

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES ENES LEÓN
PROGRAMA DE ESPECIALIZACIONES EN ODONTOLOGÍA**

**INFLUENCIA DE LAS ONDAS DE CHOQUE EN CÉLULAS
PULPARES Y OSTEÓBLASTOS**

INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN ORTODONCIA

PRESENTA:
ANA LAURA RAMÍREZ RAMÍREZ

TUTOR: MTRO. ROBERTO RUIZ DIAZ
ASESORES: GISEL GARCÍA GARCÍA
RENÉ GARCÍA CONTRERAS
ACHIM M. LOSKE
FRANCISCO FERNÁNDEZ

LEÓN, GUANAJUATO, MÉXICO , 2021.



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.

Influencia de las ondas de choque en células pulpaes y osteoblastos
Influence of shock wave doses on pulp cells and osteoblasts

Ana Laura Ramírez-Ramírez¹

Achim M. Loske²

Francisco Fernández²

René García-Contreras^{3*}

Roberto Ruiz-Díaz¹

Gisel García-García¹

¹Área de Ortodoncia, Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, Universidad Nacional Autónoma de México, Boulevard UNAM 2011, 37689 León, Gto., México; ²Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, Boulevard Juriquilla 3001, 76230 Querétaro, Qro., México; ³Área de Nanoestructuras y Biomateriales, Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, Universidad Nacional Autónoma de México, Boulevard UNAM 2011, 37689 León, Gto., México.

Autor de correspondencia:

*René García-Contreras. Blvd. UNAM #2011, Predio El Saucillo y, Comunidad de los Tepetates, Colonia El Potrero, C.P 37684 León, Gto. Tel. [477 194 0800](tel:4771940800), Ext. 43463
E-mail: rgarciac@enes.unam.mx

Se agradece el apoyo brindado por la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES)-León y el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM.

Título corto: Ondas de choque y proliferación celular

Resumen

Introducción: La terapia con ondas de choque estimula los procesos de curación al inducir la neovascularización y la diferenciación de las células madre en células del tejido lesionado para permitir una curación y regeneración adecuada. Esta terapia ha mostrado tener buenos resultados en el tratamiento para desintegrar cálculos y/ o calcificaciones, epicondilalgia, fascitis plantar, tendinopatía rotuliana, tendinitis calcificante, entre otras, dónde además de la desintegración mecánica tiene efecto analgésico y estimulación del proceso de regeneración tisular. **Objetivo:** Evaluar la efectividad de las ondas de choque extracorpóreas según la presión y la cantidad de ondas aplicadas, para estimular la proliferación de un cultivo de odontoblastos y células troncales pulpares humanas. **Método:** Estudio experimental *in vitro*. Se inocularon 6×10^5 células/mL de células óseas humanas y pulpares, a las que se les aplicaron diferentes dosis de ondas de choque, formándose aleatoriamente ocho grupos por tipo celular. **Resultados:** La cantidad de ondas de choque y la presión del pulso positivo de las mismas influyen en la viabilidad celular. Al aplicar a osteoblastos 400 ondas de choque con una presión de aproximadamente 22 MPa, se obtuvo un incremento del 50% en la viabilidad celular, a las 48 horas postratamiento. **Conclusiones:** El uso de presiones bajas y cantidades de ondas de choque altas aumentan la actividad celular.

PALABRAS CLAVE: *Ondas de choque. Cavitación acústica. Osteoblastos. Células pulpares. Viabilidad celular.*

Abstract

Introduction: Shock wave therapy stimulates healing processes by inducing neovascularization and differentiation of stem cells into cells of injured tissue to allow proper healing and regeneration. **Objective:** To evaluate the effectiveness of extracorporeal shock waves according to the pressure and number of waves applied to stimulate the proliferation of cultured human odontoblasts and dental pulp stem cells. **Method:** Prospective, comparative, *in vitro* experimental study. Approximately 6×10^5 cells/ml of human bone and dental pulp cells were inoculated, and different numbers of shock waves were applied to randomly form 8 groups per cell type. **Results:** The number of shock waves and their positive pulse pressure influence cell viability. By applying 400 shock waves at a pressure of approximately 22 MPa to osteoblasts, a 50% increase in

cell viability was obtained at 48 hours. **Conclusions:** The use of low pressure and a high number of shock waves increases cellular activity.

KEY WORDS: *Shock waves. Acoustic cavitation. Osteoblasts. Pulp cells. Cell Viability.*

Introducción

Las aplicaciones biomédicas de las ondas de choque se establecieron para el tratamiento seguro y efectivo de varios padecimientos.(1) La litotricia extracorpórea por ondas de choque (LEOCH) revolucionó el tratamiento de la urolitiasis a principios de la década de 1980. Le siguieron la LEOCH para tratar cálculos en la vesícula biliar, el conducto biliar, el conducto pancreático y los conductos de las glándulas salivales.(1) Las ondas de choque (OCH) también se han utilizado en diferentes campos de la medicina para estimular procesos de cicatrización.(2-4) La terapia con OCH estimula los procesos de curación al inducir la neovascularización y la diferenciación de las células madre en células del tejido lesionado para permitir una curación y regeneración adecuada.(4-7) Además, el tratamiento con OCH en las células osteoprogenitoras de la médula ósea y las células osteoblásticas aumenta los marcadores de diferenciación (fosfatasa alcalina, osteocalcina) y la expresión del factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-1).(8,9)

La interacción de OCH con la materia es un campo amplio y, aunque se ha avanzado en la comprensión de los fenómenos involucrados, aún quedan preguntas por responder.(1) Uno de los principales fenómenos relacionados con la mecanotransducción, es el crecimiento y colapso de microburbujas después del paso de una OCH, denominado cavitación acústica.(10) El colapso es tan violento que genera chorros de fluido de alta velocidad (*microjets*) y OCH secundarias que producen esfuerzos en los tejidos, aumentando la circulación y el metabolismo, así como la permeabilidad celular.(1)

Como ha sido mencionado anteriormente la aplicación de OCH induce a la neovascularización, osteointegración y remodelación ósea en medicina. (4-7) Sin embargo en el área de ortodoncia, es importante investigar su utilidad ya que el tratamiento ortodóntico se basa en el principio de que, si se aplica una presión prolongada sobre un diente, se producirá una movilización del mismo al remodelarse el hueso que lo rodea. Los elementos tisulares que sufren cambios durante el movimiento dentario son principalmente el ligamento periodontal, con sus células, fibras, capilares y nervios, y secundariamente, el hueso alveolar. El ligamento periodontal y

el hueso alveolar tienen una plasticidad que permite el movimiento fisiológico y ortodóntico de los dientes.(20-21)

El objetivo del presente estudio fue evaluar la efectividad de las OCH según su presión y cantidad, para estimular la proliferación de un cultivo de osteoblastos y células troncales pulpares mesenquimales humanas, mediante la estimación de la viabilidad celular por actividad metabólica posterior a la aplicación de diferentes dosis de OCH.

Materiales y métodos

Se diseñó un estudio experimental *in vitro* comparativo, utilizando células óseas humanas y pulpares. Las muestras se obtuvieron a partir de terceros molares extraídos de pacientes que acudieron a la clínica de Cirugía de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES), Unidad León, a través de un muestreo no probabilístico con un tamaño de muestra triplicado de un total de tres experimentos independientes. Los criterios de inclusión fueron las células óseas y pulpares humanas. Los de exclusión fueron aquellas células con más de 20 divisiones celulares y con menor densidad celular. Los de eliminación se aplicarían en caso de contaminación del cultivo celular o falta de la densidad celular.

Aislamiento y cultivo celular

Se utilizaron aproximadamente 6×10^5 células/mL de osteoblastos (HBC, *human bone cells*) y células troncales pulpares humanas (hDPSC, *human dental pulp stem cells*). El cultivo primario de HBC y hDPSC fue obtenido de biopsias frescas de tejido óseo y pulpa dental, libres de patología pulpar y periapical. El protocolo de aislamiento y cultivo de HBC y hDPSC fue aprobado por el Comité de Bioética de la ENES Unidad León de la UNAM (registro CE_16/004_SN).

Aplicación de ondas de choque

Se aplicaron diferentes dosis de OCH y niveles de presión, utilizando ocho grupos por tipo celular que se muestran en la Tabla 1. Todas las células se

suspendieron en un medio de cultivo (DMEM-1x *Dulbecco's Modified Eagle Medium*, Gibco, Cergy-Pontoise, Francia) y se colocó 1 mL de suspensión celular en pipetas de polietileno estériles de 41 mm de largo por 13 mm de diámetro (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), selladas con calor. La aplicación de las OCH se realizó en el Generador Multifuncional del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la UNAM, un equipo experimental basado en un generador de ondas de choque Piezolith 2501 (Richard Wolf GmbH, Knittlingen, Alemania), formado por 3,000 cristales piezoeléctricos colocados sobre un cascarón esférico de aluminio con un radio de curvatura de 345 mm (Figura 1). Para generar una onda de choque, los elementos piezoeléctricos reciben una descarga de alto voltaje. Debido al efecto piezoeléctrico inverso, cada elemento sufre una expansión, emitiendo una onda de compresión que se propaga a través del agua. Por efectos no lineales y la superposición de la contribución de cada elemento, se genera una onda de choque en la cercanía del centro (foco). Los elementos piezoeléctricos, sellados con una capa polimérica, forman parte del fondo de una tina de acrílico (base: 675×675 mm; altura: 450 mm). En la parte superior de la tina se instaló un posicionador xyz de precisión (± 0.5 mm) para centrar las muestras en el foco. Dependiendo del voltaje, la presión del pulso positivo de la OCH varía. La temperatura y el nivel de agua se fijaron en 37°C y 80 mm arriba del plano focal, respectivamente. El Grupo control pasó por el mismo proceso, pero sin recibir OCH (Tabla 1).

Conteo de la viabilidad y proliferación celular

Después de aplicar las OCH, se retiró el medio de las pipetas, se lavó con 0.5 mL de PBS (pH 7.4) y las células fueron suspendidas con 1 mL de tripsina (Sigma-Aldrich, Toluca, Edo. Mex., México). Todas las células se inocularon con medio de cultivo (DMEM) adicionado con 10% de suero fetal bovino, 1% de antibiótico (Penstrep, Sigma-Aldrich) y glutamina (Gibco, Grand Island, NY, EUA) en una placa de 24 pocillos e incubadas a 37°C con 5% de CO₂ y una humedad de 95%.

La viabilidad celular se estimó a las 48 h y a los 7 días por el ensayo de viabilidad celular con sal de tetrazolio (MTT) a 0.2 mg/mL (Sigma-Aldrich) y por conteo celular en un hematocitómetro. Las células fueron incubadas por 7 horas y los cristales de

formazán fueron disueltos con dimetil sulfóxido ($(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, DMSO, J.T Baker, EUA). El formazán fue transferido a una placa de 96 pocillos y analizado en un lector de microplaca (Thermo Scientific Multiskan, GO, EUA) a una longitud de onda de 570 nm. Cada ensayo se realizó por triplicado de tres experimentos independientes. Para el conteo por hematocitómetro se retiró el medio de cultivo de los pocillos de todos los grupos antes mencionados y se lavaron las células dos veces con PBS. Posteriormente, se añadieron 0.2 mL de tripsina a cada pocillo para el desprendimiento de la monocapa celular y se colocó durante 5 minutos en una incubadora (Binder™, Tuttlingen, Alemania). Posteriormente, se realizó el análisis de las muestras mediante una cámara de Neubauer de 1/10 mm de profundidad (BOECO, Hamburgo, Alemania), donde se colocó un cubreobjetos y se contaron las viables en un microscopio de contraste de fases (Leica, DMIL LED Trinocular, Massachusetts, EUA).

Análisis estadístico

El análisis fue realizado por triplicado de cada grupo de 8 experimentos independientes ($n=4/\text{gp}$). Los datos fueron analizados con pruebas de normalidad de Shapiro-Wilks y prueba de ANOVA pos-hoc de Tukey ($p<0.05$; coeficiente de confiabilidad 95%).

Resultados

Proliferación celular

Las células HBC del grupo cuatro con una presión de 21.7 ± 0.3 de MPa y un número de 400 OCH se observó un incremento en la viabilidad celular del del 50% ($p<0.001$) a las 48 horas de incubación ($150\pm 3.3\%$, $p<0.01$), en comparación con el control (Tabla 2). En el conteo por hematocitómetro se observaron resultados similares con un mayor número de células a las 48 horas, sin mostrar diferencias significativas referentes al grupo control ($660,000\pm 254,558$ células/mL, $p>0.05$). En el caso de las hDPSC, ningún grupo mostró mayor proliferación ($p>0.05$) en comparación con el control. Posterior a los 7 días de incubación, ningún tipo de célula y grupo incrementó la proliferación celular por ninguno de los dos métodos. La mortalidad dependió de la presión y del número de OCH, observándose que utilizando el máximo número de OCH

y la máxima presión contemplada en el estudio, hubo una disminución del 70% y hasta del 100% en la viabilidad celular a partir de las 48 horas. El ensayo de MTT resultó ser más eficiente para estimar la viabilidad celular en comparación con el conteo por cámara Neubauer.

Discusión

Se han evaluado métodos para mejorar la tasa, magnitud y estabilidad del movimiento ortodóncico, así también como para acelerar el tratamiento ortodóncico, tales como, farmacológico biológico, vibración mecánica, fotobiomodulación láser, corticotomías, piezocisión, microperforaciones, etc. Sin embargo, algunos de dichos tratamientos tienen efectos secundarios y poca aceptación por los pacientes.(22,23) En ortodoncia podría ser una alternativa no invasiva y prometedora de aceleración del tratamiento ortodóncico.

Es imprescindible entender la reacción de las células óseas y pulpares ante las ondas de choque, sin embargo en el caso de estudios *in vitro*, las diferencias entre los arreglos experimentales dificultan las comparaciones entre los resultados publicados.(11) Así, por ejemplo, los efectos biológicos producidos con el perfil de presión que emite el equipo usado en este estudio no son directamente comparables con aquellos que resultan al usar otro modelo, incluso si la magnitud del pulso de presión positivo y la cantidad de pulsos aplicados son equivalentes. A pesar de esto, se puede llegar a conclusiones generales.

En los resultados del presente estudio demuestra que la cantidad de OCH y la presión del pulso positivo influyen en la proliferación celular. Esto concuerda con un estudio reportado por Tam y colaboradores, en el cuál la densidad de energía más alta indujo una disminución significativa de células viables de un 90%.(12)

El tratamiento con OCH de baja intensidad resultó en una mayor proliferación celular, aumentando el número de células viables en un 44.4% ($p < 0.001$). Las OCH de alta presión incrementaron el número de células viables un 21.7%. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p = 0.011$). Además, al aplicar baja presión a las células

periósticas, el día 35 se encontraron mayores depósitos de calcio en comparación con el grupo control (259%; $p=0.018$). Con el tratamiento de alta presión no hubo cambios significativos manteniendo constante el número de ondas aplicadas.(12) Esto coincide con un estudio publicado por Martini et al.(9) A las 48 horas, la viabilidad celular disminuyó aproximadamente 54% en el grupo que recibió OCH de mayor presión, en comparación con los otros grupos ($p<0,0005$), sugiriendo que la presión de las OCH por sí sola afecta a la viabilidad de los osteoblastos, sin importar el número total de ondas aplicadas.(9) Debido a que Tam et al.(12) y Martini et al.(9) usaron un generador de OCH electromagnético y electrohidráulico, respectivamente, no es conveniente hacer una comparación directa con los parámetros ajustados en nuestro generador piezoeléctrico. Otros autores han declarado que los efectos biológicos generalmente son proporcionales a la energía total absorbida por el tejido, pero han surgido problemas al comparar diferentes estudios que especifican sólo la densidad de flujo de energía y el número de impulsos.(13-15)

Al usar el nivel de presión bajo y el número de OCH alto, encontramos un incremento en la viabilidad celular en comparación con el control a las 48 horas, coincidiendo con los resultados publicados por otros autores.(12,16-18) Sin embargo, en el día 7 detectamos un decremento en todos los grupos en comparación con el control. Este hecho no concuerda con los resultados publicados por Tam y colaboradores(12) y Kusnierczak et al.,(19) quienes detectaron un efecto a largo plazo sobre el número de células viables, la proliferación celular y la mineralización de las células periósticas humanas entre el tercero y octavo día. Debido a que las células periósticas desempeñan un papel importante en la curación ósea, se plantea la hipótesis que un tratamiento con OCH podría ejercer un efecto estimulante retardado sobre las células periósticas. Aunque nuestros resultados mostraron diferencias con respecto a los de Tam et al.(12), a largo plazo concuerdan en que una mayor cantidad de OCH de baja intensidad favorece las actividades celulares en comparación con una cantidad baja de OCH de alta intensidad.

Limitantes del estudio:

Una de las limitantes del estudio fue el tamaño muestral, pues comparado con otros estudios, el empleado en este estudio fue menor, lo que podría haber influido en la detección de diferencias estadísticas significativas, aunado a la dificultad de que el aparato de OCH no se encontraba en el mismo laboratorio donde se realizó el aislamiento, cultivo, conteo de la viabilidad y proliferación celular, teniendo que transportar los grupos celulares en una incubadora sin CO₂ durante 11 hrs para la aplicación de OCH, dando como resultado apoptosis de células durante el tiempo mencionado, reduciendo todavía más la muestra, sin embargo, esto también ocurrió en el grupo control.

Además cabe mencionar la dificultad que implica la aplicación de cada método, lo que se traduce en una menor precisión del de Neubauer, pues el conteo celular se lleva a cabo por parte de un operador, lo que podría dar lugar a un sesgo de información.

Fortalezas: Se utilizaron 7 dosis diferentes que permite descartar aquellas que no inducen a la proliferación para siguientes estudios.

Conclusiones

Para lograr un aumento en la actividad celular, es preferible el uso de presiones bajas y cantidades de OCH altas. Los parámetros con los que se obtuvo un mayor incremento en la viabilidad celular (50%) de osteoblastos humanos a las 48 horas, fueron 400 OCH de 21.7 ± 0.3 MPa. Las hDPSC no mostraron un incremento en la proliferación celular.

En el futuro se sugiere incrementar la muestra de estudio. El análisis deberá enfocarse en la detección de proteínas proinflamatorias como las interleucinas (IL), IL-1B, IL-6, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la fosfatasa alcalina, la identificación de cristales mineralizantes y determinar la capacidad de las OCH para acelerar la diferenciación celular a linajes osteogénicos, adipogénicos y condrogénicos de las células troncales humanas. Además, se sugiere que el estudio se realice como mínimo durante

30 días, ya que ese es el tiempo que tarda un efecto inflamatorio y dependiendo de los días varía la actividad celular.

Así, como se mencionó anteriormente esta terapia ha sido cada vez más utilizada en el ámbito odontológico, los resultados del presente estudio muestran que además también es una alternativa prometedora para la proliferación de las células óseas y pulpares lo que puede tener gran potencial en el ámbito de la aceleración de los tratamientos en ortodoncia, la regeneración ósea al colocar implantes, e incluso como un factor bactericida en periodoncia.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo otorgado por la laboratorista Paula Bernardino.

Financiamiento

Se agradece el apoyo económico brindado por la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES)-León y el CFATA de la UNAM.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Referencias

1. Loske AM. Medical and Biomedical Applications of Shock Waves. Springer International Publishing AG. Cham, Switzerland, 2017:1-43.
2. Haupt G. Use of extracorporeal shock waves in the treatment of pseudarthrosis, tendinopathy and other orthopedic diseases. J Urology. 1997;(158):4–11.
3. Novak KF, Govindaswami M, Ebersole JL, Schaden W, House N, Novak MJ. Effects of low-energy shock waves on oral bacteria. J Dent Res. 2008;(87):928–931.
4. Sathishkumar S, Meka A, Dawson D, House N, Schaden W, Novak MJ, et al. Extracorporeal shock wave therapy induces alveolar bone regeneration. J Dent Res. 2008;(87):687–691.
5. Huang S, Xu L, Sun Y, Wu T, Wang K, Li G. An improved protocol for isolation and

culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow. *J Orthop Translat.* 2015;3:26–33.

6. Wang C, Chen CYC, Huang HY. Pathomechanism of shock wave induced injuries on femoral artery, vein and nerve. ISMST. Vienna, Austria, 2000;95.

7. Wang CJ, Wang FS, Yang KD, Weng LH, Hsu CC, Huang CS, et al. Shock wave therapy induces neovascularization at the tendon-bone junction. A study in rabbits. *J Orthopaed Res.* 2003;(21):984–989.

8. Wang FS, Yang KD, Chen RF, Wang CJ, Sheen-Chen SM. Extracorporeal shock wave promotes growth and differentiation of bone-marrow stromal cells towards osteoprogenitors associated with induction of TGF-beta1. *J Bone Joint Surg Br.* 2002;(84):457–461.

9. Martini L, Giavaresi G, Fini M, Torricelli P, de Pretto M, Schaden W, Giardino R. Effect of extracorporeal shock wave therapy on osteoblastlike cells. *Clin Orthop Relat R.* 2003;(413):269–280.

10. d'Agostino MC, Craig K, Tibalt E, Respizzi S. Shock wave as biological therapeutic tool: from mechanical stimulation to recovery and healing, through mechanotransduction. *Int J Surg.* 2015;(24):147–153.

11. Dietz-Laursonn K, Beckmann R, Ginter S, Radermacher K, de la Fuente M. *In vitro* cell treatment with focused shockwaves—influence of the experimental setup on the sound field and biological reaction. *J Ther Ultrasound.* 2016;(4):10.

12. Kam-Fai Tam, Wing-Hoi Cheung, Kwong-Man Lee, Ling Qin, Kwok-Sui Leung. Delayed stimulatory effect of low-intensity shockwaves on human periosteal cells. *Clin Orthop Relat R.* 2005;(438):260–265.

13. Augat P, Claes L, Suger G. In vivo effect of shock-waves on the healing of fractured bone. *Clin Biomech.* 1995;(10):374–378.

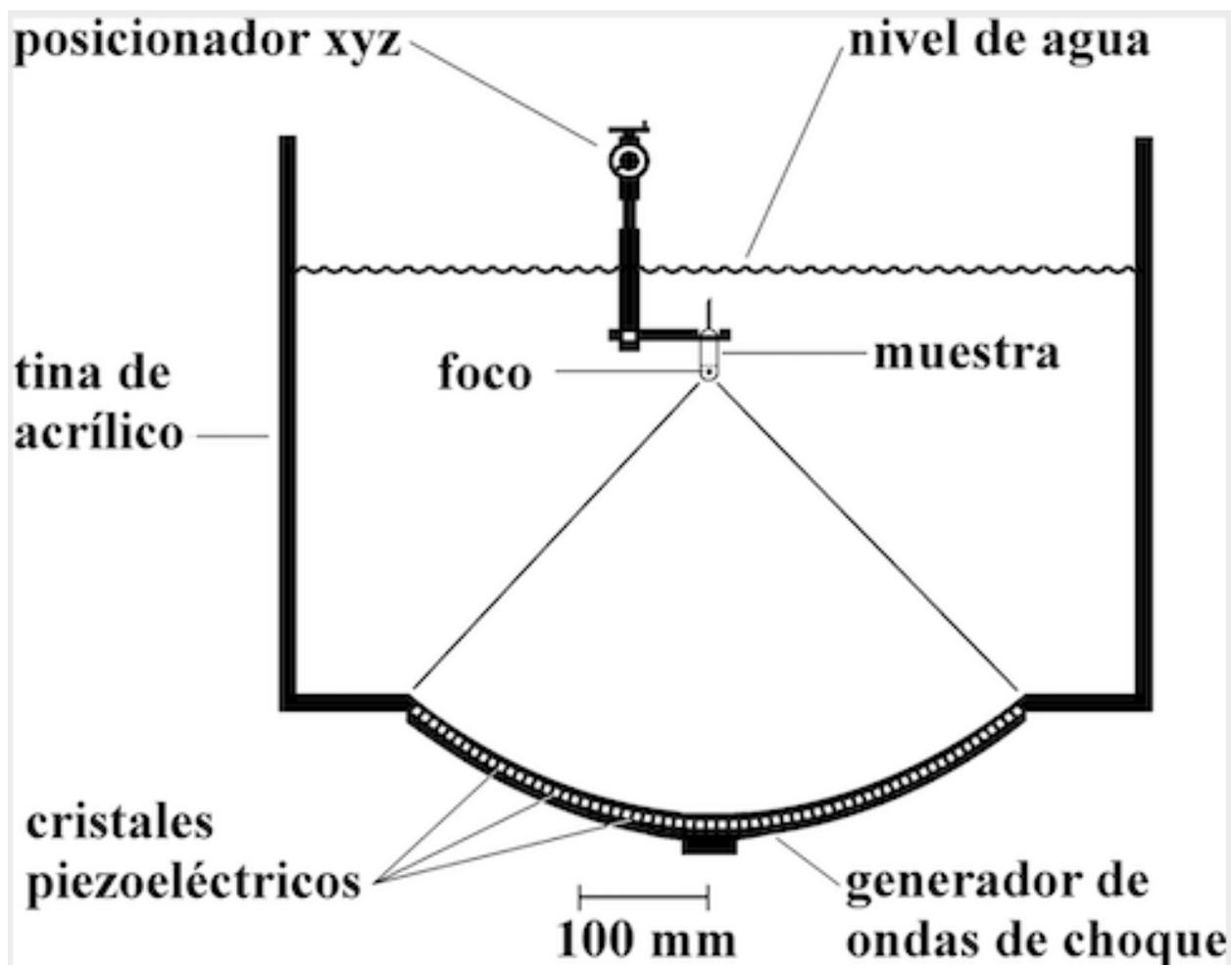
14. Delius M, Draenert K, Al Diek Y, Draenert Y. Biological effects of shock waves: *in vivo* effect of high energy impulses on rabbit bone. *Ultrasound Med Biol.* 1995;21:1219–1225.

15. Väterlein N, Lüssenhop S, Hahn M, Delling G, Meiss AL. The effect of extracorporeal shock waves on joint cartilage: An *in vivo* study in rabbits. *Arch Orthop Traum Su.* 2000;120:403–406.

16. Rubin C, Turner AS, Bain S, Mallinckrodt C, McLeod K. Anabolism. Low mechanical signals strengthen long bones. *Nature*. 2001;412:603–604.
17. Tanaka SM, Alam IM, Turner CH. Stochastic resonance in osteogenic response to mechanical loading. *FASEB J*. 2002;17:313–314.
18. Tanaka SM, Li J, Duncan RL, Yokota H, Burr DB, Turner CH. Effects of broad frequency vibration on cultured osteoblasts. *J Biomech*. 2003;36:73–80.
19. Kusnierczak D, Brocai DR, Vettel U, Loew M. Effect of extracorporeal shockwave administration on biological behavior of bone cells *in vitro*. *Z Orthop Grenzgeb*. 2000;138:29–33.
20. Gianelly A. Force induced changes in the vascularity of the periodontal ligament. *Am J Orthod*. 1969;55:5-11.
21. Kvinnsland I. & Kvinnsland S. Changes in CGRP-immunoreactive nerve fibers during experimental tooth movement in rats. *Eur J Orthod*. 1990;12:320.
22. Juan Fernando Aristizábal-P. (2014). *Ortodoncia acelerada y ortodoncia de transito expreso (OTE)®, un concepto contemporáneo de alta eficiencia*. *Rev CES Odont*. 2014; 27(1) pág 56-73
23. Rafael González Padilla· Claudia Razo Lira. (2017). Aceleración del tratamiento de ortodoncia: técnicas de activación biológica. *Rev Latinoamericana de ortodoncia y odontopediatría*.

Pie de figura

Figura 1. Esquema del generador de ondas de choque.



Pie de tablas

Tabla 1. Parámetros experimentales.

Grupo	Presión (MPa)	Cantidad de ondas de choque
Control	-	0
1	9.9±0.2	200
2	9.9±0.2	800
3	21.7±0.3	200

4	21.7±0.3	400
5	21.7±0.3	800
6	42.0±1.1	200
7	42.0±1.1	800

Tabla 2. Viabilidad celular de ensayos MTT y Neubauer de osteoblastos y células pulpares.

Grupo	MTT (% 48 hrs)	Significanci estadística	MTT (%) 7 días	Significanci estadística	Neubauer, 48 hrs (células/mL)	Significanci estadística	Neubauer, 7 días (células/mL)	Significanci estadística
Grupos de HBC								
Control	100± 1.9		100±0.0 3		260,000±84,852		740,000±84,852	
1	62±1 .9	0.005	46±3.9	0.032	220,000±8 4,852	0.683	260,000±84,852	0.029
2	137± 46.7	0.466	75±3.8	0.070	1,020,000±311,12 6	0.395	420,000±141,42 1	0.137
3	96±1 0.1	0.686	41±2.3	0.017	340,000±28,284	0.395	480,000±226,27 4	0.329
4	150± 3.3	0.006	51±0.8	0.007	660,000±254,558	0.244	220,000±84,852	0.025
5	105± 1.0	0.108	21±0.9	0.005	520,000±226,274	0.329	100,000±28,284	0.039
6	61±1 .5	0.002	20±0.2	0.0002	220,000±28,284	0.624	40,000±6,568	0.016
7	44±0 .1	0.015	33±2.3	0.016	60,000±14,142	0.177	40,000±0	0.054
Grupos de hDPSC								
Control	100± 13.5		100 ± 4.3		120,000±56,568		440,000±113,13 7	
1	71±0 .7	0.199	25±2.4	0.006	80,000±0	0.502	240,000±113,13 7	0.219
2	80±2 .5	0.272	85±7.7	0.168	220,000±84,852	0.316	140,000±28,284	0.148
3	76±0 .1	0.244	63±3.3	0.013	160,000±0	0.506	200,000±56,568	0.157
4	67±0 .1	0.178	36±0.5	0.028	180,000±84,852	0.503	40,000±28,284	0.109
5	75±3 .6	0.210	82±1.3	0.085	380,000±197,989	0.297	260,000±84,852	0.223
6	59±1 .6	0.143	36±0.5	0.028	40,000±14,142	0.280	40,000±14,142	0.121
7	61±1 .3	0.149	34±0.22	0.029	0±0	0.204	0±0	0.114

MTT = sal de tetrazolio,

HBC = osteoblastos ("human bone cells"),

hDPSC = células troncales pulpares huanas ("human dental pulp stem cells").