



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA**

**CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA DE UN  
ANDAMIO DE POLICAPROLACTONA  
FUNCIONALIZADO CON NANOPARTÍCULAS DE  
ÓXIDO DE MAGNESIO (MgO).**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**CIRUJANO DENTISTA**

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

**NAVA CORTÉS ANGEL DENNYS**

**TUTORA: DRA. CECILIA CARLOTA BARRERA ORTEGA**

Los Reyes Iztacala, Edo. de México 2024





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

- Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme crecer de manera profesional y personalmente, en especial a la FES Iztacala donde desarrollé la licenciatura.
- A Dios y a mi padre el médico Arcadio, quienes me dirigieron con amor y disciplina durante toda mi vida y me instruyeron a entregar el mayor esfuerzo posible en cada oportunidad.
- Agradezco a la Dra. Cecilia Carlota Barrera Ortega por su dirección y orientación, además de su disposición durante este proceso y por todos los conocimientos compartidos sin restricción.
- Agradezco al Esp. Samuel Eloy por el acompañamiento y también su dirección durante todo este proceso, además por la realización de las NPs de óxidos metálicos y la elaboración de los discos de PCL dopados para la realización de este proyecto; gracias por tu amistad y compromiso.
- Agradezco a la Dra. Sandra E. Rodil Posada, Investigador Titular C, del Instituto de Investigación en Materiales, CU, UNAM por el apoyo brindado para la realización de este proyecto.
- Agradezco a la Dra. Phaedra Suriel Silva Bermúdez, jefa de servicio de la Unidad de Ingeniería de Tejidos, Terapia Celular y Medicina Regenerativa en el Instituto Nacional de Rehabilitación y a la Biol. Sandra Julieta García López adscrita a la unidad por las facilidades para la realización de este trabajo de investigación.
- A mis compañeros del servicio social, Adolfo, Mario y Joseline quienes me brindaron su amistad y su apoyo durante todo este año.
- Al CD. Arturo Muñoz en Puerto Vallarta, Jalisco por brindarme tanto conocimiento clínico, el ímpetu y la pasión por la Odontología.
- Agradezco la beca otorgada durante esta investigación ya que fue financiada por el proyecto DGAPA-PAPIIT IA-202423.

# ÍNDICE

ÍNDICE.....	iii
GLOSARIO.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1 Biomateriales.....	2
2.1.1. Andamio en ingeniería de tejidos.....	2
2.1.2 Andamios en Odontología.....	2
2.1.3. Efecto antimicrobiano de los andamios en injertos periodontales.....	3
2.2 Polímeros naturales y sintéticos.....	4
2.2.1. Naturales (Biopolímeros).....	4
2.2.2. Sintéticos (Petroquímicos).....	4
2.3. Policaprolactona (Sintético).....	5
2.3.1. Policaprolactona como andamio.....	6
2.4. Partículas.....	7
2.4.1. Definición Física.....	7
2.4.2. Clasificación de las partículas.....	7
2.5. Nanopartículas.....	8
2.5.1. Nanomaterial.....	8
2.5.2. Generación de Nanoestructuras.....	9
2.5.3. <i>Top Down</i> .....	9
2.5.4. <i>Bottom-Up</i> .....	10
2.5.5. Caracterización de las Nanopartículas.....	11
2.5.6 Nanopartículas metálicas.....	12
2.6. Células troncales.....	14
2.6.1. Clasificación de las células troncales:.....	14
2.6.2 Células Troncales de Medula ósea.....	15
2.7 DMEMF-12.....	15
2.7.1. Aplicaciones del DMEMF-12.....	15
2.8. MTT.....	16

2.8.1 Aplicaciones del ensayo de MTT .....	17
2.9. Difracción de Rayos X .....	17
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	18
4. JUSTIFICACIÓN.....	19
5. OBJETIVOS .....	20
5.1 Objetivo General .....	20
5.2 Objetivos Específicos.....	20
6. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN .....	20
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
7.1. Tipo de estudio.....	21
7.2. Universo de estudio .....	21
7.3. Periodo de Estudio .....	21
7.4. Tamaño de la Muestra: .....	21
8. CRITERIOS DE PARTICIPACIÓN .....	21
8.1. Criterios de Inclusión.....	21
8.2. Criterios de Exclusión .....	21
8.3. Criterios de Eliminación .....	21
9. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE MgO .....	22
10. ELABORACIÓN DE DISCOS (ANDAMIOS) FUNCIONALIZADOS CON NPs DE MgO.....	25
11. CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA .....	27
11.1. Acondicionamiento del andamio .....	27
11.2. Cultivo celular.....	28
11.3. Ensayo de viabilidad celular MTT .....	29
12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	31
13. RESULTADOS .....	32
13.1. Difracción de Rayos X.....	32
13.2. Viabilidad Celular .....	34
14. DISCUSIÓN.....	38
15. CONCLUSIONES .....	42
16. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES .....	43
17. REFERENCIAS .....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes estructuras materiales. (a) 0D: nanopartículas de SiO <sub>2</sub> ; (b) 1D: nanocables CoO; (c) 2D: nanoláminas de ZnO–NiO ; y (d) 3D: estructura no tejida PA6 (65) .....	9
Figura 2. Top-Down y Bottom-Up (84) .....	10
Figura 3. Configuración electrónica de iones magnesio y oxígeno. (70).....	14
Figura 4. Ensayo de MTT a mayor coloración morada indica la reducción de una sal de tetrazolio amarilla, lo que determina la viabilidad celular .....	16
Figura 5. Mortero de ágata con Acetato de Magnesio Tetrahidratado. Fuente directa. ....	22
Figura 6. Mortero de ágata con hidróxido de sodio. Fuente directa. ....	22
Figura 7. a) Acetato de Magnesio e Hidróxido de Sodio b) Compuestos después de la mecosíntesis. Fuente directa. ....	23
Figura 8. a) NPs de MgO previo al centrifugado b) Centrifuga Science MED® c) NPs de MgO después del centrifugado d) NPs de MgO sedimentadas. Fuente directa.....	23
Figura 9. a) Mufla Thermo Scientific® b) Crisol de porcelana c) NPs después del proceso de calcinación. Fuente directa. ....	24
Figura 10. a) Perlas de Policaprolactona b) Policaprolactona despolimerizada. Fuente Directa. ....	25
Figura 11. a) película de PCL. funcionalizado o dopada con NPs de MgO b) Formación del disco de Policaprolactona. Fuente directa. ....	26
Figura 12. a) Pulidor de alta presión. b) Diferentes tipos de discos pulidos. c) Discos ya pulidos.. Fuente directa.....	26
Figura 13. Esterilización mediante Rayos UV en una campana de flujo laminar. Fuente directa.....	27
Figura 14. a) Incubadora con agitador orbital. b) Vista por dentro. Fuente directa.....	28
Figura 15. Caja de 48 pozos donde se realizó el cultivo celular. Fuente directa.....	28
Figura 16 Esquema que representa el extracto del experimento de viabilidad celular realizado en el Instituto Nacional de Rehabilitación . Fuente directa .....	30

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Difracción de rayos X MgO. Fuente directa. ....	33
Gráfica 2. Medida de la absorbancia y los diferentes grupos experimentales de 1 día. Fuente directa .....	34
Gráfica 3. Medida de absorbancia y los diferentes grupos experimentales de 3 días. Fuente directa. ....	35
Gráfica 4. Medida de absorbancia y los diferentes grupos experimentales de 7 días. Fuente directa. ....	36
Gráfica 5. Medida de absorbancia y los tres días de cada grupo experimental. Fuente directa .....	37

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Propiedades de la PCL. ....	6
--------------------------------------	---

## GLOSARIO

PCL	Policaprolactona
µm	Micras
ADA	Asociación Dental Americana
ATSDR	Registro de Sustancia Tóxicas y Enfermedades
Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	Hidroxiapatita
CM	Cemento
CTE	Células Troncales Embrionarias
CTM	Células Troncales Mesenquimales
CTS	Células Troncales Somáticas
CT-MO	Células Troncales de Medula Ósea
CVD	<i>Chemical Vapour Deposition Method</i>
DMENF12	<i>Modified Eagle Medium/Ham's F-12</i>
DNA	Acido Desoxirribonucleico
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
FC-2	Factor de Crecimiento 2
FCTC	Factor de Crecimiento de Tejido Conectivo
GPa	Gigapascal
H	Horas
HA	Hueso Alveolar
ICDD	International Centre for Diffraction Data
IgA	Inmunoglobulina A
Mg	Magnesio
MgO	Óxido de Magnesio
MTT	(bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio)
NPs	Nanopartículas
NaOH	Hidróxido de Sodio
LPD	Ligamento Periodontal
CTLPD	Células Troncales de Ligamento Periodontal Humano
PGA	Ácido Poliglicólico
PH	Peróxido de hidrógeno
PLA	Ácido Poliláctico
PLGA	Ácido poliláctico-glicólico
PLLA	Poliácida
PMO	Proteína Morfogénica Ósea
PTFE	Politetrafluoroetileno.
PVD	<i>Physical Vapour Deposition method</i>
Rpm	Revoluciones por minuto
RTG	Regeneración Tisular Guiada
SiO	Monóxido de Silicio
SrO	Óxido de Estroncio
SSB	Subsalicilato de Bismuto
ZnO	Óxido de Zinc



# 1. INTRODUCCIÓN

Los polímeros biodegradables han aumentado su demanda de uso médico y odontológico durante las últimas décadas. El polímero policaprolactona ( $\epsilon$ -Caprolactona), (PCL), es un poliéster que ha sido ampliamente utilizado en el campo de la ingeniería de tejidos por su disponibilidad, precio y sus propiedades químicas, biológicas, además de ser biocompatible y biodegradable; su resistencia mecánica puede ser ajustada y por lo tanto puede ser utilizado bajo condiciones mecánicas, físicas y químicas sin pérdida significativa de sus propiedades. El tiempo de degradación de la PCL es bastante largo, se usa principalmente en el reemplazo de tejidos duros en el cuerpo donde la rehabilitación también toma un periodo de tiempo extendido.

El incorporar nanopartículas de óxidos metálicos, particularmente óxido de magnesio (MgO) le da un plus al mantenedor de espacio por tener propiedades físicas como ser radiopaco, y propiedades biológicas por tener el potencial antimicrobiano y bacteriostático, sobre todo al colocarlo después de una extracción prematura de molares temporales por caries. Esta funcionalización de los discos de PCL con las nanopartículas (NPs) de MgO podrá ser un buen mantenedor de espacio intramucoso si se logra la biocompatibilidad por medio de la viabilidad con las células mesenquimales de médula ósea.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Biomateriales

Cualquier material ya sea de origen natural o sintético que está diseñado para ser utilizado en estrecho contacto con sistemas, tejidos y fluidos biológicos; que tiene como propósito médico servir para evaluar, tratar, aumentar, sustituir o reemplazar cualquier tejido, órgano o función corporal (1). El “*National Institute of Health*”, de Estados Unidos, agrega a esta definición que tales biomateriales deben mejorar o mantener la calidad de vida de los individuos (2).

#### 2.1.1. Andamio en ingeniería de tejidos

En la ingeniería de tejidos, los andamios sirven principalmente como sustrato para la formación de células, fijación, crecimiento de tejido, así como un apoyo estructural inicial (3). En general usa una matriz plástica temporal en forma de soporte físico y biológico, que se elabora para el crecimiento de células hasta que los tejidos estén completamente restaurados. Estas estructuras se han aplicado para regenerar tejidos óseos, cartílagos, tendones, piel, córneas y como vehículo para el suministro controlado de fármacos, proteínas y DNA (4).

Las propiedades requeridas para esta aplicación son la biodegradabilidad, biocompatibilidad, bioadhesividad, hemocompatibilidad, no toxicidad, capacidad de estiramiento (compatibilidad con las propiedades mecánicas del tejido donde va a ser implantado) y la resiliencia (cantidad de carga absorbida después de la deformación elástica) (5).

#### 2.1.2 Andamios en Odontología

Los andamios utilizados para la regeneración de tejidos periodontales pueden proporcionar una guía de contacto que permite la migración oportuna de las células a los defectos periodontales, seguida de una regeneración promovida (6). Para facilitar la migración celular y el crecimiento de tejidos, varias señales

bioactivas incluidos los factores de crecimiento (FC) y las citocinas también se han administrado con los andamios (7).

Los andamios cargados de fármacos eliminan la microbiota patógena e inhiben la inflamación periodontal (8). Sin embargo, un período prolongado de periodontitis puede deteriorar el resultado de la Regeneración Tisular Guiada (RTG) al deteriorar la capacidad de cicatrización de las células del Ligamento Periodontal (LPD) dificultando la respuesta inmunitaria del huésped o desnaturalizando gravemente el cemento (CM) (9).

### **2.1.3. Efecto antimicrobiano de los andamios en injertos periodontales**

Los tratamientos periodontales actuales tienen un cierto nivel de riesgo para la reinfección bacteriana. La función antimicrobiana, por lo tanto, ha sido incorporada a varios andamios diseñados para soportar la regeneración periodontal, así como para minimizar la reinfección potencial después del tratamiento periodontal inicial (10). Una vez expuestas a la cavidad oral, las membranas degradables son vulnerables a la reinfección bacteriana, lo que puede causar una ruptura estructural en poco tiempo (11).

La plata y el magnesio (Mg) son componentes antimicrobianos que se pueden añadir como coadyuvantes en injertos periodontales. Abdelaziz *et al* reportó que las nanofibras electrohiladas que contenían nanopartículas de plata tenían efectos antibacterianos durante 32 días (12). Liu *et al* informaron que la membrana nanofibrosa conjugada con MgO mostró actividades antibacterianas para *E. coli* y *S. aureus* de una manera dependiente de la dosis y mostró una eficacia in vivo prometedora en la regeneración periodontal en las ratas (13). Además de tales componentes, varios medicamentos antimicrobianos se han aplicado a andamios que incluyen tetraciclina, doxiciclina y metronidazol. Shi *et al* informaron que las nanofibras electrohiladas conjugadas con metronidazol mejoraron la capacidad antibacteriana (14).

## **2.2 Polímeros naturales y sintéticos**

Los biomateriales se clasifican de acuerdo con su origen, en naturales y sintéticos, siendo los naturales los que se extraen a partir de una fuente presente en la naturaleza y los sintéticos, los que se obtienen por reacciones químicas, en el caso de los polímeros a partir de su respectivo monómero (15).

### **2.2.1. Naturales (Biopolímeros)**

Los biomateriales naturales generalmente tienen una excelente afinidad celular y biocompatibilidad. Son menos tóxicos y rara vez causan inflamación, respuestas o reacciones inmunitarias. Por lo tanto, han sido ampliamente utilizados como andamios para la regeneración de los tejidos periodontales (16).

Estos biopolímeros provienen de seres vivos, ya sean animales, plantas, microorganismos u hongos, y posteriormente son aislados para su uso. Este tipo de biomateriales y sus derivados tienen la ventaja de poseer buenas reacciones inmunes in vivo, funcionalidad y durabilidad (15). Estos polímeros pueden clasificarse en proteínas, poliésteres naturales y polisacáridos (17).

### **2.2.2. Sintéticos (Petroquímicos)**

Los polímeros sintéticos son los materiales más versátiles. Dentro de las aplicaciones biomédicas se encuentran: lentes de contacto, vehículos farmacéuticos, materiales odontológicos, sustratos para ingeniería de tejidos, entre otros (15). Las investigaciones se centran en el desarrollo de polímeros sintéticos biodegradables y/o bioabsorbibles, que puedan descomponerse a medida que avanza la regeneración del tejido, como es el caso de los poliacrilatos, polisiloxanos, poliamidas, policarbonatos, poliésteres, poliuretanos, poliestirenos, polipéptidos sintéticos, polialquenos y polioles (18). Los polímeros sintéticos del tipo poliésteres alifáticos, como la polilactida (PLLA), policaprolactona (PCL), poliglicólido (PGA) y sus copolímeros son los más usados (19).

Los polímeros sintéticos se han utilizado predominantemente como membrana degradable de segunda generación para reemplazar la membrana no reabsorbible de politetrafluoroetileno (PTFE). Dichos polímeros también se han aplicado para materiales de andamiaje. Los polímeros a base de poliéster como el ácido poliláctico (PLA), el ácido poliglicólico (PGA), el ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA) y la policaprolactona (PCL) se han utilizado con frecuencia para materiales de andamiaje periodontal. (6). El subproducto de degradación del poliéster puede ser tóxico, pero se ha considerado seguro dada la insignificante cantidad de residuos de partículas que se liberan a un ritmo muy lento (20). Los polímeros sintéticos tienen una serie de ventajas únicas como que son altamente ajustables, y un proceso de fabricación simple y directo, que permite la producción en masa (21). Se han investigado varios andamios poliméricos para la regeneración periodontal. Andamios compuestos mediante *electrospun*/electrohilado de PLGA/PCL con Factor de Crecimiento de Fibroblastos (FGF-2) y las células troncales mesenquimales (CTM) de la médula ósea dieron como resultado una mejora en la cicatrización del tejido periodontal en 6 semanas in vivo en un modelo de rata (22).

### **2.3. Policaprolactona (Sintético)**

La PCL es semicristalina, lineal y reabsorbible, poliéster alifático que ha sido ampliamente utilizado en la ingeniería de tejidos debido a sus extraordinarias propiedades mecánicas y biocompatibilidad (23). La PCL ofrece, biodegradabilidad, estabilidad estructural y propiedades mecánicas, pero tiene baja bioactividad y energía superficial debido a su alta hidrofobicidad (24). La máxima resistencia a la tracción podría llegar a 785 MPa, módulo de Young a 0,44 GPa, alargamiento a la rotura al 100% (25). Ha sido aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos (*FDA Food and Drugs Administration* “*Por sus siglas en Inglés*” para aplicaciones médicas. Sin embargo, su desarrollo es limitado debido a sus defectos inherentes, incluida la degradación lenta y la cinética de reabsorción, resultante de su alta hidrofobicidad y cristalinidad (26). A temperatura ambiente, la PCL es altamente soluble en

cloroformo, diclorometano, tetracloruro de carbono, benceno, tolueno, ciclohexanona y 2-nitropropano; ligeramente soluble en acetona, 2-butanona, acetato de etilo, dimetilformamida y acetonitrilo; e insoluble en alcoholes, éter de petróleo, diétil, éter y agua (27). La PCL posee una propiedad particular como es ser miscible con muchos otros polímeros como, el policloruro de vinilo, poliestireno-acrilonitrilo, poliacrilonitrilo butadieno estireno, polibisfenol-A y otros policarbonatos, nitrocelulosa y butirato de celulosa, además es mecánicamente compatible con el polietileno, polipropileno, caucho natural, poli (acetato de vinilo) y caucho de polietileno-propileno (28). La PCL se biodegrada dentro de meses a años dependiendo del peso molecular, el grado de cristalinidad del polímero y las condiciones de degradación (27).

*Cuadro 1. Propiedades de la PCL y sus magnitudes (25).*

<b>Propiedades</b>	<b>Magnitud</b>
Peso molecular promedio	530-630 000 (g/mol <sup>-1</sup> )
Densidad (P/g cm <sup>-3</sup> )	1.071-1.200
T° de transición de vidrio (Tg/1C)	(-60) (-65)
T° de Fusión (Tm/1C)	56-65
Temperatura de descomposición (°C)	350
Viscosidad inherente (Zinh/cm <sup>3</sup> g <sup>-1</sup> )	100-130
Viscosidad Intrínseca (Z/cm <sup>3</sup> g <sup>-1</sup> )	0.09
Resistencia a la tracción (s/MPa)	4-785
Módulo Young	0.21-.44
Tensión de fractura (e/%)	20-1000

### 2.3.1. Policaprolactona como andamio

Cho *et al* reportó que se formó una estructura de tejido similar a CM en la superficie de la dentina humana cuando se incubaba con células troncales de LPD

humano (CTLPD) cultivado espacialmente en andamios PCL, impresos en 3D impregnado con factor de crecimiento de tejido conectivo (FCTC) y proteína morfogénica ósea (PMO-2 y PMO-7) (29), (30).

## **2.4. Partículas**

### 2.4.1. Definición Física

La partícula de un cuerpo se define como la menor porción de materia de ese cuerpo que conserva sus propiedades físicas y químicas. Pueden ser átomos, iones, moléculas o pequeños grupos de las anteriores especies químicas. También se define como la partícula subatómica que constituye la materia, que a su vez puede ser por una partícula elemental o una partícula compuesta (31).

Las partículas son los constituyentes elementales de la materia, es decir, son partículas que no están constituidas por partículas más pequeñas y tienen una estructura interna, denominados átomos. El átomo está formado por el neutrón, el electrón, el protón, el positrón, el deuterón, el fotón, los mesones, etc.

Una partícula subatómica se convierte en partícula compuesta cuando se forma un conjunto de partículas elementales, dando como resultado un estado ligado estable.

### 2.4.2. Clasificación de las partículas

- Macropartículas.
- Micropartículas.
- Nanopartículas

## 2.5. Nanopartículas

El prefijo “Nano” proviene del griego (*νάνος*), donde significaba “enano”, incorporado al español como prefijo que entra en la formación de nombres y adjetivos con el significado de ‘muy pequeño’, y que en el campo de las nanociencias representa la mil millonésima parte de un metro, por lo tanto, una nanopartícula, describe a aquellas partículas que son más pequeñas que 100 nanómetros (32).

### 2.5.1. Nanomaterial

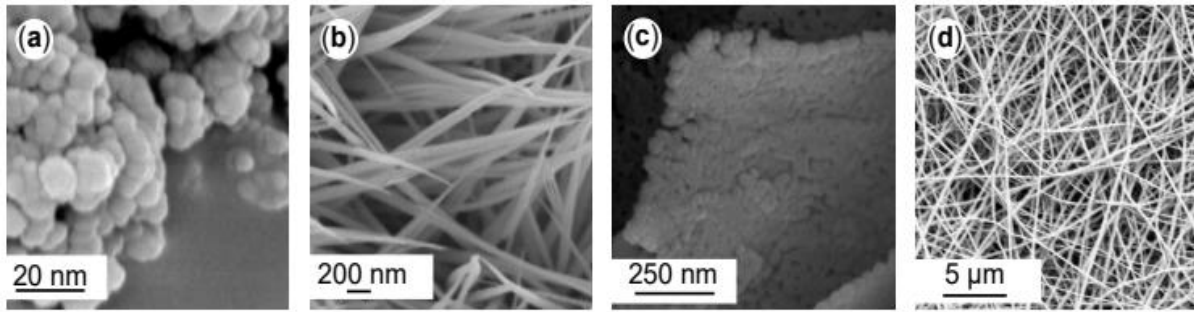
Cuando nos referimos a “nanomaterial” estamos hablando de materiales con dimensiones externas o estructuras internas de longitud en el rango de nanómetro (mil millonésimas parte del metro). Estos materiales normalmente presentan propiedades y comportamientos diferentes o adicionales comparados con los mismos materiales fuera de la nanoescala (33).

Se puede definir también como un material natural, secundario o fabricado que contenga partículas, sueltas o formando un agregado o aglomerado y en el que el 50% o más de las partículas en la granulometría numérica presente dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendido entre 1 nm y 100 nm” (34).

Los nanomateriales se pueden clasificar adicionalmente en función de su dimensionalidad (0D–3D), su morfología (nanoesferas, nanotubos y nanocables) (*Figura 1*), por su estado (isométrico, suspensión y aglomerados), o por su composición química (orgánica, inorgánica), de un solo componente y/o compuestas (35).

Las nanoestructuras de base orgánica son materiales compatibles con el medio ambiente (por ejemplo, ferritina, liposomas, micelas y dendrímeros) que, por su naturaleza, son más adecuados, para la administración de fármacos (36). La categoría de materiales inorgánicos se puede diferenciar aún más en a base de metal y materiales a base de óxidos metálicos (37).





---

*Figura 1. Diferentes estructuras materiales. (a) 0D: nanopartículas de SiO<sub>2</sub>; (b) 1D: nanocables CoO; (c) 2D: nanoláminas de ZnO–NiO; y (d) 3D: estructura no tejida PA6 (65)*

---

### 2.5.2. Generación de Nanoestructuras

Fundamentalmente existen dos enfoques diferentes para la generación controlada de nanoestructuras y son dos caminos opuestos. Uno de ellos parte de materiales de mayores dimensiones y los divide utilizando poderosas técnicas de litografía hasta obtener las partículas del tamaño que se desea, mientras que el otro, toma átomos y moléculas individuales que se ensamblan para obtener las nanopartículas. Estos dos métodos se denominan respectivamente *Top-down* y *Bottom-up* (Figura 2).

### 2.5.3. Top Down

El método *Top-down*, como hemos adelantado, parte de un material de mayores dimensiones y trata de descomponer una sustancia sólida. Esta sustancia sólida puede subdividirse en molienda seca o húmeda. En el caso de la molienda seca una característica importante de las partículas en los procesos de refinado de granos (eliminación de las impurezas) es que, su energía superficial aumenta, lo que hace que la agregación de partículas también aumente. En el método de molienda en seco, la sustancia sólida es triturada como resultado de un choque,

una compresión o por fricción, utilizando para ello distintos tipos de molinos tales como el molino de chorro, de martillos, de corte, de rodillos, de cizallamiento, de bolas o de tambor. Dado que la condensación de partículas pequeñas también tiene lugar simultáneamente con la pulverización, es difícil obtener tamaños de partícula de menos de 3  $\mu\text{m}$  por refinado de grano. Por su parte el proceso húmedo emplea un molino cargado con pequeñas esferas y se activa mediante un eje de agitación de alta velocidad para crear un corte hidráulico mecánico y favorecer el impacto de las partículas. Esto permite que los sólidos se rompan suspendidos en un líquido (lodo). El proceso húmedo es adecuado para prevenir la condensación de las nanopartículas así formadas y, por lo tanto, es posible obtener nanopartículas altamente dispersas (38).

#### 2.5.4. *Bottom-Up*

El método *Bottom-up* básicamente utiliza átomos o moléculas pequeñas como bloques de construcción para estructuras de varios niveles que realizan diversas operaciones y es extremadamente prometedor, ya que podría conducir a que no existan productos de desecho ni materiales no utilizados.

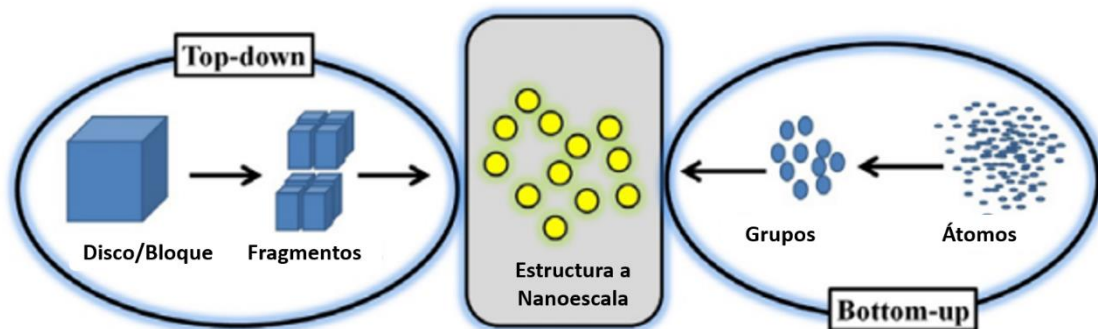


Figura 2. Mecanismos de Top-Down y Bottom-Up (81)

El enfoque ascendente se encuentra dividido en dos métodos, uno de fase gaseosa y otro en fase líquida. Para el primero, el método consiste en una deposición

química en fase vapor (*CVD*) *Chemical Vapour Deposition method* “Por sus siglas en inglés” que implica una reacción química, mientras que el segundo se trata de un método físico de deposición en fase de vapor, el método (*PVD*) *Physical Vapour Deposition* “Por sus siglas en inglés” consistente en la deposición de las partículas evaporadas. (38).

#### 2.5.5. Caracterización de las Nanopartículas

Una vez que las nanopartículas se obtienen mediante *Bottom-Up* o *Top-Down*, se debe especificar el tamaño, la morfología y la carga superficial deseados. dependiendo de estos tres parámetros, la partícula presentará diversas características que serán las que definan su utilización. El promedio del diámetro de partícula, su distribución de tamaño y su carga afectan de forma trascendental a la estabilidad física y la distribución in vivo de las nanopartículas (39).

##### 2.5.5.1 Tamaño

En general, hay dos métodos básicos para definir el tamaño de partícula. El primer método es inspeccionar las partículas y hacer mediciones reales de sus dimensiones mediante microscopio electrónico de transmisión, microscopio electrónico de escáner, microscopio de fuerza atómica, entre otros. El segundo método utiliza la relación entre el comportamiento de las partículas y su tamaño, es decir cómo sus pautas varían dependiendo de las dimensiones que presenten. Esto a menudo implica una suposición de tamaño esférico equivalente, desarrollada mediante una propiedad dependiente del tamaño de la partícula y relacionándola con una dimensión lineal (40).

##### 2.5.5.2 Carga Superficial

La importancia de la naturaleza e intensidad de la carga superficial radica en que esta determina su interacción con el entorno biológico, así como su interacción electrostática con compuestos bioactivos. La estabilidad coloidal se analiza a través del potencial zeta de las partículas. Este potencial es una medida indirecta de la carga superficial que corresponde a la diferencia de potencial entre el plano

exterior de Helmholtz y la superficie de corte, lo que permite predicciones sobre la estabilidad de almacenamiento de la dispersión coloidal. Se deben alcanzar altos valores de potencial zeta, ya sean positivos o negativos, para garantizar la estabilidad y evitar la agregación de las partículas. La extensión de la hidrofobicidad superficial puede entonces predecirse a partir de los valores del potencial zeta que, además, puede proporcionar información sobre la naturaleza del material (41).

#### 2.5.6 Nanopartículas metálicas

Las nanoestructuras metálicas nobles suscitan un gran interés en la comunidad científica debido a sus propiedades únicas, entre las que se encuentran el potencial antimicrobiano y bacteriostático, además de grandes mejoras en el campo óptico que tienen como resultado una mayor dispersión y absorción de la luz. Como consecuencia, la capacidad de integrar estas nanopartículas de metal en sistemas biológicos ha tenido un gran impacto en los campos de la biología y la biomedicina (42). Las partículas metálicas nanométricas son únicas y pueden cambiar considerablemente las propiedades físicas, químicas y biológicas a causa de su relación superficie-volumen. Debido a ello, hay que prestar especial atención a su caracterización gracias a que las propiedades fisicoquímicas de la partícula pueden tener un impacto significativo en su interacción con tejidos biológicos (43).

##### 2.5.6.1 Nanopartículas de Óxidos Metálicos

La clasificación de materiales inorgánicos se puede diferenciar aún más en a base de metal y materiales a base de óxidos metálicos (44). Los materiales a base de óxidos metálicos encuentran aplicaciones en áreas, como la mejora de la radioterapia, la administración de genes o la ablación térmica. (45). Son, como su nombre indica, formados como producto de la reacción de oxidación de un material metálico en presencia de oxígeno (46).

Los representantes más importantes del grupo de óxidos metálicos individuales son el dióxido de silicio. ( $\text{SiO}_2$ ), óxido férrico ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), óxido de zinc ( $\text{ZnO}$ ), dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) y óxido de magnesio ( $\text{MgO}$ ).

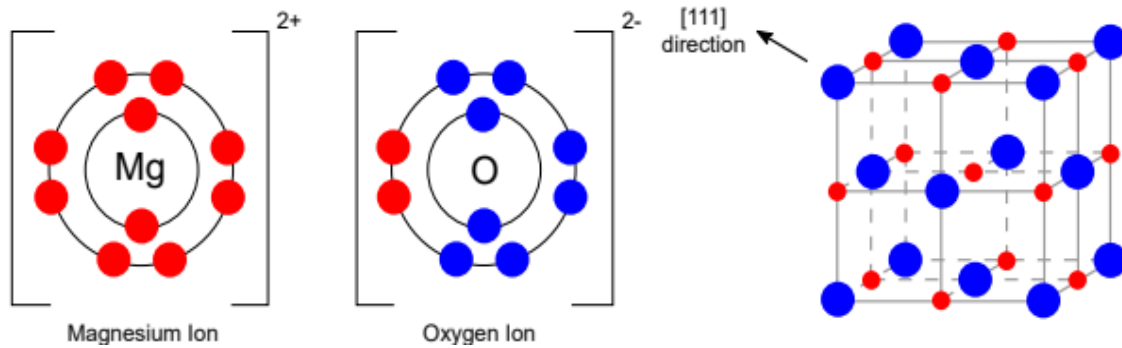
#### 2.5.6.2. Óxido de Magnesio ( $\text{MgO}$ )

Las nanopartículas de  $\text{MgO}$  han ganado mucho interés en los últimos años debido a sus atractivas propiedades, que incluyen una gran relación superficie-volumen, aislamiento térmico y eléctrico, fuerte capacidad de absorción de residuos de tinte y gases tóxicos, actividad antimicrobiana, no toxicidad y biocompatibilidad (47).

Es una especie muy estable que tiene muchas aplicaciones, las más usadas es como material refractario debido a su gran estabilidad a elevadas temperaturas y para catálisis ya que contiene sitios básicos que se combinan con su gran área superficial específica.

El Óxido de magnesio, también conocido como periclusa, (48) es un material inorgánico con una masa molar de 40,31 g/mol, (49) y una densidad de 3.58 g/cm<sup>3</sup> (50). Su fórmula empírica es  $\text{MgO}$  y su red consta de iones  $\text{Mg}^{2+}$  e iones  $\text{O}_2^-$  unidos por un enlace iónico en una configuración de  $1s^2 2s^2 2p^6$  y  $1s^2 2s^2 2p^6$  (Figura 3) (51). lo que significa que los orbitales “d” están vacíos en este caso (52). La estructura del óxido de magnesio es del tipo sal de roca (red parámetro 4.21 Å) (53). La estructura cristalina del óxido de magnesio se puede caracterizar adecuadamente usando difracción de rayos X (54). La espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FT-IR) también se puede utilizar para la identificación y caracterización estructural del óxido de magnesio (55).

Las nanopartículas de  $\text{MgO}$  han atraído una atención considerable debido a sus múltiples efectos en la aceleración de diferenciación osteogénica de células biológicas e inhibición de actividad bacteriana (56). Además, ha sido comprobado esta propiedad con varias bacterias (57).



*Figura 3. Configuración electrónica de iones magnesio y oxígeno. (73)*

## 2.6. Células troncales

Las células troncales son un grupo específico de células indiferenciadas que tienen un potencial proliferativo elevado y presentan dos características fundamentales: Son capaces de autorrenovarse, es decir de formar células idénticas a las células de origen y tienen la capacidad de generar uno o más tipos celulares, que desempeñan funciones especializadas en el organismo (58).

### 2.6.1. Clasificación de las células troncales:

Según su origen:

- **Células troncales embrionarias (CTE)**

Son células pluripotenciales, es decir cada una de ellas es capaz de generar todos los tipos celulares del organismo.

- **Células troncales somáticas (CTS)**

Son en su mayoría multipotenciales ya que pueden generar una gran cantidad de tipos celulares dentro de un tejido específico.

Estas no representan ningún reto ético ya que muchas veces son obtenidas de tejidos desechados como la placenta o sangre del cordón umbilical.

## 2.6.2 Células Troncales de Medula ósea

Tienen la capacidad de dar origen a diversos tipos celulares, como fibroblastos medulares o células reticulares, adipocitos, osteoblastos y condrocitos. Estudios in vivo o in vitro han demostrado la plasticidad de estas células, dando origen a células no hematopoyéticas como miocitos, tenocitos, células nerviosas, entre otras (59).

## 2.7 DMEMF-12

DMEM/F-12 es una formulación avanzada de medio *Eagle* modificado de Dulbecco/medio basal F-12 de Ham que se puede utilizar en una amplia gama de líneas celulares para aplicaciones que requieren una suplementación de suero reducida o nula. Las líneas celulares cultivadas en DMEM/F12 y suero reducido, exhiben un crecimiento celular equivalente o superior mientras mantienen la misma morfología y función celular que en condiciones de suero alto

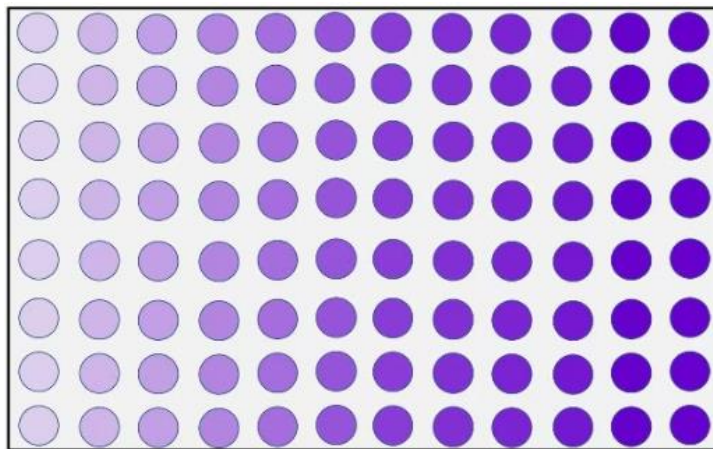
### 2.7.1. Aplicaciones del DMEMF-12

- Cultivo de células primarias, troncales y líneas celulares en aplicaciones que requieren medio reducido o sin suero.
- Optimización de transfecciones que requieren condiciones reducidas o libres de suero.
- Producción de medio acondicionado en condiciones de suero reducido o sin suero.
- Medios optimizados para el cultivo y la expansión de múltiples organoides 3D y sistemas de tejidos.

DMEM/F-12 PLUS es una formulación patentada que contiene albúmina sérica humana (HSA), lípidos definidos, oligoelementos, productos químicos y proteínas esenciales para el crecimiento celular óptimo en condiciones de suero reducido. El medio contiene un alto contenido de glucosa y no contiene L-glutamina ni penicilina-estreptomicina.

## 2.8. MTT

El ensayo con MTT se utiliza para medir la actividad metabólica celular como indicador de la viabilidad, la proliferación y la citotoxicidad celulares (*Figura 4*).



---

*Figura 4. Ensayo de MTT a mayor coloración morada indica la reducción de una sal de tetrazolio amarilla, lo que determina la viabilidad celular. Fuente directa*

---

Este ensayo colorimétrico se basa en la reducción de una sal de tetrazolio amarilla (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio o MTT) a cristales de formazán de color morado por las células metabólicamente activas (60).

Las células viables contienen enzimas oxidoreductasas dependientes del NAD(P)H que reducen el MTT a formazán. Los cristales de formazán insolubles se disuelven utilizando una disolución de solubilización y la disolución coloreada



resultante se cuantifica midiendo la absorbancia a 500-600 nanómetros con un espectrofotómetro. Cuanto más oscura sea la disolución, mayor será el número de células metabólicamente activas viables (61).

### 2.8.1 Aplicaciones del ensayo de MTT

- Cuantificación del crecimiento y la viabilidad celulares.
- Medición de la proliferación celular en respuesta a factores de crecimiento, citocinas y nutrientes.
- Medición de la citotoxicidad, algunos ejemplos son la cuantificación de los efectos del factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ,  $\beta$  o la muerte celular inducida por macrófagos y la evaluación de citotóxicos o inhibidores del crecimiento como los anticuerpos inhibidores.
- Estudio de la activación celular (62).

## 2.9. Difracción de Rayos X

La Difracción de rayos X (DRX) se ha utilizado para analizar la composición de suelos e identificar minerales, aleaciones, metales, materiales catalíticos, ferroeléctricos y luminiscentes entre otros. Este tipo de análisis se ha incorporado al estudio de materiales en el área de nanociencias, debido a que la información que arroja un difractograma ayuda a determinar la estructura cristalina y la composición de un material, e incluso, a partir de un difractograma se pueden calcular los tamaños de grano. El difractograma está formado por reflexiones (picos) que corresponden a las distancias de dimensiones nanométricas entre familias de planos de átomos (63).

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Son muchos los estudios donde se ha utilizado la policaprolactona y se han reportado y observado numerosas propiedades benéficas como es la biocompatibilidad, sin embargo hasta el momento no existe referencia del polímero PCL en forma de **“bulk”** dopado con nanopartículas de óxido de magnesio en alguna aplicación biológica con propiedades antimicrobianas que se puedan utilizar como biomaterial o mantenedor de espacio intramucoso; por tal motivo es importante comenzar con la caracterización biológica de este material compuesto para conocer y comprender su posible aplicación en un medio biológico.

## 4. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se han utilizado como sustitutos de injertos óseos, varios materiales sintéticos orgánicos como polímeros y otros materiales inorgánicos como cementos cálcicos, o compuestos de ambos. El polímero  $\epsilon$ -policaprolactona se ha propuesto para imitar la estructura y la textura fibrosa de la colágena en el tejido óseo natural. La aplicación biomédica es de gran utilidad ya que la PCL es degradada por hidrólisis de sus vínculos ésteres en condiciones fisiológicas y por lo tanto ha recibido una gran atención para su uso como un biomaterial implantable. Es importante la caracterización biológica de un andamio de policaprolactona funcionalizado o dopado con sistemas de NPs de diferentes óxidos metálicos (MgO) ya que se puede garantizar una doble función, es decir, el aprovechamiento de sus propiedades microbicidas ya establecidas, además de la radiopacidad pertinente de todos los materiales dentales y de inicio será de gran importancia conocer las propiedades físicas de este biomaterial PCL dopado o funcionalizado con NPs de MgO, para sugerir algunas aplicaciones biológicas. Por lo que introducir este material en una aplicación odontológica podría ser viable; tal es el caso de un material implantable que funcione como mantenedor de espacio en pacientes pediátricos por pérdida prematura de molares primarios.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo General**

Determinar las propiedades biológicas de un polímero de policaprolactona (PCL) funcionalizado con la sal de subsalicilato de bismuto (SSB) y nanopartículas de óxido de magnesio (MgO).

### **5.2 Objetivos Específicos**

- ✓ Sintetizar nanopartículas de óxido de Magnesio (MgO) mediante mecano-síntesis.
- ✓ Determinar químicamente que las NPs fueron de óxido de Magnesio (MgO), mediante la técnica de Difracción de Rayos X.
- ✓ Dopar/funcionalizar los discos con las NPs de MgO.
- ✓ Dopar/funcionalizar los discos con la sal subsalicilato de bismuto (SSB) como grupo control positivo.
- ✓ Determinar la viabilidad celular de los discos funcionalizados con NPs de MgO con células troncales de médula ósea ATCC.

## **6. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN**

Si hay viabilidad celular de un andamio funcionalizado con nanopartículas de Óxido de Magnesio (MgO) en un cultivo con células troncales de médula ósea ATCC.

## **7. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **7.1. Tipo de estudio:**

Experimental, longitudinal in vitro.

### **7.2. Universo de estudio:**

90 discos de policaprolactona de 14 mm de diámetro y 2 mm de grosor.

### **7.3. Periodo de Estudio:**

Agosto 2022 a agosto 2023.

### **7.4. Tamaño de la Muestra:**

Discos dopados o funcionalizados

- 30 discos de PCL (grupo control) (n=30)
- 30 discos de PCL funcionalizados con SSB (n=30)
- 30 discos de PCL funcionalizados con NPs de MgO (n=30)

## **8. CRITERIOS DE PARTICIPACIÓN**

### **8.1. Criterios de Inclusión**

- Discos de PLC y PCL funcionalizados con SSB y MgO de 14 mm de  $\Theta$  y 2 mm de grosor.

### **8.2. Criterios de Exclusión**

- Discos que no cumplan con las medidas de 14 mm de  $\Theta$  y 2 mm de grosor.

### **8.3. Criterios de Eliminación**

- Discos que al manipularse se fisuren o rompan.

## 9. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE MgO

- Se utilizaron acetato de magnesio (*Figura 5*) e Hidróxido de Sodio para la elaboración de las NPs de MgO (*Figura 6*).



---

*Figura 5. Mortero de ágata con Acetato de Magnesio Tetrahidratado. Fuente directa.*

---



---

*Figura 6. Mortero de ágata con hidróxido de sodio. Fuente directa.*

---

- Se realizó la mecosíntesis de las NPs hasta obtener una mezcla final y homogénea de color blanco (Figura 7).

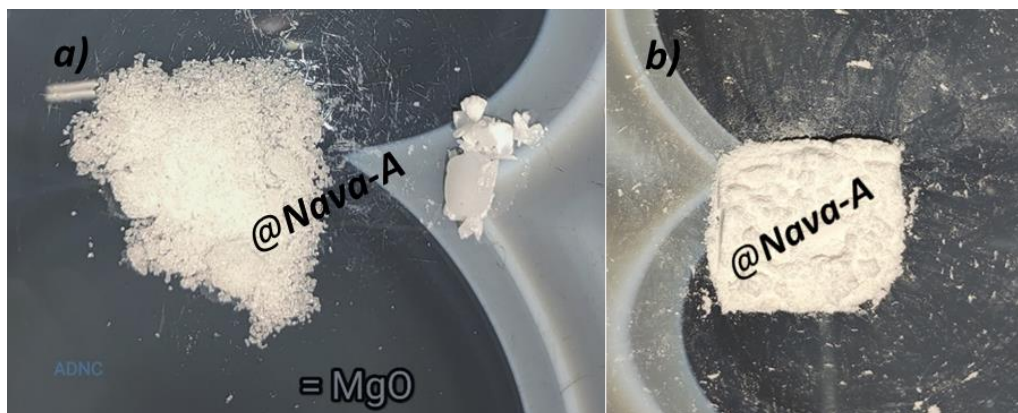


Figura 7. a) Acetato de Magnesio e Hidróxido de Sodio b) Compuestos después de la mecosíntesis. Fuente directa.

- Se realizaron ciclos de lavado, durante 7 min cada uno a 3500 RPM (Figura 8).

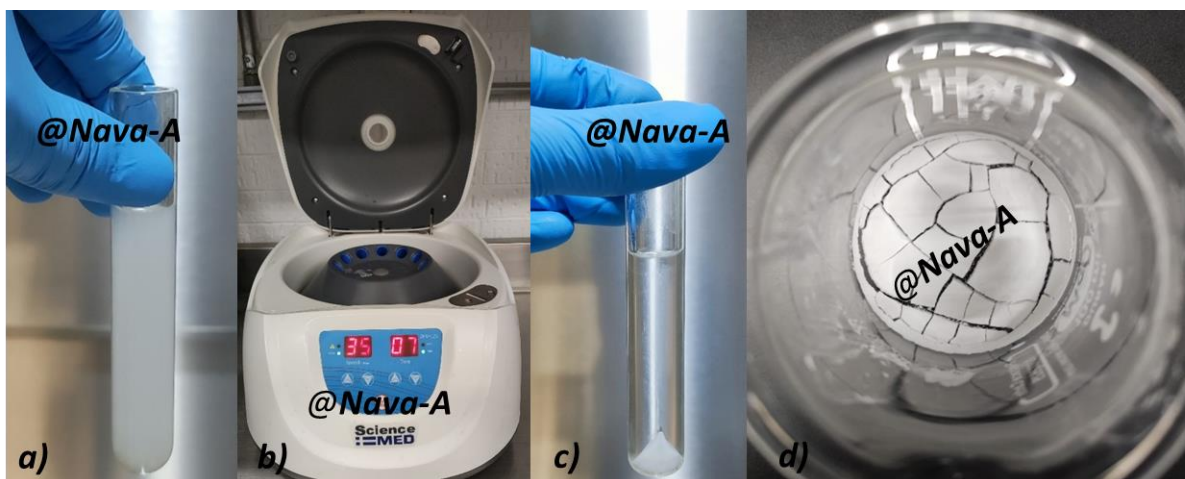
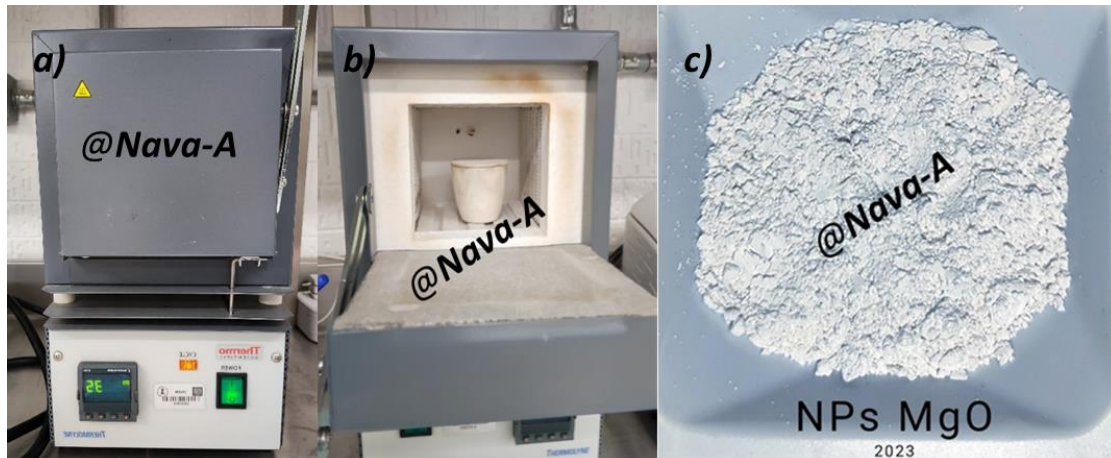


Figura 8. a) NPs de MgO previo al centrifugado b) Centrifuga Science MED® c) NPs de MgO después del centrifugado d) NPs de MgO sedimentadas. Fuente directa.

- Una vez terminado el proceso de lavado se realizó la calcinación en una mufla (*Thermo Scientific®*) durante 2 horas a 400°C con la finalidad de que el magnesio se oxide y el residuo de H<sub>2</sub>O se evapore (*Figura 9*).
- Una vez que las NPs pasaron por todos los procesos de purificación, se procedió a la realización de los discos de PCL funcionalizados.



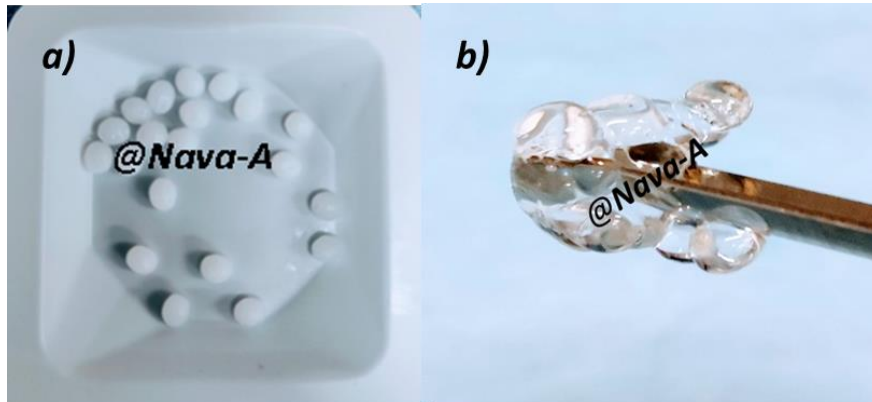
---

*Figura 9. a) Mufla Thermo Scientific® b) Crisol de porcelana c) NPs después del proceso de calcinación. Fuente directa.*

---



## 10. ELABORACIÓN DE DISCOS (ANDAMIOS) FUNCIONALIZADOS CON NPs DE MgO



*Figura 10. a) Perlas de Policaprolactona b) Policaprolactona despolimerizada. Fuente Directa.*

- Se humedeció la PCL en agua a  $\sim 48^{\circ}\text{C}$  con la ayuda de la platina de agitación (SCIOLOGEX®).
- Se reblandeció la PCL y se agregaron las NPs de MgO (*Figura 10*).
- Se colocó la PCL funcionalizada con NPs de MgO en los moldes (*Figura 11*).
- Se eliminaron los excedentes recortando la muestra.

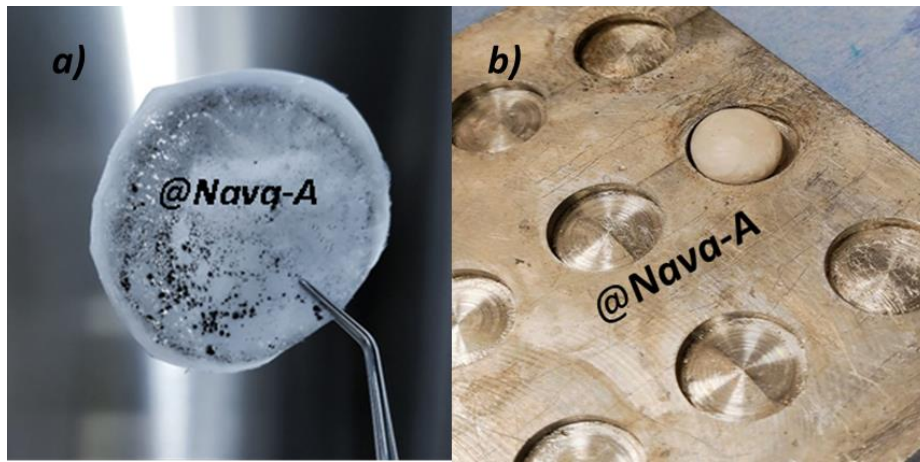


Figura 11. a) película de PCL funcionalizado o dopada con NPs de MgO b) Formación del disco de Policaprolactona. Fuente directa.

- Posteriormente se utilizó papel de carburo de silicio a diferentes granajes en un pulidor de alta precisión, ubicada en el “Instituto de Investigaciones en Materiales” en Ciudad Universitaria CDMX (Figura 12).

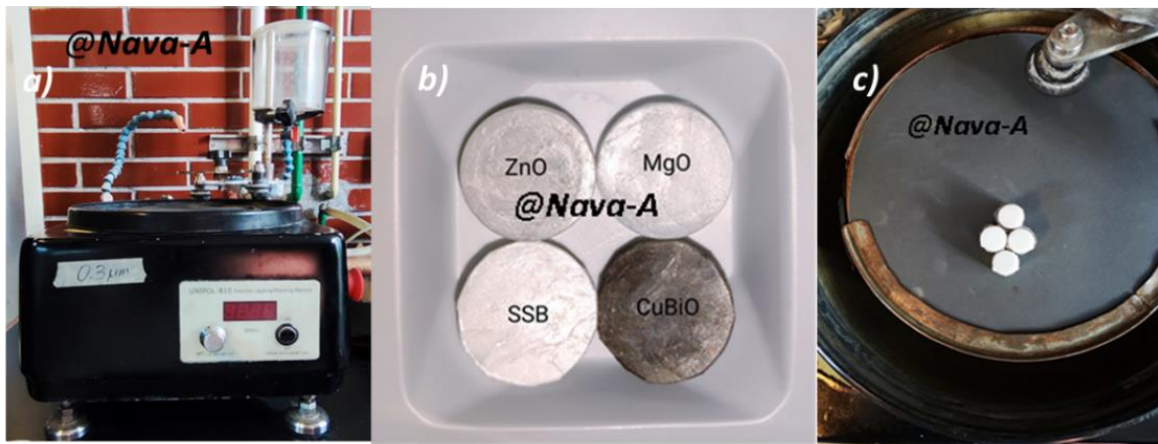


Figura 12. a) Pulidor de alta precisión. b) Diferentes tipos de discos pulidos. c) Discos ya pulidos. Fuente directa.

# 11. CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA

## 11.1. Acondicionamiento del andamio

- Se tomaron 5 discos de cada grupo experimental, según la NOM ISO 10993-12 y se esterilizaron utilizando 10 ml del Óxido de Etileno durante 24h para 24 y 48 horas y para 3 y 7 días a 37° C en un medio de agitación orbital a 10,000 RPM.
- Concluido lo anterior, se enjuagaron y se esterilizaron mediante rayos UV en una cámara de flujo laminar (1300 series A2®) 30 minutos de cada lado, colocando papel aluminio con la finalidad de que los rayos irradiaran todos los andamios por igual (Figura 13).



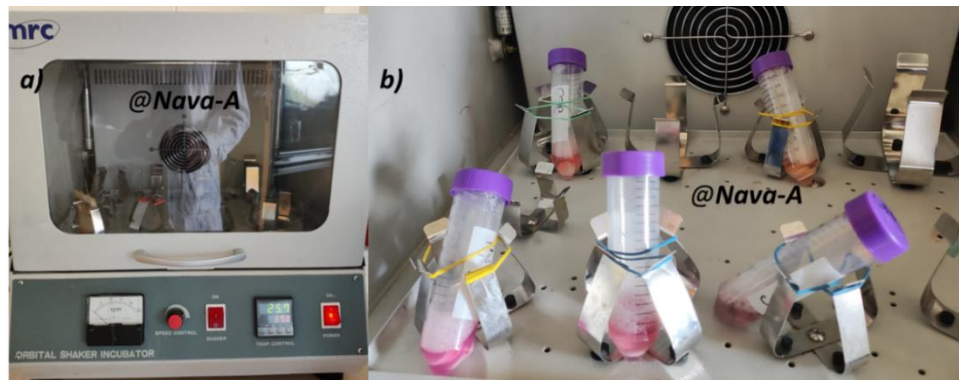
---

*Figura 13. Esterilización mediante Rayos UV en una campana de flujo laminar. Fuente directa.*

---

- Una vez finalizados los procesos de esterilización se colocaron las muestras en tubos de 50 ml. con 6.6 ml de medio suplementado (DMEMF-12, 10% de suero bovino fetal, 1% de antibiótico) y se sometieron a un proceso de agitación 10,000 rpm durante 24 horas (Figura 14).

- Posteriormente se extrajo de los recipientes el medio ya condicionado y se agregó a los pozos de cultivo.



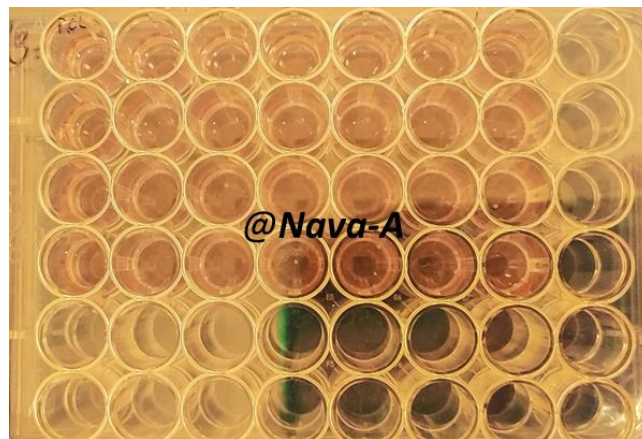
---

Figura 14. a) Incubadora con agitador orbital. b) Vista por dentro. Fuente directa.

---

## 11.2. Cultivo celular

Se colocaron en 3 cajas de 48 pozos cada una (1, 3 y 7 días), con  $3.8 \times 10^3$  células troncales de medula ósea (CT-MO) con cultivo liofilizado del “American Type Culture Collection” (ATTC, Rockville, MD, USA) (Figura 15).



---

Figura 15. Caja de 48 pozos donde se realizó el cultivo celular. Fuente directa.

---

### 11.3. Ensayo de viabilidad celular MTT

El análisis de citotoxicidad mediante el ensayo de MTT se realizó por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa de células metabólicamente activas, la cual transforma al MTT de un compuesto hidrofílico de color amarillo a un compuesto azul, hidrofóbico (formazán).

Las CT-MO del 9no pase, se sembraron en cajas de cultivo de 48 pozos, a una densidad de  $3.8 \times 10^3$  células por pozo. Las células fueron crecidas en medio suplementado DMEMF-12 (*Sigma Aldrich®*), 24 h para el día 1 y 48 h para los días 3 y 7.

Al día 3 se agregó el medio condicionado a los pocillos de cultivo que contenían las CT-MO. Al día 4 se realizó el primer ensayo de MTT (1 día), donde colocaron 10  $\mu$ l de MTT (0.5 mg/ml) y se dejaron incubar 4 horas. Se llevo a espectofotómetro para ser analizado a longitud de onda de 570nm.

Al día 5 se agregó el medio condicionado a las células para el ensayo de 3 días, al día 6 se realizó el segundo ensayo de MTT (3 días), mismas condiciones.

Para el día 7 se agregó medio condicionado a las células para el ensayo de 7 días y al día 9 se volvió a hacer el cambio de medio condicionado para el ensayo de 7 días. Los experimentos se realizaron por triplicado y se repitieron tres veces bajo las mismas condiciones. Para el día 10 se realizó el tercer ensayo de MTT (7 días), como se muestra en la (*figura 16*).



---

*Figura 16. Esquema que representa el extracto del experimento de viabilidad celular realizado en el Instituto Nacional de Rehabilitación. Fuente directa*

---

## 12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para analizar la distribución de los datos de la variable absorbancia.

Se realizó la prueba de Levene para la homosedasticidad de los datos. ( $p < 0.05$ ).

Se realizó ANOVA de una vía para el análisis de los resultados por cada día de proliferación celular (1, 3 y 7 días) con *Dunnett* como su prueba *post hoc*.

Se realizó ANOVA de 2 vías con los grupos experimentales y tiempo como factores (niveles) con la prueba *post hoc Tukey*.

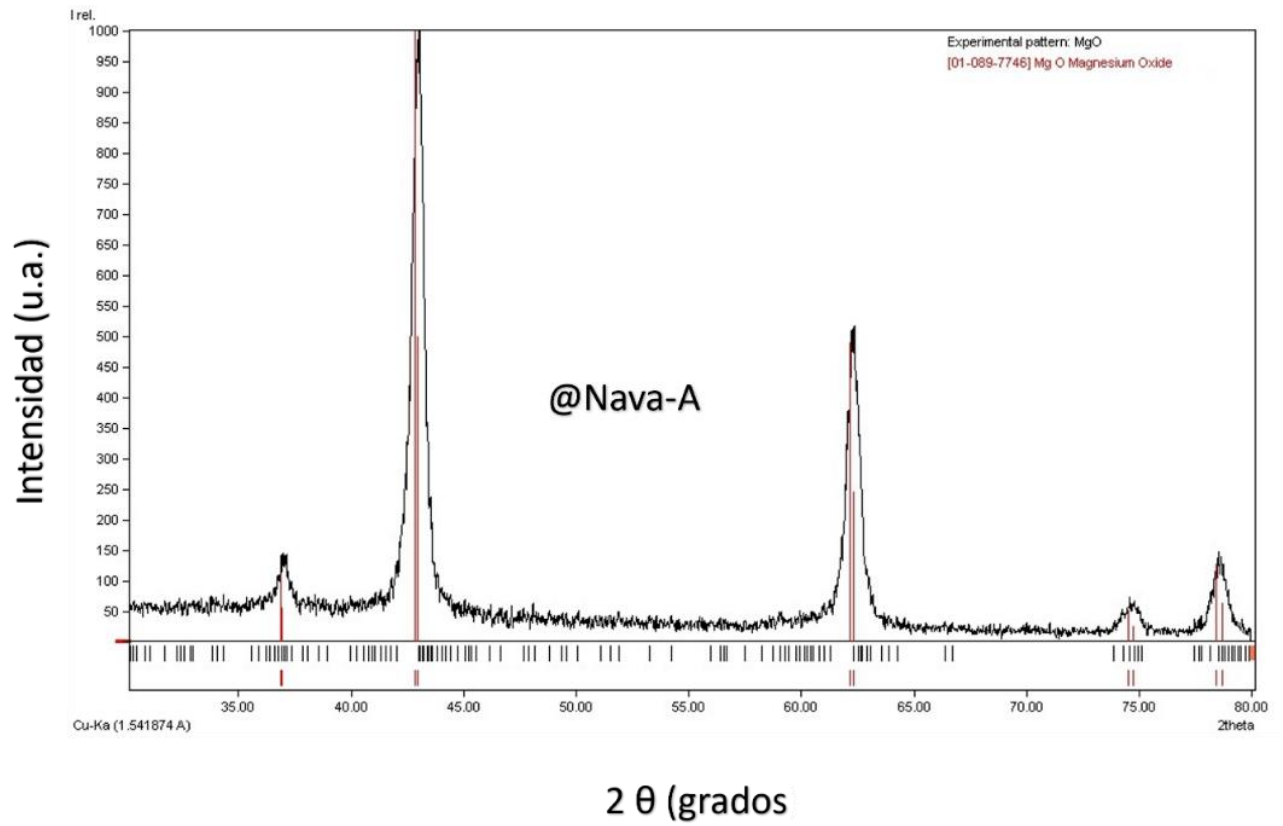
Todos los análisis estadísticos y las gráficas se realizaron con el software GraphPad Prism 8.0® para el procesamiento de la información con un valor de  $p < 0.05$ .

## 13. RESULTADOS

### 13.1. Difracción de Rayos X

El análisis físico cristalino de las NPs de MgO fue realizado mediante Difracción de Rayos X, en dispositivo Rigaku®, el cual es un difractómetro de rayos X de cristal único, que incluye un instrumento de rayos X de tubo sellado de microfoco de alto flujo y bajo mantenimiento con un goniómetro kappa de 4 círculos de alta precisión y un detector de rayos X de Conteo de Fotones Híbridos de *Rigaku®* conocido como *El Hy Pix-Bantam*. Se evaluó el estado físico de las nanopartículas en un rango 5 a 80° en  $2\theta$ . La radiación aplicada fue Cu K kappa  $\alpha$  1.541874 Å a 25°C. El patrón de difracción de rayos X de las NPs de MgO mostró picos en los ángulos 37.6°, 42.8°, 62.2° y 78.5. correspondientes a (200), (220), (311) y (222) que corresponden a los picos representativos de la molécula del MgO, obteniendo una coincidencia de la estructura cristalográfica con calidad S, con respecto a la comparación con las tarjetas cristalográficas de acuerdo con el Centro Internacional de Datos de Difracción (*ICDD International Center for Diffraction Data* “*Por sus siglas en ingles*”).





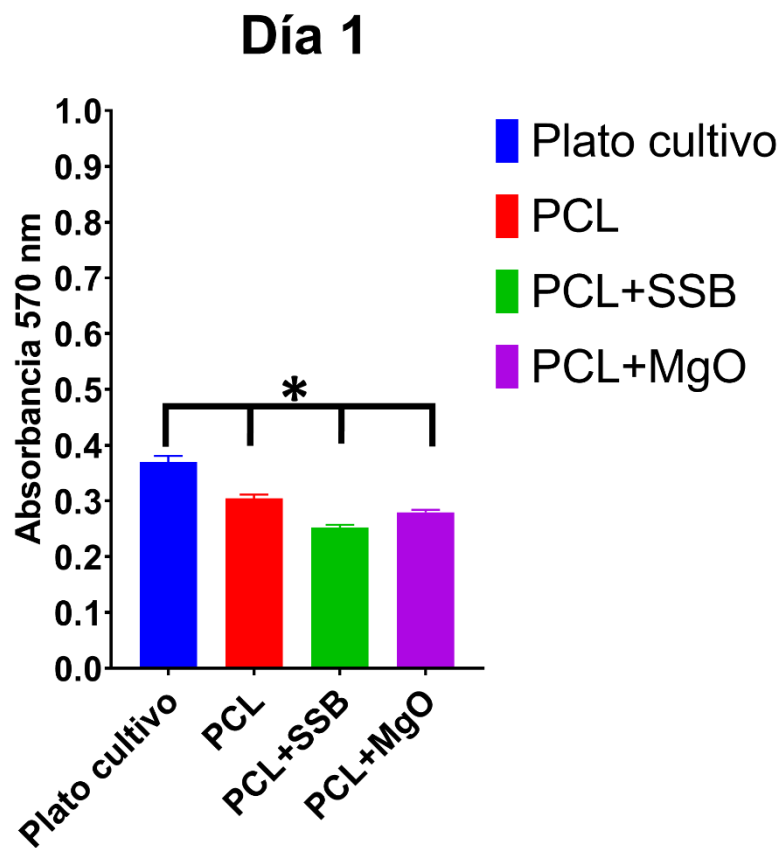
---

*Gráfica 1. Difracción de rayos X MgO. Fuente directa.*

---

## 13.2. Viabilidad Celular

En el ensayo de viabilidad celular que se realizó con células mesenquimales de médula ósea, en la gráfica 2 se puede observar la comparación después de 24 horas del sembrado de células donde los grupos experimentales se compararon con el plato de cultivo y si se encontraron diferencias significativas.



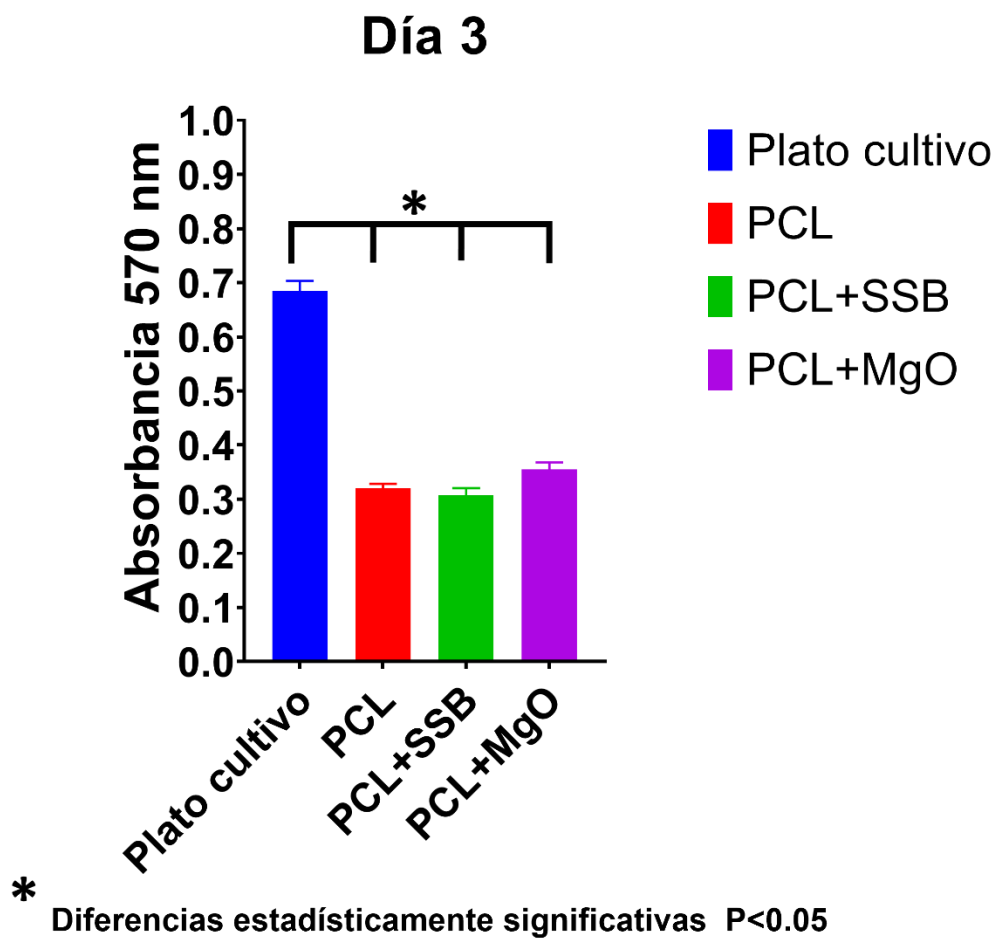
\* Diferencias estadísticamente significativas  $P < 0.05$

---

*Gráfica 2. Medida de la absorbancia y los diferentes grupos experimentales de 1 día. Fuente directa.*

---

Al día 3 de proliferación celular se observa en la gráfica 3 una diferencia significativa con respecto al grupo de plato de cultivo, es decir hubo una disminución significativa en la cantidad de células cuando comparamos las células del plato de cultivo con los grupos experimentales.

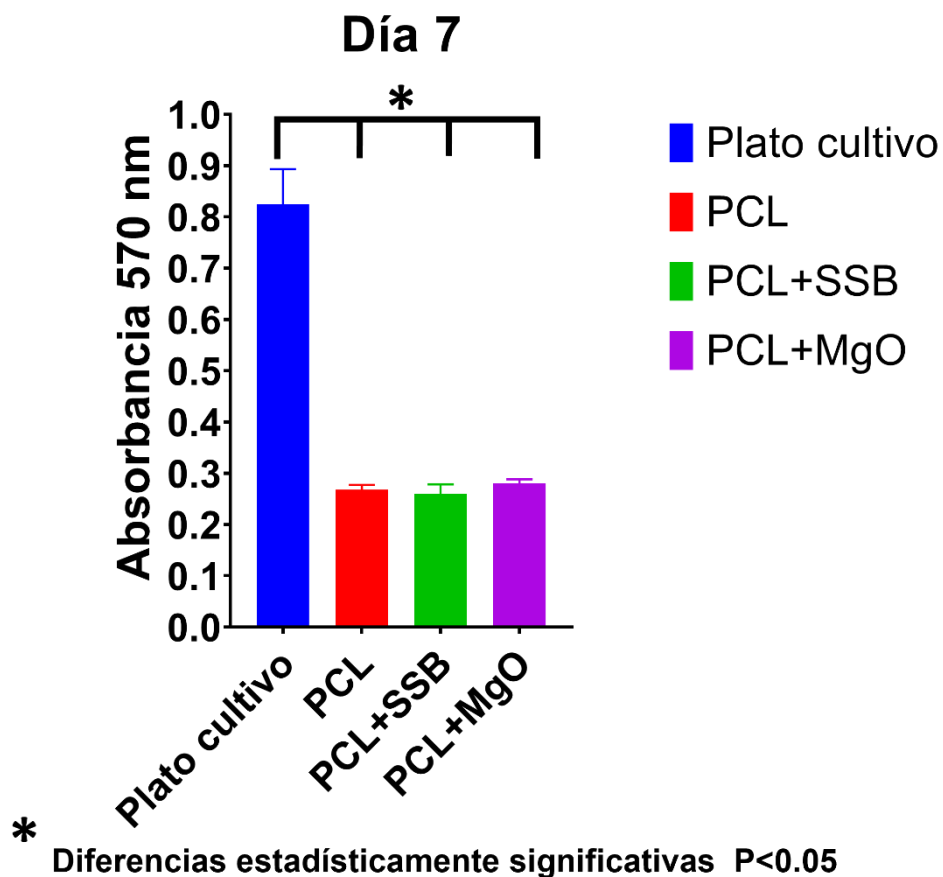


---

*Gráfica 3. Medida de absorbancia y los diferentes grupos experimentales de 3 días. Fuente directa.*

---

El experimento de proliferación celular al cabo de 7 días, se observó el mismo comportamiento con respecto al plato de cultivo, si bien no hubo citotoxicidad, no hay la misma cantidad de células en el resto de los grupos experimentales con PCL.

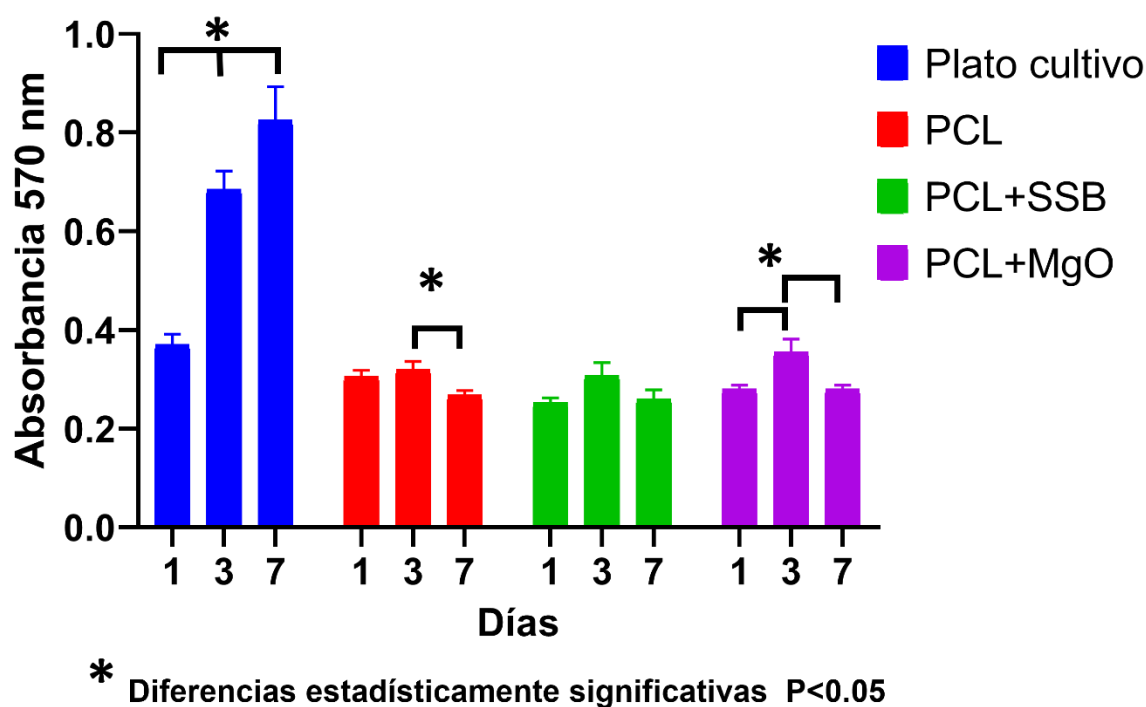


---

*Gráfica 4. Medida de absorbancia y los diferentes grupos experimentales de 7 días. Fuente directa.*

---

Con respecto a la comparación de todos los días del experimento, se midió la absorbancia con 2 factores, días y grupos experimentales y, se observa en la gráfica 5 que la proliferación de las células mesenquimales de médula ósea aumenta en el plato de cultivo con el paso del tiempo (días) ( $p=0.0053$ ).



*Gráfica 5. Medida de absorbancia a los diferentes días de cada grupo experimental.  
Fuente directa*

**Interpretación:** Cuando se compara el plato de cultivo si hay una diferencia estadísticamente significativa entre los días 1,3 y 7, es decir aumenta la viabilidad celular. En contraste cuando se compara el grupo PCL sólo presentó diferencias estadísticamente significativas entre 3 y 7 días; en el grupo PCL con la sal Subsalicilato de Bismuto, no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tres tiempos de proliferación celular, y el grupo experimental de PCL con NPs de MgO solo presenta una diferencia estadísticamente significativa entre 1 y 3 días y entre 3 y 7 respectivamente.

## 14. DISCUSIÓN

En la actualidad existen diferentes técnicas de obtención de nanopartículas como Sol-gel, hidrotermal, spray de pirólisis, coprecipitación, por microondas, combustión, mecano-síntesis, etc., una de las técnicas más reportadas es la mecano-síntesis la cual consiste en realizar la molienda de un sólido de gran escala a menor escala. Algunos autores (64; 65) mencionan en sus artículos sobre la obtención de NPs por medio de empresas tales como Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) Alfa Aesar, (MA, USA), Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ). En esta investigación se decidió realizar las NPs de MgO con la técnica de mecano-síntesis en el Laboratorio y comprobar por medio de Difracción de rayos X el patrón cristalográfico característico de la *International Center Diffraction Data (ICDD)*.

Balakrishnan (66) en su estudio sintetizó NPs de MgO mediante la técnica de combustión con la finalidad de producir un gran volumen de gas para prevenir la aglomeración de las NPs, utilizaron Nitrato de Magnesio como oxidante y urea como combustible obteniendo de esta manera un polvo blanco que trituraron en un mortero de ágata y posteriormente realizaron la prueba de difracción de rayos x; para comprobar la pureza de las NPs. En esta investigación al realizar la trituración y los lavados aunado a la calcinación se obtuvo el tamaño deseado.

Rojas (67) y Wahab (68) ambos en sus artículos realizaron nanopartículas de MgO utilizando la técnica de sol -gel y les realizaron difracción de rayos X comprobando la pureza de su muestra y Rojas lo realizó para poderlas fijarlas en sus celdas solares y así conservar el potencial eléctrico. En este trabajo se realizaron las NPs de MgO con la técnica de mecano-síntesis, seguido del análisis con el Difractor de Rayos X para corroborar la cristalinidad de la molécula y poder dopar/funcionalizar los discos de PCL, por lo tanto, cuando se elaboren NPs por diferentes técnicas será necesario siempre realizar el difractograma pertinente.

Dongxu Ke (65) en su investigación utilizó NPs de MgO, ZnO, SrO (Sigma Aldrich St. Louis, MO, USA) para funcionalizar sus andamios de fosfato tricálcico en nanofibras obteniendo excelentes resultados biológicos aplicados a la osteointegración en su experimento in vivo. En esta investigación se elaboraron NPs de MgO por mecano-síntesis para funcionalizar discos de PCL en forma de *bulk* resaltando sus propiedades antimicrobianas, para poder ser utilizado en un futuro próximo como un mantenedor de espacio intramucoso en donde hubo una pérdida prematura de molares primarios por caries que únicamente evite la mesialización de los molares permanentes.

Vitale (69) En su estudio elaboró andamios vitrocerámicos bioactivos funcionalizados con NPs de MgO, los cuales se destacaron por su confiabilidad, bajo costo y por su capacidad de adoptar formas complejas, resultando ser un excelente sustituto de hueso. En esta investigación se utilizó la PCL por ser un polímero de fácil manipulación, biodegradable y con las NPs de MgO con propiedades antibacterianas que mantendrá el espacio para la erupción de dientes permanentes.

Otras propiedades de gran interés son la viabilidad celular y control antimicrobiano, propiedades que se tienen en conjunto al funcionalizar la PCL con NPs de MgO. Nicknam (70) en su estudio elaboró andamios de PCL mediante la técnica de *electrospinning* utilizando cloroformo como disolvente, dopados con NPs de MgO y GO, aplicados a la regeneración de tejido óseo donde obtuvo un efecto antimicrobiano relevante con células troncales mesenquimales de tejido adiposo. En este trabajo se elaboraron andamios de PCL utilizando acetona como disolvente funcionalizados con NPs de MgO en forma de disco “*bulk*” por las propiedades antimicrobianas del MgO utilizando células mesenquimales de médula ósea, obteniendo biocompatibilidad y la ausencia de agentes bacterianos

Wenzao Peng (71) en su estudio de PCL con gelatina y NPs de MgO demostró una alta actividad antibacteriana mediante una evaluación cuantitativa de colonias bacterianas con *E. coli* y con células troncales del ligamento periodontal demostrando que si funciona como terapia de regeneración periodontal. En este estudio los andamios de PCL funcionalizados con NPs de MgO fueron sometidos a un ensayo de viabilidad celular con MTT utilizando cultivos de CT-MO, donde si bien no hubo proliferación celular cuando se compara con el plato de cultivo, tampoco hubo crecimiento de microorganismos o levaduras patógenas durante el experimento.

Fielding (64) en su artículo, menciona sobre los efectos de los fosfatos tricálcicos dopados con SiO, SrO, MgO y ZnO realizó estudios de proliferación celular mediante con células humanas preosteoblásticas y el ensayo con MTT obtuvo como resultados una mayor proliferación en muestras que contenían ZnO y MgO comparado con fosfato tricálcico puro. En contraste con esta investigación en los resultados obtenidos a 1, 3 y 7 días no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales de PCL y PCL con NPs de MgO y SSB respectivamente, además en sus resultados Fielding no compara el plato de cultivo con el porcentaje celular, y en este trabajo al compararlo no se observa una proliferación de más del 50% pero tampoco la muerte celular.

Niknam (72) en su investigación midió el potencial de diferenciación osteogénica con células troncales mesenquimales derivadas de tejido adiposo, sobre andamios de PCL (nanofibras) con NPs de MgO y evaluó la viabilidad celular utilizando MTT con una densidad de  $1 \times 10^4$  células por pozo a 1, 4 y 7 días, midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 570 nm, demostrando que la incorporación de NPs de MgO si favorece la viabilidad celular. En esta investigación se implementó el ensayo MTT para determinar la viabilidad celular a una densidad de  $3.8 \times 10^3$  células por pozo a 1, 3 y 7 días y también se midió la absorbancia a una longitud de onda de 570 nm, se demostró que no hubo viabilidad celular lo que es



conveniente ya que no se requiere la integración del andamio a los tejidos adyacentes sino únicamente, la preservación del espacio en el hueso alveolar para promover la correcta erupción de los dientes permanentes.

## 15. CONCLUSIONES

Se obtuvieron las nanopartículas de MgO mediante la técnica de mecanosíntesis.

En los difractogramas de MgO si se obtuvieron los patrones cristalográficos correspondientes con las tarjetas de la ICDD©.

Se funcionalizaron/doparon los discos de PCL con NPs de MgO a una concentración de 0.04g al igual que la sal de subsalicilato de bismuto.

En la prueba de viabilidad celular no hubo citotoxicidad, sin embargo, cuando se comparan los grupos experimentales las 24 horas con el plato de cultivo si hubo una disminución en la cantidad de células con una absorbancia de 570 nm.

Cuando se comparan los resultados de viabilidad a 3 y 7 días también hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto al crecimiento celular con el plato de cultivo.

No existe una citotoxicidad, ni tampoco contaminación del medio, sin embargo, no hubo un aumento en la proliferación celular a 1, 3 y 7 días.

La PCL funcionalizada con NPs de MgO es ideal para el diseño de un mantenedor de espacio por su plasticidad, su biocompatibilidad en “*bulk*” y su gran capacidad de manipulación, además de no ser citotóxico en el medio, incluso sin haber proliferación celular con respecto al plato de cultivo.

## 16. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Año	2022				2023								
Actividades	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago
Búsqueda de Referencias													
Elaboración de un protocolo													
Capacitación proyecto de investigación													
Prueba Piloto													
Obtención de la muestra.													
Preparación de la muestra													
Pruebas Biológicas													
Análisis de resultados													
Redacción de la tesis													
Tramite de titulación													
Obtención de Grado													

## 17. REFERENCIAS

1. **Jemison Mae, Ronke Olabisi.** Biomaterials for human space exploration: A review for their untapped potential. *Acta Biomaterialia*. 2021, Vol. 128, 77-99.
2. **Anusavice, K., Shen, C. and Rawls, H.R., Dental Ceramics. In:.** Science of Dental Materials. Berlin : Springer pp:418-473.
3. **Sari, D.S., Maduratna, E., Ferdiansyah, Latief, F.D.E., Satuman, Nugraha, A.P., Sudiana, K.,** Osteogenic Differentiation and Biocompatibility of Bovine Teeth Scaffold with Rat Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells. *European Journal of Dentistry*. 13, 2019, Vol. 2, pp. 206-212.
4. **Brahatheswaran Dhandayuthapani, Y. Y., Toru.** Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review. *International Journal of Polymer* . 2011, Vol. 19.
5. **Chen, Q., Liang, S., & Thouas, G. A.** Elastomeric biomaterials for tissue engineering. *Progress in Polymer Science*. 2013, Vol. 38, 584-671.
6. **Daniela Carmagnola, Mihai Tarce, Claudia Dellavia, Lia Rimondini, Elena M. Varoni.** Engineered Scaffolds and cell-based Therapy for periodontal regeneration. *JABFM Appl Biomater Funct Mater*. 15, 2017, Vol. 4, 303-312.
7. **Mahetab Abdal-Wahab, Khaled A. Abdel Ghaffar, Ola M. Ezzatt, Ahmed Abdel Aziz Hassan, Mervat Mohamed S. El Ansary, Ahmed Y. Gamal.** Regenerative potential of cultured gingival fibroblasts in treatment of periodontal intrabony defects (randomized clinical and biochemical trial). *Journal of Periodontal Research* . 3, 2020, Vol. 55, 441-452.
8. **Farooq, M. Yar, A.S. Khan, L. Shahzadi, S.A. Siddiqi, N. Mahmood, et al.** Synthesis of piroxicam loaded novel electrospun biodegradable nanocomposite. *Mater. Sci. Eng. C Mater*. 56, 2015, 104-113.
9. **Wei Zheng, Shi Wang, Jianguo Wang.** Periodontitis promotes the proliferation and suppresses the. *International Journal of Molecular Medicine*. 36, 2015, 915-922.
10. **Hyun Nyun Woo, Young Joon Cho, Solaiman Tarafder, Chang H. Lee.** The recent advances in scaffolds for integrated periodontal regeneration. *Biactive Materials*. 6, 2021, 3328-3342.
11. **Haim Tal, Avital Kozlovsky, Zvi Artzi, Carlos E. Nemcovsky, Ofer Moses.** Cross-linked and non-cross-linked collagen barrier membranes disintegrate following surgical exposure to the oral environment: a histological study in the cat. *Clinical Oral Implants Research*. 19, 2008, Vol. 8, 760-766.
12. **Dina Abdelaziz, Amr Hefnawy, Essam Al-Wakeel, Abeer El-Fallal, Ibrahim M. El-Sherbiny,** New biodegradable nanoparticles-in-nanofibers based membranes for guided periodontal tissue and bone regeneration with enhanced antibacterial activity. *Journal of Advanced Research*. 2021, Vol. 28, 51-62.

13. **Xuezhe Liu, Xi He, Dawei Jin, Shuting Wu, Hongsheng Wang, Meng Yin, Ali Aldalbahi, Mohamed El-Newehy, Xiumei Mo, Jinglei Wu,**. A biodegradable multifunctional nanofibrous membrane for periodontal tissue regeneration. *Acta Biomaterialia*. 2020, Vol. 108, 207-222.
14. **Rui Shi, Jingjing Ye, Weiyang Li, Jingshuang Zhang, Jie Li, Chengai Wu, Jiajia Xue, Liqun Zhang,**. Infection-responsive electrospun nanofiber mat for antibacterial guided tissue regeneration membrane. *Materials Science and Engineering*. 2019, Vol. 100, 523-534.
15. **Kumbar, S.G., Laurencin, C.T. and Deng, M.,**. Natural and synthetic. *Elsevier LTD*. 1st Edition, 2014.
16. **Jennifer C. Ashworth, Marco Mehr, Paul G. Buxton, Serena M. Best.** Optimising collagen scaffold architecture for enhanced periodontal. *Tissue engineering constructs and cell substrates*. 29, 2018, Vol. 166.
17. **Ikada, Y. and Tsuji, H.** Biodegradable polyesters for medical and. *Macromol Rapid Commun.*, 21, 2000, pp. 117-132,.
18. **Osorio-Delgado, M. A., Henao-Tamayo, L. J., Velásquez-Cock, J. A., Cañas-Gutierrez, A. I., Restrepo-Múnera, L. M., Gañán-Rojo, P. F., Zuluaga-Gallego, R.** Aplicaciones biomédicas de biomateriales poliméricos. *DYNA*. 84, 2017, Vol. 201, 241-252.
19. **Goonoo, N., Bhaw-Luximon, A., Bowlin, G. L., & Jhurry, D.** An assessment of biopolymer- and synthetic polymer-based scaffolds for bone and vascular tissue engineering. *Polymer International*. 4, 2013, Vol. 62, 523-533.
20. **Li Shue, Zhang Yufeng & Ullas Mony.** Biomaterials for periodontal regeneration. *Biomatter*. 2, 2912, Vol. 4, 271-277.
21. **Sarah-Sophia D. Carter, Pedro F. Costa, Cedryk Vaquette, Saso Ivanovsky, Dietmar W. Hutmacher.** Additive Biomanufacturing: An Advanced Approach for Periodontal. *Additive Manufacturing of Biomaterials, Tissues, and Organs*. 12-22, 2016, Vol. 45, 1.
22. **Cai X, Yang F, Yan X, Yang W, Yu N, Oortgiesen DAW, Wang Y, Jansen JA,**. Influence of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Clin Periodontol*. 42, 2015, 380-389.
23. **Hamlekhan, F. Moztafzadeh, M. Mozafari, M. Azami, N. Nezafati.** *Biomatter* 1. 2011, 91-101.
24. **Zhang, J.-F., & Sun, X.** Mechanical Properties of Poly(lactic acid)/Starch Composites Compatibilized by Maleic Anhydride. *Biomacromolecules*. 5, 2004, Vol. 4, 1446-1451. .
25. **Labet M, Thielemans W.** Synthesis of polycaprolactone: a review. *Chem. Soc. Rev.* 38, 2009, 3484–3504,.
26. **Hamlekhan A, F. Moztafzadeh, M. Mozafari, M. Azami, N. Nezafati.** *Biomatter* 1. 2011, 91-101.
27. **Sinha VR, Bansal K, Kaushik R, Kumria R, Trehan.** Poly-epsilon-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview. *Int J Pharm*. 278, 2004, Vol. 1, 1-23.

28. **Kalra, Richard A. Gross and Bhanu.** Biodegradable Polymers for the Environment. *Green Chemistry*. 297, 2002.
29. **Hankyu Cho, Solaiman Tarafder, Michael Fogge, Kristy Kao & Chang H. Lee.** Periodontal ligament stem/progenitor cells with protein-releasing scaffolds for cementum formation and integration on dentin surface. *Connective Tissue Research*. 6, 2016, Vol. 57, 488-495.
30. **Zhou J, Yang Y, Detsch R, Boccaccini AR, Virtanen S.** Iron surface functionalization system - Iron oxide nanostructured arrays with polycaprolactone coatings: Biodegradation, cytocompatibility, and drug release behavior. *Applied Surface Science*. 2019, Vol. 492, 669-82.
31. **Federación de enseñanza de Andalucía.** La Materia. *Revista digital para profesionales de la enseñanza*. 17, 2011.
32. **Eva Márquez Durán, David Hernández Moreno, María Prado Míguez Santiyán, Francisco Soler Rodríguez, Marcos Pérez López.** Las nanopartículas y sus aplicaciones biomédicas. *Universidad de Extremadura*. 2021.
33. **Authority, A.P.A.V.M.** Regulatory considerations for nanopesticides and veterinary nanomedicines:. *Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority*. 978, 2014, Vol. 1.
34. **Unión Europea. Recomendación (UE) 2011/696.** Comisión, de 18 de octubre de 2011, relativa a la definición de nanomateriales. *Diario Oficial de la Unión Europea*. 275, 2011, 38-40.
35. **Saleh, T.A. Nanomaterials.** Classification, Properties, and Environmental Toxicities. *Environ. Technol. Innov.* 20, 2020, 101067 .
36. **Ealia, S.A.M. y Saravanakumar, M.P. A.** Review on the Classification, Characterisation, Synthesis of Nanoparticles and Their Application. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 263, 2017, 032019.
37. **Cartwright, A., y otros.** Review of Metal and Metal-Oxide Nanoparticle Coating Technologies to Inhibit Agglomeration and Increase Bioactivity for Agricultural Applications. *Agronomy*. 10, 2020, Vol. 1018.
38. **Horikoshi, S. y Serpone, N.** "Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications" Introduction to nanoparticles". *Introduction to nanoparticles*. Weinheim: Wiley Verlag Chemie. 2013, 1-24.
39. **Pal, S. L., y otros.** "Nanoparticle: an overview of preparation and characterization". *International Research Journal of Pharmacy*,. 4, 2011, Vol. 4, 228-234.
40. **Akbari, B. y Tavandashti, M.P. y Zandrahimi, M.** "Particle size characterization of nanoparticles: a practical approach". *Iranian Journal of Materials Science and Engineering*. 8, 2011, Vol. 2, 48-56.
41. **Pangi, Z. y Beletsi, A. y Evangelatos, K.** "PEG-ylated nanoparticles for biological and pharmaceutical application". *Advanced Drug Delivery Review*. 24, 2003, 403-419.

42. **Jain, P.K., Huang, X. y El-Sayed, I.H. y El-Sayed, M.A.:** “Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine”. *Accounts of Chemical Research*. 41, 2008, Vol. 12, 1578-1586.
43. **Zhang X.F. Liu, Z.G. Shen W. y Gurunathan S.** “Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches”. *International Journal of Molecular Sciences*. 17, 2016, Vol. 9, 1534.
44. **Cartwright, A., y otros.** A Review of Metal and Metal-Oxide Nanoparticle Coating. *Agronomy*. 10, 2020, 1018.
45. **Yaqoob, A.A., y otros.** Recent Advances in Metal Decorated Nanomaterials and Their Various Biological Applications: A Review. *Front. Chem.* 8, 2020, 341.
46. **Cousin, P. y Ross, R.A.** Preparation of Mixed Oxides: A Review. *Mater. Sci. Eng.* 130, 1990 , 119–125.
47. **De Silva. Mantilaka, S. P. Ratnayake.** “Nano-MgO reinforced chitosan nanocomposites for high performance packaging applications with improved mechanical, thermal and barrier properties. 2017, Vol. 157, 739–747.
48. **Duffy, T., Madhusudhan, N. y Lee, K.K.M.** 2.07-Mineralogy of Super-Earth Planets. *In Treatise on Geophysics*. 2nd ed.; Schubert, G., Ed.; Elsevier: Oxford, UK, 2015, 149–178.
49. **Cheremisinoff, N.P.V.** Condensed Encyclopedia of Polymer Engineering Terms;. *Cheremisinoff, N.P., Ed.; Butterworth-Heinemann: Boston, MA, USA,*. 2001, 340–347.
50. **Akinwekomi, A.D., y otros.** Synthesis and Characterisation of Floatable Magnesium Alloy Syntactic Foams with Hybridised Cell Morphology. *Mater. Des.* 160, 2018, 591–600.
51. **Jitendra Pal Singh, Keun Hwa Chae.** Ferromagnetism of Magnesium Oxide. *Condens. Matter.* 2, 2017, Vol. 36.
52. Ferromagnetism of Magnesium Oxide. *Condens. Matter.* 2, 2017, 36.
53. **Collaboration: Authors and editors of the volumes III/17B-22A-41B** Magnesium oxide (MgO) crystal structure, lattice parameters, thermal expansion. 1999, Vol. 41b, 1–6.
54. **Diachenko, O.V., y otros.** Surface Morphology, Structural and Optical Properties of MgO Films Obtained by Spray Pyrolysis Technique. *Acta Phys. Pol.* 130, 216, 805-810.
55. **Selvam, N.C.S., y otros.** Comparative Study of Microwave and Conventional Methods for the Preparation and Optical Properties of Novel MgO-Micro and Nano-Structures. *Alloy. Compd.* 2011, Vol. 509, 9809-9815.
56. **Morris, Khandaker M. Li Y. and.** Micro and nano MgO particles for the improvement of fracture toughness of bone-cement interfaces. *J. Biomech.* 46, 2013, 1035-1039.
57. **Karthik, K., Dhanuskodi, S., Gobinath, C., Prabukumar, S., and Sivaramkrishnan.** Fabrication of MgO nanostructures and its efficient photocatalytic, antibacterial and anticancer performance. *J. Photochem. Photobiol. B.* 190, 2018, 8-20.

- 58. Mayani.** A glance into somatic stem cell biology: basic principles, new concepts and clinical relevance. 2003, Vol. 34, 3-15.
- 59. Pittenger MF, Martin BJ.** Mesenchymal Stem cells and their potential as cardiac therapeutics. 2004, Vol. 95, 9-20.
- 60. Vistica VT, Skehan P, Scudiero D, Monks A, Pittman A, Boyd MR.** Tetrazolium-based assays for cellular viability: a critical examination of selected parameters affecting formazan production. Vol. 51, 10.
- 61. Berridge M, Tan A.** Characterization of the Cellular Reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT): Subcellular Localization, Substrate Dependence, and Involvement of Mitochondrial Electron Transport in MTT Reduction. 1993, Vol. 303, 474-482.
- 62. Gerlier D, Thomasset N.** Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. s.l. : Journal of Immunological Methods, 1986, Vol. 94.
- 63. Arizaga, Martha Eloísa Aparicio Ceja y Gregorio Guadalupe Carbajal.** Utilidad de la difracción de rayos X en las Nanociencias . *Mundo Nano*. 2010, Vol. 3, 2.
- 64. Gary A. Fielding, Will Smoot, Susmita Bose.** Effects of SiO<sub>2</sub>, SrO, MgO and ZnO dopants in TCP on osteoblastic Runx2 expression. 2014, Vol. 102, 7.
- 65. Dongxu Ke, Solaiman Tarafder, Sahar Vahabzadeh, and Susmita Bose\*.** Effects of MgO, ZnO, SrO, and SiO<sub>2</sub> in Tricalcium Phosphate Scaffolds on In Vitro Genes Expression and In Vivo Osteogenesis. 2020, Vol. 96.
- 66. Balakrishnan.** Microstructure, optical and photocatalytic properties of MgO nanoparticles. 2020, Vol. 16.
- 67. Rojas O, C. Giannini, D. Siliqi, D. Altamura, F. Paraguay Delgado, J.L. Solis.** Síntesis de partículas de MgO y su incorporación en celdas solares sensibilizadas a base de TiO. 2017, Vol. 83, 1.
- 68. Wahab, y otros.** Synthesis of Magnesium Oxide Nanoparticles by Sol-Gel Process. 2007.
- 69. Vitale C. Brovarone, E. Verne , M. Bosetti, P. Apprdeni, M. Cannas.** Microstructural and in vitro characterization of SiO<sub>2</sub>-Na<sub>2</sub>O-CaO-MgO glass-ceramic bioactive scaffolds for bone substitutes. 2005, Vol. 16.
- 70. Niknam Z, H. Zali, V. Mansouri.** Morphological and Molecular Analysis of Osteoblasts Differentiated from Mesenchymal Stem Cells in Polycaprolactone/Magnesium Oxide/Graphene Oxide Scaffold.
- 71. Peng W, Ren S, Zhang Y, Fan R,.** MgO Nanoparticles-Incorporated PCL/Gelatin-Derived Coaxial Electrospinning NanocelluloseMembranes for Periodontal Tissue Regeneration. 2021.
- 72. Niknam Zalva, Ali Golchin, Mostaía Rezaei.** *Osteogenic Differentiation Potencial of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Cultured on Magnesium Oxide/Polycaprolactone Nanofibrous Scaffolds for Improving Bone Tissue Reconstruction.* s.l. : NIH Public Access, 2022.



- 73. Hornak, J.** Synthesis, Properties, and Selected Technical Applications of Magnesium Oxide Nanoparticles A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 2021, 12752.
- 74. Neto, Vicente.** Esquema representativo de la síntesis de nanopartículas (Nanoparticle synthesis technique).  
[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nanoparticle\\_synthesis\\_techniques.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nanoparticle_synthesis_techniques.jpg). *Reimpresión autorizada*. 2019.
- 76. Molina, José., Uribarren, Teresa.** Generalidades de bacterias. *Recursos de bacteriología*. 1era, 2017, Vol. II, 12.
- 77. Vega, Alejandro.** Caracterización de nanopartículas de subsalicilato de bismuto y su comportamiento biológico in vitro. 2016.
- 78. Gómez, Leyla., Silva, Nora.** Microbiología oral . 2010.
- 79. Tong, S.Y.C., y otros.** Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clin. Microbiol. Rev.* 28, 2015, 603–661.
- 80. Egorov, A.M., Ulyashova, M.M. y Rubtsova, M.Y.** Bacterial Enzymes and Antibiotic Resistance. *Acta Naturae*. 2018, Vol. 10, 33–48.
- 81. [https://commons.wikimedia.org/wiki/Commons:Reusing\\_content\\_outside\\_Wikimedia](https://commons.wikimedia.org/wiki/Commons:Reusing_content_outside_Wikimedia).**
- 82. Martínez-Lozano G. y T. Kryshtab, M. Hesiquio-Garduno, A. Kryvko.** Evaluacion de la estructura y microestructura de oxidos de Ni, Mg x O, obtenidos por coprecipitacion. *Revista Mexicana de Física*. 59, 2013, 186-190.
- 83. Kryshtab, G. Martínez-Lozano y T.** Evaluacion de la estructura y microestructura de oxidos de Ni Mg<sub>1</sub>-O, obtenidos por co-precipitacion. 2013, Vol. 59, 186-190.
- 84. Morshed Khandaker, Yanling Li, Tracy Morris.** Micro and nano MgO particles for the improvement of fracture toughness of bone–cement interfaces. 2013, Vol. 46.
- 85. Pirez María, Mota Manuel.** *Morfología y estructura bacteriana*. 2015.
- 86. Recommendations, Tackling Drug-Resistant Infections Globally-Final Report.** *The Review on Antimicrobial Resistance*. Available online. s.l. : [https://amr-review.org/sites/default/files/160525\\_Final%20paper\\_with%20cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf), (accessed on 23 August 2021).
- 87. Zahra Niknam, Ali Golchin, Mostafa Rezaei, Parviz Ranjbarvan, Hakimeh Zali.** Osteogenic Differentiation Potential of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Cultured on Magnesium Oxide/Polycaprolactone Nanofibrous Scaffolds for Improving Bone Tissue Reconstruction. 2022, Vol. 12, 2.
- 88. Mose, Haim Tal, Avital Kozlovsky, Zvi Artzi, Carlos E. Nemcovsky Ofer.** Cross-linked and non-cross-linked collagen barrier membranes disintegrate following surgical exposure to the oral environment: a histological study in the cat. 19, 2008, 760-766.