A+Review+on+Herbal+Extracts+in+Dentistry:+Current+Scenario+and+Future+Trends&hl=es&as\\_sdt=0&as\\_vis=1&oi=scholart](https://scholar.google.com.mx/scholar?q=A+Review+on+Herbal+Extracts+in+Dentistry:+Current+Scenario+and+Future+Trends&hl=es&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholart)
5. Cruz Martínez C, Diaz Gómez M, Oh MS. Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental treatment in Mexican dentistry: a review. *Pharm Biol.* 2017;55(1):1992-1998. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28738710/>
6. Gulcin Bilgin Gocmen, Funda Yanikoglu, Dilek Tagtekin, George K. Stookey, Bruce R. Schemehorn, Osman Hayran. Effectiveness of some herbs on initial enamel caries lesion, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*,2016;6(10):846-850. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169116300715>
7. Prabakaran S, Rajan M. The osteogenic and bacterial inhibition potential of natural and synthetic compound loaded metal–ceramic composite coated titanium implant for orthopedic applications: *NewL.Chem.*,2021,45,15996–16010. Disponible en: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/NJ/D1NJ02363B>
8. Blanco Lopez P, Monsalve Guil L, Matos Garrido N, Moreno Muñoz J, Núñez Marquez E, Velasco Ortefa E. La oseointegración de implantes de titanio con diferentes superficies rugosas. *Avances en odontoestomatología*, 2018, 34 (3),141-147. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/odonto/v34n3/0213-1285-odonto-34-3-141.pdf>
9. Ehsan Tafazoli Moghadam, Mohsen Yazdanian, Elahe Tahmasebi, Hamid Tebyanian, Reza Ranjbar, Alireza Yazdanian, Alexander Seifalian, Ali Tafazoli, Current herbal medicine as an alternative treatment in dentistry: In vitro, in vivo and clinical studies, *European Journal of Pharmacology*,2020,889,2-18. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299920307573>
10. Eftekhari Ashtiani, Reza, Alireza Hadi, Farzad Nouri, Saeide Rahimi, Ashkan Badkoobeh, Kamyar Abbasi, and Mostafa Alam. "The role of current herbal extracts in bone regeneration through dental implants: in vitro/in vivo/clinical studies". *Archives of Medical Science* (2022), 2-7. Disponible en: <https://www.archivesofmedicalscience.com/The-role-of-current-herbal-extracts-in-bone-regeneration-through-dental-implants,153510,0,2.html>
11. Parithimarkalaignan S, Padmanabhan TV. Osseointegration: an update. *J Indian Prosthodont Soc.* 2013;13(1):2-6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24431699/>
12. Deb S, Chana S. Biomaterials in Relation to Dentistry. *Front Oral Biol.* 2015;17:1-12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26201271/>
13. Barbalho SM, Araújo AC, Penteado Detregiachi CR, Buchaim DV, Guiguer ÉL. The Potential Role of Medicinal Plants in Bone Regeneration. *Altern Ther Health Med.* 2019;25(4):32-39. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31202209/>
14. Yuwono, B. The effect of caffeine on osteoblast proliferation after tooth extraction in Wistar rats. *Dental journal*,2006. 39(1),32–34. Disponible en: <https://ejournal.unair.ac.id/MKG/article/view/1111>
15. Barasch A, Gordon S. Effects of Caffeine on Salivation Oral health case Rep 2016, 1:2, 2.4. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/303424429\\_Effects\\_of\\_Caffeine\\_on\\_Salivation](https://www.researchgate.net/publication/303424429_Effects_of_Caffeine_on_Salivation)
16. Reyes C, Cornelis M. Caffeine in the Diet: Country-Level Consumption and Guidelines. *Nutrients*.2018.10;1772:2-34 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6266969/>

17. Pardo Lozano, Ricardo; Alvarez García, Yolanda; Barral Tafalla, Diego; Farré Albaladejo, Magí Cafeína: un nutriente, un fármaco, o una droga de abuso Adicciones, 2007, 19 (3), 225-238. Disponibles en: <https://www.redalyc.org/pdf/2891/289122084002.pdf>
18. Lovallo WR, Wilson MF, Vincent AS, Sung BH, McKey BS, Whitsett TL. Blood pressure response to caffeine shows incomplete tolerance after short-term regular consumption. Hypertension. 2004;43(4):760-5. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14967827/>
19. Willson C. The clinical toxicology of caffeine: A review and case study. Toxicol Rep. 2018 3;5:1140-1152. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30505695/>
20. Blanco López P, Monsalve Guil L, Matos Garrido N, Moreno Muñoz J, Nuñez Márquez E, Velasco Ortega E. La oseointegración de implantes de titanio con diferentes superficies rugosas. Av Odontoestomatol,2018,34(3):141-149. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0213-12852018000300005&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852018000300005&lng=es).
21. Soni Prasad, Mark Ehrensberger, Monica Prasad Gibson, Hyeongil Kim, Edward A. Monaco, Biomaterial properties of titanium in dentistry, Journal of Oral Biosciences,2015;57(4):192-199. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1349007915001061>
- eb S, Chana S. Biomaterials in Relation to Dentistry. Front Oral Biol. 2015;17:1-12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26201271/>
22. Eliaz N. Corrosion of Metallic Biomaterials: A Review. Materials (Basel). 2019,28;12(3):407. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30696087/>
23. Gilbert Triplett R, Budinskaya O. New Frontiers in Biomaterials. Oral Maxillofac Surg Clin NorthAm.207;29(1):105-115. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1042369916300760?via%3Dihub>
24. Qian S, Qian Y, Liu X. Selective biofunctional modification of titanium implants for osteogenic and antibacterial applications. J.Mater. Chem.B, 2014,2; 7475-7487. Disponible en: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=0e5f19c58ab839e4c82251098a1c846fe5441708>
25. Hanawa T. A comprehensive review of techniques for biofunctionalization of titanium. J Periodontal Implant Sci.2011;41(6):263-72. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3259234/>
26. Bazli L, Khoramabadi H, Chahardehi A, Arsad H, Malekpouri B. Factors influencing the failure of dental implants: A Systematic Review. Journal of Composites and Compounds, 2020; 2(2), 18–25. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/340502288\\_Factors\\_influencing\\_the\\_failure\\_of\\_dental\\_implants\\_A\\_Systematic\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/340502288_Factors_influencing_the_failure_of_dental_implants_A_Systematic_Review)
27. Hanawa T. Biofunctionalization of titanium for dental implant, Japanese Dental Science Review, 2010;46(2);93-101. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1882761609000866>
28. Xiao M, Chen YM, Biao MN, Zhang XD, Yang BC. Bio-functionalization of biomedical metals. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2017; 1;70(2):1057-1070. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27772705/#:~:text=Bio%2Dfunctionalization%20means%20to%20endow,been%20widely%20used%20in%20clinic>.
29. Brammer, K.S., Oh, S., Cobb, C.J., Bjursten, L.M., Heyde, H. Van Der, Jin, S. Improved bone-forming functionality on diameter-controlled TiO<sub>2</sub> nanotube surface. Acta Biomater. 2009;5 (8), 3215–3223. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1742706109002104>
30. Kim E, Jeong Y, Choe H, Brantley W. Formation of titanium dioxide nanotubes on Ti-30Nb-xTa alloys by anodizing.TSF. 2013;549: 141-46. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0040609013013576>
31. Di Nardo, P., Dhingra, S., Singla, D. Adult Stem Cells. Methods and Protocols. Springer protocols. Human Press.2017: 15.25. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4939-6756-8>
32. Sedgley, C., Botero, T. (2012) Dental Stem Cells and Their Sources. Dent Clin N Am 56 (2012) 549–561 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cden.2012.05.004>

33. Nuti N, Corallo C, Chan BM, Ferrari M, Gerami-Naini B. *Multipotent Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells: a Literature Review*. *Stem Cell Rev Rep*. 2016;12(5):511-523. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/303693840\\_Multipotent\\_Differentiation\\_of\\_Human\\_Dental\\_Pulp\\_Stem\\_Cells\\_a\\_Literature\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/303693840_Multipotent_Differentiation_of_Human_Dental_Pulp_Stem_Cells_a_Literature_Review)
34. Bottino MC, Pankajakshan D, Nör JE. *Advanced Scaffolds for Dental Pulp and Periodontal Regeneration*. *Dent Clin North Am*. 2017;61(4):689-711. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28886764/>
35. Corró, C., Novellasdemunt, L., & Li, V.. A brief history of organoids. *American journal of physiology. Cell physiology*,2020;319(1),151–165. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32459504/>
36. Huang, G. T.-J., Gronthos, S., & Shi, S. Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Tissues vs. Those from Other Sources: Their Biology and Role in Regenerative Medicine. *Journal of Dental Research*,2009;88(9),792–806 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19767575/>
37. Xie Z, Shen Z, Zhan P, Yang J, Huang Q, Huang S, Chen L, Lin Z. Functional Dental Pulp Regeneration: Basic Research and Clinical Translation. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16):8991. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34445703/>
38. Caleffi JT, Aal MCE, Gallindo HOM, Caxali GH, Crulhas BP, Ribeiro AO, Souza GR, Delella FK. Magnetic 3D cell culture: State of the art and current advances. *Life Sci*. 2021;286:120028. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320521010158>
39. Preksha G, Yesheswini R, Srikanth CV. Cell culture techniques in gastrointestinal research: Methods, possibilities and challenges. *Indian J Pathol Microbiol*. 2021;64: S52-S57. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34135138/>
40. Tenkumo T, Aobulikasimu A, Asou Y, Shirato M, Shishido S, Kanno T, Niwano Y, Sasaki K, Nakamura K. Proanthocyanidin-rich grape seed extract improves bone loss, bone healing, and implant osseointegration in ovariectomized animals. *Sci Rep*. 2020;1;10(1):8812 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32483182/>
41. Pachimalla PR, Mishra SK, Chowdhary R. Evaluation of hydrophilic gel made from Acemannan and Moringa oleifera in enhancing osseointegration of dental implants. A preliminary study in rabbits. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2020;10(2):13-19. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32025481/>
42. Wang Z, Wang D, Yang D, Zhen W, Zhang J, Peng S. The effect of icariin on bone metabolism and its potential clinical application. *Osteoporos Int*. 2018;29(3):535-544. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29110063/#:~:text=These%20studies%20show%20that%20icariin,bone%20resorption%20activity%20of%20osteoclasts>.
43. Jung J, Choi YJ, Lee SJ, Choi YS, Douangdeuane B, Souliya O, Jeong S, Park S, Hwang DY, Seo S. Promoting Effects of Titanium Implants Coated with *Dipterocarpus tuberculatus* Extract on Osseointegration. *ACS Biomater Sci Eng*. 2022,14;8(2):847-858. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35073046/>
44. Bhat S, Chowdhary R. Effect of *Cissus quadrangularis* Hydrogel on Enhancing Osseointegration of Titanium Implant to Bone: An *In Vivo* Study. *J Contemp Dent Pract*. 2022 1;23(6):582-588. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36259295/>
45. Kang M, Lee S, Lee M. Bone remodeling effects of Korean Red Ginseng extracts for dental implant applications, *Journal of Ginseng Research*,2020;44(6):823-832. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1226845320300890>
46. Almeida A, Nagheteni C, Santos V, Antonio A, Farah A. Influence of natural coffee compounds, coffee extracts and increased levels of caffeine on the inhibition of *Streptococcus mutans*, *Food Research International*,2012;49(1): 459-461. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912002694#:~:text=Furthermore%2C%20it%20was%20observed%20that,potential%20inhibitors%20of%20dental%20caries>

47. Runti G, Pacor S, Colombari S, Gennaro R, Navarini L, Scocchi M. Arabica coffee extract shows antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* and *Enterococcus faecalis* and low toxicity towards a human cell line, *LWT - Food Science and Technology*, 2014; 62(1): 108-114. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643814008287>
48. Pruthviraj P, Suchita B, Shital K, Shilpa K. Evaluation of antibacterial activity of caffeine. *Int J Res Ayurveda Pharm* 2011;2:1354-7. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/302558475\\_Evaluation\\_of\\_antibacterial\\_activity\\_of\\_caffeine](https://www.researchgate.net/publication/302558475_Evaluation_of_antibacterial_activity_of_caffeine)
49. Harath N, Sowmya NK, Mehta DS. Determination of antibacterial activity of green coffee bean extract on periodontogenic bacteria like *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: An in vitro study. *Contemp Clin Dent*. 2015;6(2):166-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26097349/>
50. Aewsiri T. Caffeine in foods and its antimicrobial activity. *International Food Research Journal*, 2015;22(1):9-14. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/281752042\\_Caffeine\\_in\\_foods\\_and\\_its\\_antimicrobial\\_activity](https://www.researchgate.net/publication/281752042_Caffeine_in_foods_and_its_antimicrobial_activity)
51. Zhao L, La VD, Grenier D. Antibacterial, antiadherence, antiprotease, and anti-inflammatory activities of various tea extracts: potential benefits for periodontal diseases. *J Med Food*. 2013;16(5):428-36. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23631500/>
52. Ieraky DM, Abuhashish HM, Gad MM, Alshuyukh MH, Bugshan AS, Almulhim KS, Mahmoud MM. The Antifungal and Antibiofilm Activities of Caffeine against *Candida albicans* on Polymethyl Methacrylate Denture Base Material. *Biomedicines*. 2022;25;10(9):2078. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36140179/>
53. Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, De Natale A, Pollio A. Anti-cariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia*. 2009 ;80(5):255-62. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19397954/>
54. Souza JCM, Sordi MB, Kanazawa M, Ravindran S, Henriques B, Silva FS, Aparicio C, Cooper LF. Nano-scale modification of titanium implant surfaces to enhance osseointegration. *Acta Biomater*. 2019;94:112-131. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31128320/>
55. Ogle OE. Implant surface material, design, and osseointegration. *Dent Clin North Am*. 2015 Apr;59(2):505-20 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25835806/>
56. García-Contreras R, Scougall-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R, et al. Efectos de la luz UV sobre placas de titanio para la adhesión osteoblástica. *Rev ADM*. 2011;68(4):175-182. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=32152>
57. Contreras RG, Adachi K, Yokote Y, Sakagami H, Hibino Y, Nakajima H, Shimada J. Quantification of enhanced osteoblastic adhesion to ultraviolet-treated titanium plate. *In Vivo*. 2010;24(4):519-23. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20668319/>
58. Yadav A, Yadav R, Gupta A, Baranwal A, Bhatnagar A, Singh V. Effect of Ultraviolet Irradiation on the Osseointegration of a Titanium Alloy with Bone. *Contemp Clin Dent*. 2017;8(4):571-578. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29326508/>
59. Xuereb M, Camilleri J, Attard NJ. Systematic review of current dental implant coating materials and novel coating techniques. *Int J Prosthodont*. 2015;28(1):51-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25588174/>
60. Moghadam E, Yazdani M, Alam M, Tebyanian H, Tafazoli A, Ranjbar R, Yazdani A, Seifalian A. Current natural bioactive materials in bone and tooth regeneration in dentistry: a comprehensive overview, *Journal of Materials Research and Technology*, 2021;13:2078-2114. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2238785421005299#sec2>
61. Banerjee D, Bose S. Effects of Aloe Vera Gel Extract in Doped Hydroxyapatite-coated Titanium Implants on *in vivo* and *in vitro* biological properties. *ACS applied bio materials*. 2019;2(8):3194-3202. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsabm.9b00077>



62. González-Regueiro, I. Martínez Rodríguez, N. Andrés Veiga, M. Sanz Alonso, J. Martínez-González, J M<sup>a</sup>. Abordaje quirúrgico combinado para la desinfección y regeneración de defectos periimplantarios. A propósito de tres casos. *Cient. Dent.* 2019;16;1, 27-34. Disponible en: <https://ibecs.isciii.es/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=IBEC&lang=e&nextAction=Ink&exprSearch=183378&indexSearch=ID>
63. Martín M, Sari D, Mantika R, Praharani D. Combination of dental pulp stem cell secretome and robusta coffee bean extract (*coffea canephora*) in enhancing osteocalcin and alkaline phosphatase expression in periodontitis induced wistar rats. *J Orofac Sci.* 2021;13:136-41. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/357930196\\_Combination\\_of\\_Dental\\_Pulp\\_Stem-Cell\\_Secretome\\_and\\_Robusta\\_Coffee\\_Bean\\_Extract\\_Coffea\\_canephora\\_in\\_Enhancing\\_Osteocalcin\\_and\\_Alkaline\\_Phosphatase\\_Expression\\_in\\_Periodontitis-Induced\\_Wistar\\_Rats](https://www.researchgate.net/publication/357930196_Combination_of_Dental_Pulp_Stem-Cell_Secretome_and_Robusta_Coffee_Bean_Extract_Coffea_canephora_in_Enhancing_Osteocalcin_and_Alkaline_Phosphatase_Expression_in_Periodontitis-Induced_Wistar_Rats)
64. Tsuang Y. Sun J. Chen L. Sun S. Chen S. Direct effects of caffeine on osteoblastic cell metabolism: the possible causal effect of caffeine on the formation of osteoporosis. *J Orthop Surg Res.* 2016;1;7. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/1749-799X-1-7>
65. Kiyoura Y. Ohta M. Cheuk G. Yazdani M. Saltzman M. Nakamoto T. Combined effects of caffeine and prostaglandine E2 on the proliferation of osteoblast-like cells (UMR106-1)\*. *J periodontal.* 1999;70:3;283-287.
66. Jafarian M. Tabrizi R. Haghi S. Shaffiei S. Does caffeine affect dental implant stability? A prospective cohort study. *J Dent Shiraz Univ Med Sci.* 2022; 23(2); 102-105. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35783490/>
67. Kang M, Lee S, Lee M. Bone remodeling effects of Korean red ginseng extracts for dental implant applications. *J Ginseng Res.* 2020;44(6):823-832. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33192126/>
68. Al Reef T, Ghanem E. Caffeine: Well-known as psychotropic substance, but little as immunomodulator. *2018.223(12):818-825* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30146130/>
69. Shu-Jem S, Kee-lung C, Yao-Tsung Y. Caffeine regulates osteogenic differentiation and mineralization of primary adipose-derived stem cells and a bone marrow stromal cell line. *Int Journ of Food Sien and Nut.* 2013.64(4):429-436. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23301724/>
70. Lago G, Ramírez J, Castro N, Chávez P, Manisekaran R. Nanopartículas incorporadas al PMMA y sus propiedades antimicrobianas: una revisión sistemática. *Mundo Nano.* 2022.15(22). 1-14. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-56912022000200305&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-56912022000200305&lng=es).



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

La Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León  
a través de la División de Educación Continua e Innovación

Otorga la presente

## CONSTANCIA

a

Rubén Torres Perales, Patricia Alejandra Chávez Granados,  
Hugo Alvarado Garnica & René García Contreras

Por su participación en el  
*Concurso de Presentaciones de Cartel*  
con el trabajo

***"Evaluación Del Proceso De Adhesión Y Proliferación De Hdpse  
Sobre Placas De Titanio Biofuncionalizadas Con Cafeína"***

llevada a cabo el  
19 de octubre de 2022

en el marco del  
**I° Congreso Internacional de  
BioNano Materiales**

*"Por mi Raza Hablará el Espíritu"*  
León, Guanajuato, a 25 de octubre de 2022

  
Dra. Laura Susana Acosta Torres  
Directora  
ENES Unidad León, UNAM



  
Esp. Roberto Ruiz Díaz  
Jefe de División  
Educación Continua e Innovación



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

La Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León  
a través de la División de Educación Continua e Innovación

Otorga el presente

## RECONOCIMIENTO


a


Rubén Torres-Perales, Patricia Alejandra Chávez-Granados, Hugo Alvarado-Garnica & René García-Contreras


Por su participación académica con el trabajo  
“EVALUACIÓN DEL PROCESO DE ADHESIÓN Y PROLIFERACIÓN  
DE HDPSO SOBRE PLACAS DE TITANIO BIOFUNCIONALIZADAS CON CAFEÍNA”

llevada a cabo el  
30 de septiembre de 2022  
en el marco del  
Greater Expo ARIC Dental 2022

“Por mi Raza Hablará el Espíritu”  
León, Guanajuato, a 30 de septiembre de 2022

  
Dra. Laura Susana Acosta Torres  
Directora  
ENES Unidad León, UNAM

  
Lic. Juan José Ulloa García  
Presidente  
Greater ARIC Dental 2022

  
Esp. Róberfo Ruiz Díaz  
Jefe de División  
Educación Continua e Innovación



ENES-UNAM-DECI-ARC22-0028