



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES,
UNIDAD LEÓN**

**“EFECTOS DE UN BIOPOLÍMERO ENRIQUECIDO CON
ÓXIDO DE GRAFENO EN CULTIVO CON hDPSC:
CITOTOXICIDAD Y PROLIFERACIÓN CELULAR”**

**FORMA DE TITULACIÓN:
ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN ODONTOLOGÍA**

**P R E S E N T A:
MAGDALENA VEGA QUIROZ**

**TUTOR: DR. RENÉ GARCÍA CONTRERAS
ASESOR: MTRA. CHRISTIAN ANDREA LÓPEZ AYUSO**



LEÓN, GTO., 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.

ÍNDICE

Agradecimientos.....	3
Dedicatoria	4
Lista de abreviaturas	6
Resumen.....	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Capítulo 1	11
Marco teórico.....	12
Antecedentes	22
Capítulo 2	24
Planteamiento del problema	25
Pregunta de investigación	26
Hipótesis de investigación	26
Justificación.....	27
Objetivos	28
Objetivo general.....	28
Objetivos específicos	28
Capítulo 3	29
Metodología	30
Materiales y métodos	33
Desarrollo de la metodología.....	35
Capítulo 4	41
Resultados	42
Discusión.....	44
Conclusión	45
Referencias	46
Anexos	53

Agradecimientos

A mi alma mater, la Universidad Nacional Autónoma de México, Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, por brindarme la oportunidad de formar parte de la máxima casa de estudios del país. Procuraré poner siempre en alto su nombre.

Al Dr. René García Contreras, por incursionarme en el mundo de las ciencias básicas e investigación, por confiar en mí y permitirme trabajar en este proyecto. Nada de esto habría sido posible sin usted.

A la Dra. Christian Andrea López Ayuso, porque desde el día uno se convirtió en la mejor maestra que pude tener. Por la paciencia, el apoyo, por el conocimiento que me brindó, por darme ánimos cuando sentía que no avanzaba, por ser mi mentora y jamás dudar de mi potencial. Siempre estaré agradecida de haber coincidido con usted.

Al Dr. Benjamín Aranda Herrera, por su apoyo incondicional, paciencia y consejos durante todo este tiempo.

Dedicatoria

A mi mamá, gracias porque todo esto te lo debo a ti, por ser mi mayor pilar, mi fuente de amor incondicional, por creer en mí siempre, gracias por darme todo para verme cumplir mi sueño, por jamás dudar en darme todo lo necesario e incluso más, por escucharme hablar de los mismos temas una y otra vez, por recibirme cada fin de semana con un abrazo y una sonrisa, por el sacrificio que haces día tras día para sacarnos adelante. Las palabras no me alcanzan para agradecer por tanto, eres mi mayor ejemplo, te amo y te admiro.

A mi papá, que, aunque la vida no te alcanzó para acompañarme hoy, sé que desde donde sea que estés me cuidas y te sientes orgulloso. Un día te prometí que sería tu “doctora” y por fin lo estoy cumpliendo. Gracias por hacerte presente en cada atardecer, porque los días en que me sentí incapaz o perdida, solo necesitaba voltear al cielo para sentir paz. Tu frase de “mil soluciones a un problema, y no mil problemas a una solución” me acompañó en esos momentos de incertidumbre. Te amo y te extraño cada día.

A mi hermana, Ximena. Tú has sido el motor de mi vida, por quien trato de ser mejor persona cada día, gracias por acompañarme en el proceso, por ser mi mejor amiga, mi confidente, por jamás dejarme sola, por ayudarme en innumerables ocasiones con mis tareas o trabajos y por ser mi paciente siempre que necesité. Ojalá algún día pueda ser siquiera la mitad de valiente de lo que tú eres. Has sido mi inspiración y quien le da luz a mis días más oscuros.

A Agustín Reyes, mi mejor amigo y alma gemela. Gran parte de lo que soy y he logrado, es por ti. Definitivamente eres lo mejor que la universidad me dio; te convertiste en mi hermano, la persona que me enseñó que: si podemos soñarlo, podemos lograrlo. Gracias por ser la mejor pareja de clínica, mi pañuelo de lágrimas, por escucharme siempre que lo necesité, por las risas, el apoyo, tus abrazos reconfortantes, las noches de fiesta, los viajes y los recorridos por todos los hospitales. Te llevo siempre en mi corazón.

A Xcaret Santana y Jesús Álvarez, gracias por enseñarme el significado de la verdadera amistad, por ser tan incondicionales y jamás dejarme sola. Cada día agradezco tenerlos en mi vida y crecer a su lado.

A Marlen González, coincidir contigo ha sido una de las cosas más bonitas, te convertiste en mi hermana por elección. Tu amistad me ha impulsado a crecer y ser mejor persona.

A mis amigos, gracias por hacer de la universidad un lugar increíble, por los viajes, los consejos, las tardes en clínica y la compañía en los buenos y malos momentos.

A mi familia, porque jamás dudaron en apoyarme, por asegurarse de que jamás me faltara nada, incluso si eso implicaba llevarme pacientes cada semana a la universidad.

A Wintilo Vega y Cecy Valerio, por siempre hacerse presentes y ser uno de mis mayores apoyos. Nunca terminaré de agradecerles por la confianza que depositaron en mí.

A mis profesores, gracias por todos los aprendizajes brindados y ser la base de la persona que hoy soy. Especialmente gracias al Dr. Abraham Mendoza, Dra. Karla Aguirre, Dra. Andreina Jordan, Dr. Rogelio Danovan, Dr. Federico Morales y Dr. Luis Dugarte, por contagiarme su amor por la odontología, conocimientos, experiencias y por motivarme a ser mejor persona y profesionalista.

A mis pacientes, gracias por confiar su salud en mis manos, por contribuir a mi aprendizaje y formación.

A quien estuvo en el proceso, pero la vida nos llevó por caminos distintos, gracias por hacerme crecer como persona, por las palabras de aliento en los días de frustración, por la compañía, el apoyo, el amor incondicional y por recordarme lo capaz que era cada vez que lo olvidé; siempre te estaré agradecida.

Lista de abreviaturas

-α-

α-MEM: Medio Mínimo Esencial Alfa (del inglés: *Alpha Minimum Essential Medium*)

-μ-

μL: Microlitro

μm: Micrómetro

-C-

CM: Célula madre

CMM: Célula madre mesenquimal

CO₂: Dióxido de carbono

-E-

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

-G-

g: Gramo

-H-

hDPSC: Células troncales pulpares dentales humanas (del inglés: *Human Dental Pulp Stem Cells*)

-L-

LOT: Lote

-M-

mg: Miligramo

mL: Mililitro

mm: Milímetro

-N-

Nm: Nanómetro

-O-

ÓG: Óxido de grafeno

-P-

pH: Potencial de hidrógeno

PBS: Solución buffer de fosfatos (del inglés: *phosphate buffered saline solution*)

PMMA: Polimetilmetacrilato

-R-

RPM: Revoluciones por minuto

-S-

SFB: Suero fetal bovino

Resumen

Introducción: La reconstrucción de defectos maxilofaciales ha sido de interés en las ciencias odontológicas; las cuales se han enfocado en generar materiales que permitan la migración, proliferación y diferenciación celular para reparar defectos; por ello, se ha implementado el óxido de grafeno (OG) cuya nanoestructura facilita su incorporación a polímeros como el polimetilmetacrilato (PMMA) mejorando su biocompatibilidad.

Objetivo: Evaluar la citotoxicidad y proliferación celular de células troncales pulpares dentales humanas (hDPSC) en respuesta a un polímero enriquecido con óxido de grafeno.

Metodología: Se realizaron experimentos en subcultivos de hDPSC a partir de cultivos primarios previamente caracterizados, con contacto directo e indirecto de polímero enriquecido con óxido de grafeno y polímero convencional (sin óxido de grafeno). La citotoxicidad se evaluó con un bioensayo de MTT a 24 h, para evaluar la proliferación celular a 72 horas, 7 días y 15 días. Se realizó estadística descriptiva (promedio y d.e.) e inferencial (ANOVA).

Resultados y discusión: Para el grupo de polímero convencional en contacto directo se identificó una viabilidad celular (%) de 90.8 ± 6.2 a 24 h, 99.9 ± 7.0 a 72 h, 120.2 ± 14.6 a 7 días y 102.9 ± 17.3 a 14 días; en contacto indirecto: 77.2 ± 8.4 a 24 h, 64.8 ± 21.6 a 72 h, 91.4 ± 16.5 a 7 días y 63 ± 15.8 a 14 días. El grupo de polímero enriquecido con óxido de grafeno en contacto directo: 149.6 ± 14.5 a 24 h, 95.7 ± 6.1 a 72 h, 172.9 ± 16.2 a 7 días y 95.4 ± 22.8 a 14 días; en contacto indirecto: 99 ± 21.4 a 24 h, 67.0 ± 9.6 a 72 h, 142 ± 18.7 a 7 días y 79.1 ± 3.1 a 14 días. Estudios recientes, como García-Contreras *et al.*, 2021 y Jang *et al.*, 2021, mostraron un aumento significativo en la estimulación y proliferación celular en contacto con óxido de grafeno (OG). Scarano *et al.*, 2021 también informaron mejor osteointegración con implantes de polímero enriquecido con óxido de grafeno.

Conclusiones: El polímero enriquecido con óxido de grafeno estimula la proliferación celular al evidenciar mayor confluencia celular siendo evaluadas mediante ensayo de MTT en comparación con el polímero convencional.

Palabras clave: hDPSC, citotoxicidad, proliferación, polímero, grafeno.

Abstract

Introduction: The reconstruction of maxillofacial defects has been of interest in dental sciences; which have focused on generating materials that allow migration, proliferation and cell differentiation to repair defects; therefore, graphene oxide (GO) has been implemented whose nanostructure facilitates its incorporation into polymers such as polymethylmethacrylate (PMMA) improving its biocompatibility.

Objective: To evaluate cytotoxicity and cell proliferation in pulp stem cells (hDPSC) in response to a polymer enriched with graphene oxide.

Methodology: Experiments were carried out on hDPSC subcultures from previously characterized primary cultures, with direct and indirect contact of polymer enriched with graphene oxide and conventional polymer (without graphene oxide). Cytotoxicity was evaluated with an MTT bioassay at 24 h, to evaluate cell proliferation at 72 hours, 7 days and 15 days. Descriptive statistics (average and STD) and inferential (ANOVA) were performed.

Results and discussion: For the group of conventional polymers in direct contact, a cell viability (%) of 90.8 ± 6.2 at 24 h, 99.9 ± 7.0 at 72 h, 120.2 ± 14.6 at 7 days and 102.9 ± 17.3 at 14 days was identified; in indirect contact 77.2 ± 8.4 at 24 h, 64.8 ± 21.6 at 72 h, 91.4 ± 16.5 at 7 days and 63 ± 15.8 at 14 days. The polymer enriched with graphene oxide group in direct contact: 149.6 ± 14.5 at 24 h, 95.7 ± 6.1 at 72 h, 172.9 ± 16.2 at 7 days and 95.4 ± 22.8 at 14 days; in indirect contact 99 ± 21.4 at 24 h, 67.0 ± 9.6 at 72 h, 142 ± 18.7 at 7 days and 79.1 ± 3.1 at 14 days. Recent studies, such as Garcia-Contreras *et al.*, 2021 and Jang *et al.*, 2021, showed a significant increase in cell stimulation and proliferation in contact with graphene oxide (GO). Scarano *et al.*, 2021 also reported better osseointegration with polymer enriched with graphene oxide implants.

Conclusions: Polymer enriched with graphene oxide stimulates cell proliferation by showing greater cell confluence being evaluated by MTT assay compared to conventional polymer.

Keywords: hDPSC, cytotoxicity, proliferation, polymer, graphene.

Introducción

Actualmente, uno de los mayores retos de la odontología, así como de la medicina, es la reconstrucción de defectos maxilofaciales (Peñón *et al.*, 2011); por lo que las ciencias odontológicas se han enfocado en encontrar materiales restauradores, que sean lo más altamente biocompatibles y permitan a las células migrar, proliferar y diferenciarse para poder reparar defectos en los tejidos (Leyendecker *et al.*, 2018); esto debido al incremento en la demanda de colocación de injertos, implantes, regeneraciones óseas o tisulares para lograr rehabilitaciones funcionales y estéticas. A partir de ello, se ha comenzado a implementar el uso del óxido de grafeno.

El grafeno, un derivado del grafito, se caracteriza por presentar una estructura hexagonal cristalina basada en átomos de carbono, y al compararlo con otras nanoestructuras de carbono, presenta mejor grado de biocompatibilidad debido a sus características superficiales.

Existen dos derivados que surgen a partir del grafeno:

- 1) Óxido de grafeno: se obtiene por oxidación de grafito.
- 2) Grafeno reducido: puede sintetizarse mediante la reducción de óxido de grafeno.

El grafeno y sus derivados tienen amplias aplicaciones en la ciencia y la tecnología debido a sus propiedades fisicoquímicas como: conductividad eléctrica, transparencia, biocompatibilidad, rigidez, resistencia mecánica.

Entre los principales usos del grafeno destacan: terapia y localización de lesiones cancerígenas, ingeniería tisular, biosensores, administración de fármacos, entre otros. Tiene una alta biocompatibilidad, posibilidad de interacción con células troncales, y actividad antibacteriana (Rodríguez *et al.*, 2020).

El polimetilmetacrilato (PMMA) es un polímero incoloro con alta transmitancia de luz y químicos, intemperismo y propiedades de resistencia a la corrosión, baja densidad, estética, bajo costo, fácil manipulación, entre otras (Kausar, 2019; Zafar, 2020). La incorporación de partículas de óxido de grafeno en compuestos de polimetilmetacrilato, sugieren una menor higroscopia, mayor estabilidad dimensional, de color, menor proliferación bacteriana e inducción a proliferación celular en contacto con células troncales pulpares.

El polímero enriquecido con óxido de grafeno añadido al PMMA en odontología beneficia la regeneración de tejidos, reduciendo tiempos, costos y procedimientos quirúrgicos. Esta investigación evaluó la citotoxicidad y proliferación de células troncales pulpares dentales humanas (hDPSC) en respuesta al polímero.

CAPÍTULO 1

Marco teórico

1. Ingeniería tisular

En 1987 Fung acuñó el concepto de “ingeniería tisular”. La ingeniería tisular es un campo multidisciplinar basado en la combinación de células y/o proteínas con biomateriales para generar estructuras biológicas que permitan mejorar, restaurar o mantener la función de un tejido no funcional o que se encuentra afectado (Rodríguez *et al.*, 2020; Orive *et al.*, 2003; Escorcía *et al.*, 2020). La concepción de esta idea se originó mediante la integración de conocimientos provenientes de diversas disciplinas, tales como la bioquímica, la biología celular y molecular, que posteriormente se aplicaron en la ingeniería para el desarrollo de nuevos tejidos (Falke *et al.*, 2000).

Los tres fundamentos principales de la ingeniería tisular se representan en la figura 1: (Rosales *et al.*, 2020).

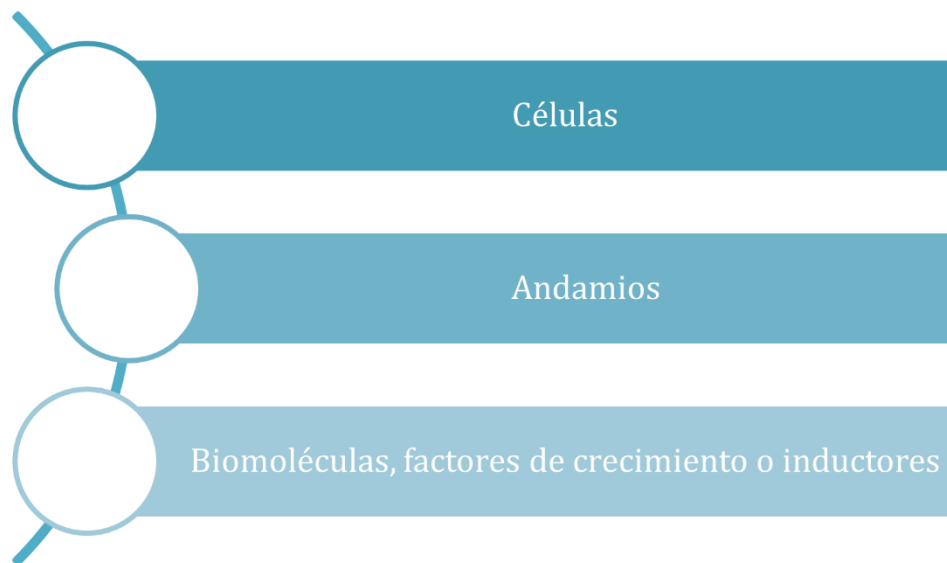


Figura 1. Tres fundamentos de la ingeniería tisular. **Fuente:** Propia

El desarrollo de esta tecnología ha contribuido significativamente a la implementación de la ingeniería tisular para su uso en medicina y odontología. El PMMA es considerado un andamio sintético polimérico (Curbelo *et al.*, 2020).

2. Polimetilmetacrilato

El polimetilmetacrilato (PMMA) es reconocido como uno de los polímeros más prominentes dentro de la familia de los metacrilatos, siendo producido mediante la polimerización en cadena del metacrilato de metilo. Debido a su fácil manipulación,

estética, bajo costo, procesabilidad, versatilidad para dar forma, baja densidad, estabilidad y durabilidad, se ha constituido como el principal material en la elaboración de prótesis, restauraciones provisionales, férulas, aparatos ortopédicos, obturadores, coronas provisionales, entre otros (Parra-Castañeda *et al.*, 2018; Díez-Pascual *et al.*, 2022).

Los materiales elaborados con este polímero se obtienen a base de dos componentes físicos: el monómero líquido (metacrilato de metilo), el cual, al mezclarse con el polímero, cuya presentación es en polvo (polimetilmetacrilato), da como resultado el polimetilmetacrilato.

Debido a sus propiedades físicas de absorción y liberación de agua, este material presenta baja estabilidad dimensional, por lo cual el material sufre de tensiones internas que a su vez generan grietas que pueden ocasionar fracturas. Es por ello que la sorción y solubilidad del PMMA debe ser lo más baja posible (Parra-Castañeda *et al.*, 2018).

El campo de la nanotecnología ha tenido avances significativos debido a las interacciones establecidas entre los nanomateriales y los polímeros. Los nanocompuestos poliméricos fueron los productos de esta interacción, ya que evidenciaban una mejora significativa en las propiedades de los materiales con la incorporación de nanopartículas. Entre estas propiedades destacan la resistencia a la flexión, solubilidad, conductividad eléctrica, propiedades ópticas, estabilidad térmica, así como propiedades biológicas del material (Ali *et al.*, 2015).

3. Óxido de grafeno

Los nanomateriales como el grafeno se obtienen a través de diferentes elementos o compuestos químicos. Uno de los principales elementos que han sido estudiados, es el carbono (Medrano *et al.*, 2012). El carbono presenta una variedad de formas alotrópicas, entre las que se incluyen estructuras tridimensionales como lo son el diamante y el grafito, estructuras bidimensionales tales como el grafeno, estructuras monodimensionales como los nanotubos y cero dimensionales como los fullerenos (Rodríguez- González *et al.*, 2008).

El óxido de grafeno (OG) es la forma oxidada de grafeno obtenido a partir de la oxidación del grafito, se compone principalmente de átomos de carbono (C), oxígeno (O) e hidrógeno (H) (Lunavictoria, 2020).

Existen diferentes métodos utilizados en la síntesis de OG: exfoliación mecánica, que consiste en romper las interacciones entre cada capa de grafeno; deposición química de vapor, una descomposición catalítica de hidrocarburos en la superficie de un mecanismo catalizador; y el método Hummer, que es un método

químico donde el grafito se oxida con concentrado ácido sulfúrico y otros oxidantes como el potasio permanganato (KMnO₄) (Cepeda *et al.*, 2017).

En cuanto a los aspectos físicos, químicos y mecánicos, las propiedades del OG, este es un rígido, casi transparente material que resiste grandes fuerzas y presenta elasticidad, conductividad térmica, impermeabilidad, conductividad, biocompatibilidad y resistencia mecánica (García-Contreras *et al.*, 2021).

4. Ciclo celular

El ciclo celular se define como un proceso coordinado y ordenado mediante el cual las células eucariotas pasan por diferentes procesos para llevar a cabo la obtención de dos células hijas. Dichos procesos tienen como finalidad el crecimiento, duplicación del material genético y la división celular (Cruz *et al.*, 2014).

El proceso de ciclo celular se divide para su estudio en dos etapas principales: interfase y fase M (división). La interfase abarca la mayor parte del ciclo, ya que ocurren diversos procesos celulares y bioquímicos; esta a su vez se divide en tres fases: G1 (fase de crecimiento 1), S (se realiza la síntesis de ADN, duplicación de material genético de la célula) y G2 (fase de crecimiento 2) (Fragoso *et al.*, 2004).

Interfase

Fase G1: También conocida como fase de crecimiento 1, se caracteriza por la presencia de intensa actividad bioquímica; se lleva a cabo la síntesis de proteínas, se incrementa el material enzimático, se replican los organelos y diversas moléculas, logrando en consecuencia el aumento del tamaño de la célula y prepararla para la posterior duplicación del ADN (Díaz *et al.*, 2003).

Fase S: Es en esta fase donde se da lugar a la duplicación del ADN nuclear. Durante este proceso cada cromosoma duplica su material genético, generando así dos cromátides hermanas; las cuales se unen por un centrómero y cohesinas (anillo de proteínas). El objetivo principal de esta fase es duplicar el material genético conservando el mismo número de cromosomas (Vidales *et al.*, 1993).

Fase G2: Durante la fase G2 o de crecimiento 2, la célula exhibe una notable actividad metabólica. En esta etapa se verifica que la síntesis de ADN se haya realizado en su totalidad. La célula experimenta un crecimiento continuo; el cual es fundamental para que ocurra la división del núcleo. Esta fase también es crucial para garantizar que la célula se encuentre en condiciones óptimas para proceder a la fase de mitosis (Muñetón, 2006).

Mitosis

Profase: La profase tiene lugar en la transición de la interfase al proceso de mitosis. Es en esta fase donde la cromatina logra condensarse para formar cromosomas, los cuales no se encuentran aún alineados al centro de la célula, asimismo se forma el huso mitótico y el nucleolo ya no es visible (Segura-Valdez, 2008).

Prometafase: Es en esta etapa donde los cromosomas se condensan aún más y se compactan; los microtúbulos del huso mitótico se unen a los cromosomas condensados por medio de las estructuras proteicas de los centrómeros de los cromosomas (cinetocoros) y comienzan a alinearse hacia el centro de la célula (Rodríguez-Gómez *et al.*, 2014).

Metafase: Durante la metafase los cromosomas se alinean en el plano ecuatorial de la célula, esto debido a las fuerzas ejercidas de manera opuesta sobre los cromosomas a través de los microtúbulos del huso mitótico. Su principal objetivo es la correcta segregación de cromosomas y la distribución del material genético para la posterior división (Varetti *et al.*, 2008).

Anafase: Se considera una de las fases cruciales en el proceso del ciclo celular, ya que los cromosomas que han sido duplicados se separan, moviéndose hacia los polos opuestos de la célula, lo que garantiza que cada célula hija contenga una copia exacta del material genético. Esto provoca una elongación de la célula (Scholey *et al.*, 2016).

Telofase: Fase que se caracteriza por la reorganización de la envoltura nuclear, los cromosomas que fueron previamente condensados comienzan a descondensarse para extenderse dando lugar a su completa separación, así como la citocinesis, que es la división del citoplasma celular (Lomanto *et al.*, 2003).

5. Células troncales

Las células troncales, también conocidas como células madre, son una línea celular dentro de un organismo con potencial de autorrenovación y capacidad de diferenciación en uno o varios tejidos. Estas células desempeñan funciones cruciales en diversas etapas del desarrollo embrionario. La capacidad de autorrenovación que poseen les permite mantener una población estable de células madre a lo largo de tiempo y asegurar la disponibilidad continua en el organismo; mientras que su capacidad de diferenciación les permite generar células especializadas que componen los tejidos y órganos del cuerpo, de esta forma contribuyen al desarrollo, mantenimiento de la estructura y función de los órganos y tejidos (Bernal *et al.*, 2020).

Las células mencionadas se han recolectado de varias fuentes, que incluyen la médula ósea, tejido adiposo (específicamente de la bolsa de grasa de Bichat), el cordón umbilical, así como de diversos tejidos de la cavidad oral, como la pulpa dental, el ligamento periodontal, la papila dental, los dientes deciduos exfoliados humanos y el epitelio gingival (Bernal *et al.*, 2020).

Según su origen las células madre pueden clasificarse en:

Células Madre Embrionarias (CME): Las células madre embrionarias se encuentran en etapas muy tempranas del desarrollo embrionario. Se caracterizan por su potencial para diferenciarse en cualquier tipo de célula del cuerpo humano; esta característica las convierte en una fuente invaluable para la regeneración de tejidos y terapia celular. Su obtención se puede dar a partir de (Arias *et al.*, 2009):

- Embriones no utilizados de fecundación *in vitro*.
- Embriones creados a partir de células somáticas (células no germinales).
- Líneas existentes de CME (a partir de cultivos celulares).

Células Madre Adultas (CMA):

Las células madre adultas, también conocidas como órgano-específicas, son un tipo de células madre que se encuentran en tejidos específicos del cuerpo luego del nacimiento y durante la vida. Una de sus características principales es que su capacidad para diferenciarse se encuentra limitada, teniendo como principal objetivo el mantener y reparar los tejidos donde se encuentran. Su obtención se puede dar por medio de la médula ósea, tejido adiposo, piel, hueso trabecular, ligamento periodontal, entre otros (Mata-Miranda *et al.*, 2013).

Según su capacidad para diferenciarse en distintos tipos celulares las CM se clasifican en:

Totipotenciales: Se definen como células especializadas, capaces de diferenciarse en todos los tipos celulares del cuerpo humano. Sus características les permiten formar tejido embrionario y extraembrionario (trofoblasto de la placenta). Es posible encontrarlas en el cigoto y sus primeras dos divisiones (Prosper *et al.*, 2003).

Pluripotenciales: Estas células tienen la capacidad de especializarse en los tres tipos de tejidos: endodermo, mesodermo y ectodermo; pero no poseen la capacidad de generar tejido extraembrionario (Orta *et al.*, 2011).

Multipotenciales: Son un tipo de CM cuyo potencial de diferenciación se encuentra restringido, pues solo pueden diferenciarse hacia un cierto linaje

celular. Desempeñan un papel fundamental en relación con la regeneración y mantenimiento de los tejidos adultos; contribuyen a la homeostasis corporal (Valero *et al.*, 2010).

Unipotenciales: A diferencia de las células totipotenciales o pluripotenciales, este tipo de células solo es capaz de diferenciarse en un solo tipo celular específico (células altamente especializadas). Un ejemplo de estas son las células madre germinales (Quesada *et al.*, 2017).

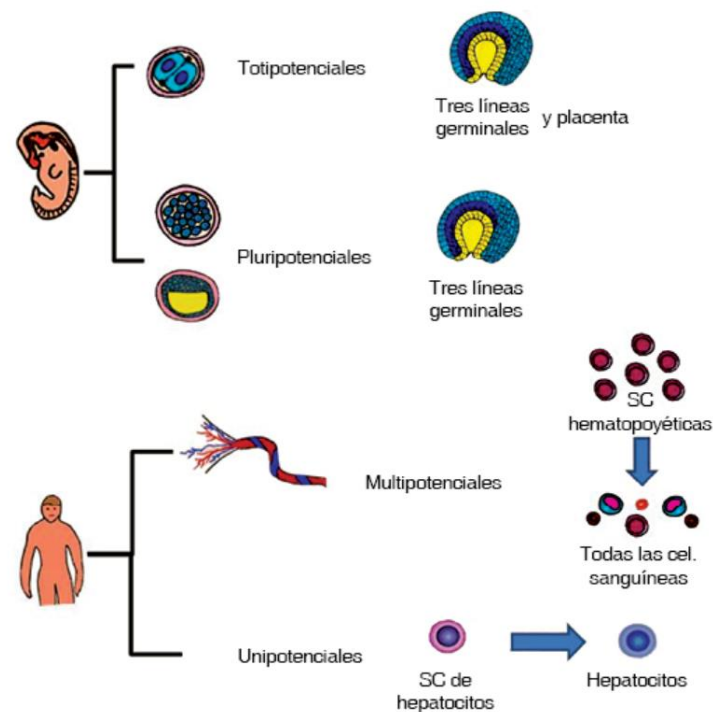


Figura 2. Esquema Clasificación de las células madre por su origen y por su potencial de diferenciación. **Fuente:** Alison *et al.*, 2009.

6. Células Madre Mesenquimales

Las células madre mesenquimales (CMM), también denominadas células madre estromales, representan un tipo de células madre multipotentes que muestran una morfología similar a la de los fibroblastos. Poseen plasticidad para diferenciarse en diversos tipos celulares, entre los que destacan células óseas, musculares, adiposas, cartilagosas, etc. Pueden ser aisladas de la médula ósea, el cordón umbilical, tejido adiposo, hígado, ligamento periodontal, pulpa dental, entre otros; y proliferadas mediante técnicas de cultivo *in vitro* (Pardo, 2005; Romero *et al.*, 2007; Socarrás-Ferrer *et al.*, 2013; Garcia-Contreras *et al.*, 2017; Guadix *et al.*, 2017).

7. Células Troncales Pulpaes Dentales Humanas (hDPSC)

También conocidas como células madre pulpaes dentales o por sus siglas en inglés hDPSC (Human Dental Pulp Stem Cells) son células multipotentes y tienen la capacidad de diferenciarse en diversos linajes celulares y autorrenovarse; por su fácil obtención son uno de los tipos de células troncales más estudiados, pues es posible aislarlas a partir de terceros molares y/o dientes supernumerarios, así como dientes permanentes y primarios; si estas se aíslan durante la formación de la corona, tienden a tener un mayor potencial proliferativo.

Suelen tener una morfología fibroblastoide, sin embargo, esta puede variar dependiendo de las condiciones del cultivo celular (Jucht *et al.*, 2014; Rendón *et al.*, 2011; Sánchez-Gómez *et al.*, 2022).

8. Aislamiento y cultivo de hDPSC

El cultivo celular se define como el conjunto de técnicas utilizadas para el crecimiento y mantenimiento de células bajo un entorno controlado en laboratorio (*in vitro*), conservando de esta forma sus propiedades genéticas, fisiológicas y bioquímicas. Las aplicaciones de estos cultivos varía desde la investigación de biología celular, molecular, ingeniería de tejidos, entre otros (García-Contreras *et al.*, 2017; Merino *et al.*, 2015).

Para lograr el aislamiento y cultivo de las hDPSC debe extraerse el tejido pulpar de los dientes, el cual es sometido a procesos de fragmentación y enzimáticos. Una vez obtenidas las células madre, deben ser cultivadas en platos con un medio de cultivo suplementado; el cual aporta los factores de crecimiento y nutrientes necesarios. Durante este periodo las células logran proliferar y es posible mantenerlas en un estado indiferenciado o bien, inducir su diferenciación. Los cultivos de hDPSC, son sin duda de gran importancia para la ciencia, pues nos permite estudiar su comportamiento, su potencial uso en terapias regenerativas, ingeniería tisular, respuesta ante agentes infecciosos etc. (Morales-Sánchez *et al.*, 2019; Santiago *et al.*, 2014).

Algunas de las características principales que debe tener un cultivo celular se describen en la siguiente figura:

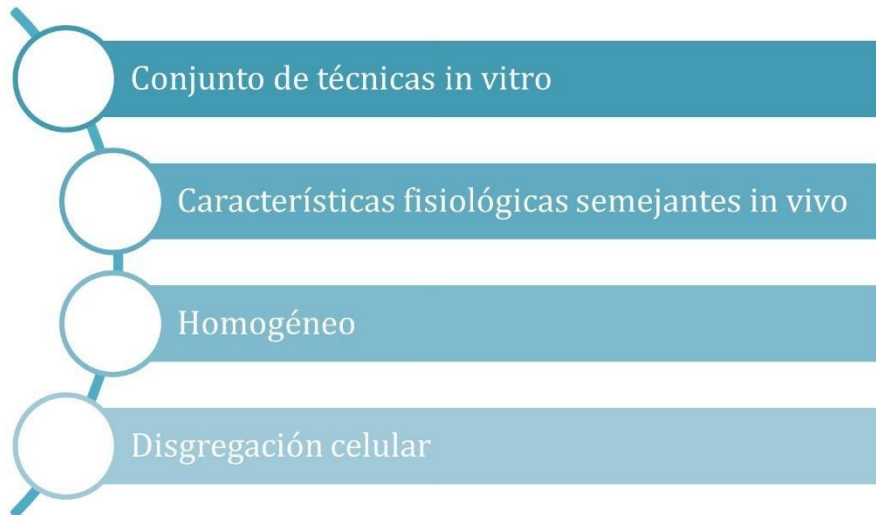


Figura 3. Aislamiento y cultivo celular. Características. **Fuente:** Propia

9. Caracterización hDPSC

Las células troncales pulpares dentales humanas fueron aisladas por primera vez en el año 2000. Presentan una morfología celular similar a los fibroblastos humanos cuando se encuentran en MEM. Para su caracterización inmunofenotípica se lleva a cabo un análisis de marcadores de superficie, donde se obtuvieron los siguientes resultados (Gotta *et al.*, 2021; Lei *et al.*, 2021):

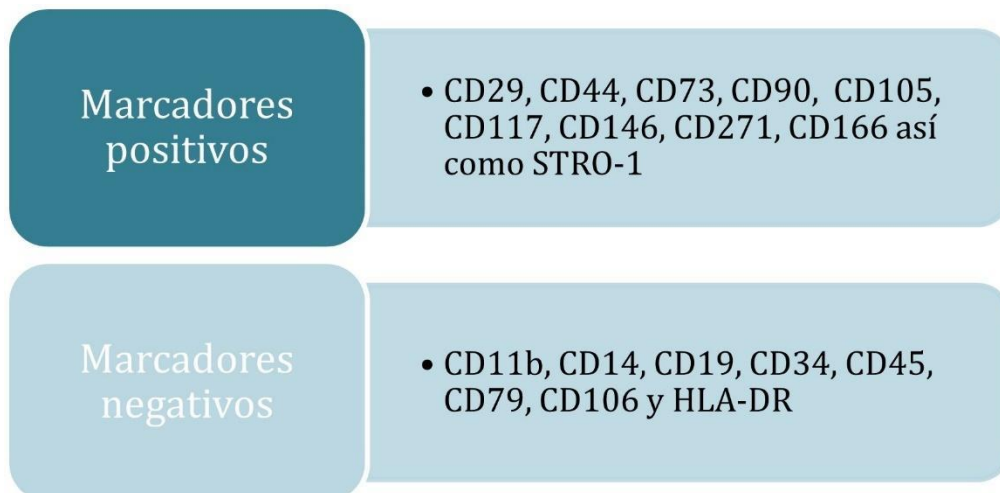


Figura 4. Caracterización hDPSC. **Fuente:** Propia

10. Proliferación celular

El término de proliferación celular hace referencia al proceso mediante el cual las células logran multiplicarse y reproducirse para aumentar su número; lo cual es de vital importancia para el crecimiento, desarrollo, regeneración y reparación de tejidos. Frecuentemente, se emplean ensayos para evaluar la proliferación, viabilidad y citotoxicidad de las células en cultivo para controlar su respuesta y la salud de éstas tras ser sometidas a diversos estímulos. Existen diversos medios de cultivo que propician el mantenimiento celular *in vitro* (Zhu *et al.*, 2019).

Para llevar a cabo la medición de la proliferación celular existen diversos métodos utilizados en laboratorio, entre los que destacan:

Conteo celular: Se realiza mediante el desprendimiento de células. Consiste en el recuento manual de la cantidad de células presentes de una muestra en un momento determinado; para ello se hace uso del microscopio y un hematocitómetro (cámara de Neubauer) o un contador celular automatizado (Yadav *et al.*, 2014).

Ensayos de proliferación celular basados en la actividad metabólica: Se evalúa mediante la reducción metabólica del reactivo MTT (bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio). Este proceso se lleva a cabo por la enzima mitocondrial presente en la célula (succinato-deshidrogenasa), lo que permite registrar la actividad y función de las mitocondrias (Riss *et al.*, 2016).

11. Citotoxicidad

Se define como citotoxicidad celular a la capacidad que posee un agente (químico, físico, biológico, ambiental) o sustancia para alterar las funciones básicas de la célula y/o producir muerte celular. Es de suma importancia en diversos campos de la ciencia, como la toxicología, farmacéutica, desarrollo de nuevos materiales, cosméticos, entre otros.

Para su estudio existen ensayos específicos que han sido diseñados para evaluar parámetros como la viabilidad y proliferación celular al ser expuestas ante sustancias. Uno de los ensayos más utilizados es el de MTT (Gallegos-Hernández, 2018).

Entre los principales objetivos de los ensayos de citotoxicidad, destacan:

- Evaluar posibles efectos adversos de productos/sustancias.
- Comprender los mecanismos de citotoxicidad.
- Identificar posibles riesgos a la salud.
- Facilitar el desarrollo de tratamientos más efectivos y seguros.

12. Ensayo MTT

El ensayo de MTT (bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio) es el ensayo más comúnmente utilizado para evaluar la citotoxicidad. Se basa en la capacidad celular de reducir el MTT, el cual es un colorante de tetrazolio que finalmente se reduce a un precipitado color azul/púrpura (cristales de formazán) debido a la acción de la enzima mitocondrial (succinato deshidrogenasa) de las células vivas; de esta forma la cantidad producida de formazán está correlacionada con la viabilidad celular de la muestra.

El procedimiento a seguir para llevar a cabo el ensayo de MTT consiste en el cultivo celular, la adición de MTT durante 4 h en concentración de 0,2 mg/mL disuelto en medio suplementado, transcurridas esas horas se observa bajo el microscopio la formación de cristales de formazán, los cuales deben ser disueltos con dimetilsulfóxido (DMSO). Finalmente, la cantidad de células viables se registra mediante una lectura de absorbancia (densidad óptica) a 570 nm a través de un espectrofotómetro (Gallegos-Hernández, 2018).

Este ensayo es ampliamente utilizado por su simplicidad, sensibilidad y fácil reproducibilidad.

Antecedentes

En el año 2004, Andre K. Geim y Konstantin S. Novoselov lograron el descubrimiento y aislamiento del grafeno por primera vez en el Instituto de Materia Condensada en la Universidad Mánchester, Inglaterra. Este evento significativo se alcanzó utilizando una técnica simple: colocaron un trozo de cinta adhesiva sobre la superficie de un material de grafito y luego lo retiraron, logrando extraer cristales de grafeno con un espesor de solo una monocapa (Villalón, 2016). En 2010, André Geim y Konstantin Novoselov recibieron el Premio Nobel de Física por sus experimentos pioneros con el grafeno, un material notable por ser bidimensional. A partir de este acontecimiento se generó un creciente interés en la comunidad científica hacia el grafeno y sus posibles aplicaciones (Valencia, 2011).

En 2010, Goncalves *et al.*, llevaron a cabo la modificación del polimetilmetacrilato (PMMA) adicionándolo con óxido de grafeno como relleno. Para llevar a cabo este procedimiento, funcionalizaron la superficie del OG. Tras realizar el estudio observaron que la incorporación del OG en una concentración del 1% en peso resulta efectiva para mejorar la dureza del PMMA. Además, concluyeron que esta modificación proporciona un material con mayor ductilidad y estabilidad térmica (Chávez-Palacios, 2022).

Fue en 2015 cuando Ghosh *et al.*, introdujeron una monocapa de grafeno puro al polimetilmetacrilato y llevaron a cabo estudios para evaluar sus propiedades de resistencia flexural, conducción eléctrica y térmica. Su estudio evidenció un aumento en la estabilidad térmica, eléctrica y un notable incremento de la resistencia flexural (Ghosh *et al.*, 2015).

En un estudio realizado por Garcia-Contreras *et al.*, 2020, se evaluó la capacidad del óxido de grafeno para potenciar la proliferación y regeneración celular, así como su biocompatibilidad, las propiedades físico-químicas del material (PMMA modificado con OG) también fueron evaluadas. Los hallazgos sugieren que tanto el PMMA modificado con OG como el OG (aislado) presentan una aceptable biocompatibilidad. Además, se observó que la incorporación del OG estimula la proliferación y regeneración celular, y a su vez contribuye a potencializar las propiedades físicas y mecánicas del polimetilmetacrilato (Garcia-Contreras *et al.*, 2020).

En los últimos años, se ha propuesto el uso de nanorellenos para potenciar las propiedades físico-químicas y biológicas del polimetilmetacrilato (Ali *et al.*, 2021).

La incorporación de nanopartículas de alúmina (Al_2O_3) en PMMA fue estudiada en 2013 por Asar *et al.*, reportando mejoras en la flexión, resistencia y dureza de la superficie (Asar *et al.*, 2013).

Argueta-Figueroa *et al.*, 2018 llevaron a cabo la incorporación de nanopartículas de cobre en PMMA exhibiendo inhibición de crecimiento bacteriano y una citotoxicidad dosis-dependiente donde esta incrementa en función del tiempo de exposición (Argueta-Figueroa *et al.*, 2018).

Nanopartículas de plata han sido incorporadas en PMMA, demostrando que logra tener un efecto antifúngico y no citotóxico en contacto con fibroblastos gingivales humanos. (Acosta-Torres *et al.*, 2021).

CAPÍTULO 2

Planteamiento del problema

El polimetilmetacrilato (PMMA) es un material polimérico comúnmente utilizado en diversas áreas de la odontología, entre sus principales usos destacan la confección de prótesis provisionales y definitivas, restauraciones provisionales, botones para crear perfiles de emergencia, elaboración de férulas, aparatos ortopédicos, obturadores, entre otros (Parra-Castañeda *et al.*, 2018).

Este material es ampliamente utilizado debido a su fácil manipulación, estética, adaptabilidad, durabilidad y bajo costo; sin embargo, presenta ciertas desventajas desde el punto de vista de la ingeniería tisular, ya que es considerado un material bioinerte, incapaz de promover regeneración tisular, que por sus propiedades puede ocasionar irritación generando así inflamación en los tejidos circundantes, lo cual dificulta el proceso de cicatrización posterior a procedimientos quirúrgicos o en tejidos donde se pretende lograr regeneración (Kausar, 2019).

La odontología contemporánea ha puesto un fuerte énfasis en la medicina regenerativa, destacándose como uno de sus principales campos de investigación. Este enfoque ofrece la prometedora posibilidad de impulsar la regeneración de diversos tejidos y estructuras, evitando la necesidad de intervenciones adicionales (Jarama *et al.*, 2018).

Es por ello que la aplicación de un biopolímero adicionado con óxido de grafeno representa una buena alternativa para lograr la regeneración de tejidos, por lo que se propone analizar mediante diversos estudios la capacidad de proliferación celular y citotoxicidad de dicho material.

Pregunta de investigación

¿El polímero enriquecido con óxido de grafeno propicia la proliferación celular sin causar citotoxicidad en contacto con células troncales pulpares dentales humanas (hDPSC)?

Hipótesis de investigación

El polímero adicionado con óxido de grafeno (OG) no es citotóxico con las células troncales dentales pulpares humanas (hDPSC) y logra estimular la proliferación celular en comparación al polímero convencional (sin óxido grafeno).

Justificación

En la actualidad, los biocomposites que se utilizan para llevar a cabo una regeneración tisular y ósea guiada, tienden a perder su capacidad para mantener el espacio necesario en ambientes húmedos. Esta pérdida de capacidad conduce a alteraciones tanto en la integridad de la membrana utilizada, como en la cantidad de tejido óseo que se forma.

Por esta razón, se considera de suma importancia sintetizar nuevos materiales que ofrezcan mejores propiedades biomecánicas, como la rigidez, la resistencia a la degradación y a la compresión, y que a su vez presente alta biocompatibilidad, favoreciendo así la adhesión celular y proteica, lo cual promueve la diferenciación celular y por ende, mejorar la eficacia de la regeneración tisular y ósea guiada (Bastida-Hernández, 2021).

La incorporación de partículas de óxido de grafeno en un biopolímero podría garantizar regeneración ósea y tisular, implicando un gran avance en áreas como la odontología restauradora e implantología.

Es por ello que con esta investigación se analizará las características biomecánicas que el polimetilmetacrilato adicionado con óxido de grafeno presenta con células troncales pulpaes (hDPSC).

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la citotoxicidad y proliferación celular de células troncales pulpares dentales humanas (hDPSC) en respuesta a un polímero enriquecido con óxido de grafeno.

Objetivos específicos

1. Obtener y caracterizar las muestras de polímero enriquecido con óxido de grafeno y polímero convencional.
2. Identificar la citotoxicidad en hDPSC luego de permanecer en contacto directo e indirecto durante 24 h con el polímero enriquecido con óxido de grafeno.
3. Identificar la proliferación celular en hDPSC luego de permanecer en contacto directo e indirecto durante 72 h, 7 días y 14 días con el polímero enriquecido con óxido de grafeno.

CAPÍTULO 3

Metodología

1. Modelo general del estudio:

Estudio cuantitativo.

2. Tipo de estudio:

Estudio experimental *in vitro*, prospectivo, comparativo.

3. Diseño de estudio:

Experimental puro.

4. Universo de estudio:

Subcultivos de células troncales pulpareas dentales humanas (hDPSC).

Óxido de grafeno (OG).

Polimetilmetacrilato (PMMA).

5. Método de muestreo:

No probabilístico por cuotas.

6. Tamaño de muestra:

Tres experimentos independientes por triplicado, n=9.

7. Criterios de selección:

7.1 Criterios de inclusión

- hDPSC cultivadas *ex-vivo* a una densidad mínima de 1×10^5 cél/mL.
- Muestras de polímero enriquecido con óxido de grafeno y convencional.

7.2 Criterios de no inclusión

- Muestras que presenten irregularidades durante y después del procesado del polímero.
- hDPSC con más de 15 divisiones celulares.

7.3 Criterios de eliminación

- Muestras que se dañen o fracturen durante el proceso de elaboración.
- Cultivos contaminados.

Operacionalización de variables

Variables dependientes

Variabes	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza de la variable	Escala de la variable
Citotoxicidad	Alteración de las funciones celulares provocada por la acción de anticuerpos específicos. La citotoxicidad constituye una de las principales y más importantes respuestas contra agentes infecciosos por parte del sistema inmune. (Arrebola <i>et al.</i> , 2023).	Actividad enzimática mediante la reducción y transformación del reactivo MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) en una forma reducida coloreada. Esta es interpretada como porcentaje de viabilidad celular (%).	Cuantitativa	Razón
Proliferación celular	Aumento del número de células como resultado del crecimiento y la multiplicación celular. (De Ita <i>et al.</i> , 2019).	Evaluar la proliferación celular del polímero adicionado con óxido de grafeno y polímero convencional en cultivo con células troncales pulpares dentales humanas (hDPSC) mediante pruebas de viabilidad celular con el método MTT.	Cuantitativa.	Razón.

Variables independientes

Variabes	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza de la variable	Escala de la variable
Polímero autopolimerizable.	El polimetilmetacrilato es un	Muestras de polímero (PMMA)	Cualitativa.	Cualitativa dicotómica.

polímero que enriquecido con
tiene alta óxido de grafeno
biocompatibilida (Osforma Addir
d, al ser Pink) y polímero
adicionado con convencional
OG puede (PMMA) (sin
promover la óxido de
proliferación grafeno).
celular y
potencializar las
propiedades
físicas, químicas,
mecánicas y
biológicas del
PMMA. (Lango-
López *et al.*,
2022).

Fuente: Propia.

Materiales y métodos

1) Elaboración de muestras de polímero enriquecido con óxido de grafeno y convencional.

Reactivos	Materiales	Equipo
<ul style="list-style-type: none"> Polímero enriquecido con óxido de grafeno: Osforma Addir Pink (Osforma®, Los Algodones, Baja California, México). Polímero convencional (sin óxido de grafeno). 	<ul style="list-style-type: none"> Molde metálico. Espátula 7A. Bolsa de plástico. 	<ul style="list-style-type: none"> Prensa. Micromotor. Piedra rosa para pulir. Micropipetas (Thermo Scientific®, Rochester, NY, EUA). Báscula analítica eléctrica (Denver Instrument SGC-LII).

Tabla 3. Reactivos, materiales y equipo para la elaboración de muestras de polímero enriquecido con óxido de grafeno y convencional. **Fuente:** Propia.

2) Subcultivo celular

Reactivos	Materiales	Equipo
<ul style="list-style-type: none"> Buffer de fosfato (PBS, pH 7.4) (Gibco® by Life Technologies corporation, Gran Island, NY, EUA. LOT:1253067). Medio de cultivo suplementado. Tripsina- EDTA 0.05% (Gibco® by Life Technologies corporation, Gran Island, NY, EUA. LOT: 2065178). 	<ul style="list-style-type: none"> Cajas Petri. Placas de cultivo de 24 pocillos (Thermo Scientific Rochester, NY, EUA). 	<ul style="list-style-type: none"> Micropipetas (Thermo Scientific®, Rochester, NY, EUA). Pipetas serológicas. Hematocitómetro de Neubauer. Bomba de vacío. Incubadora a 37°C con atmósfera de 5 % de CO₂ y 95% de humedad.

Tabla 4. Reactivos, materiales y equipo para realización de subcultivo celular. **Fuente:** Propia.

1) Ensayo de MTT para evaluación de citotoxicidad y proliferación celular en contacto directo e indirecto con muestras de polímero enriquecido con óxido de grafeno y convencional.

Reactivos	Materiales	Equipo
<ul style="list-style-type: none"> • Dimetil Sulfóxido (Karal, GTO, México). • Reactivo MTT (Sigma-Aldrich). • α-MEM. 	<ul style="list-style-type: none"> • Placas de cultivo de 24 pocillos (Thermo Scientific Rochester, NY, EUA). • Placas de cultivo de 96 pocillos (Thermo Scientific Rochester, NY, EUA). • Tubos Falcón® (15 mL) (Corning, NY, USA). 	<ul style="list-style-type: none"> • Campana de flujo laminar (Lumistell MR LH-120, Celaya, Guanajuato, México). • Lector de microplaca a 570nm (Thermo Fischer Scientific, Helsinki, Finlandia). • Incubadora a 37°C con atmósfera de 5 % de CO₂ y 95% de humedad. • Microscopio de contraste de fases (Leica Axio Camp MRc, Wetzlar, Alemania). • Micropipetas (Thermo Scientific®, Rochester, NY, EUA). • Báscula analítica eléctrica (Denver Instrument SGC-LII).

Tabla 5. Reactivos, materiales y equipo para ensayo de MTT: evaluación de citotoxicidad y proliferación celular. **Fuente:** Propia.

Desarrollo de la metodología

Obtención de las muestras: Elaboración de muestras de polímero enriquecido con óxido de grafeno y convencional.

Se realizaron las muestras con el polímero enriquecido con óxido de grafeno Osforma Addir Pink ISO-20795-1 (2013) e ISO-10993-5 (1999) y polímero convencional, siguiendo las proporciones del fabricante en relación 3 a 1 en volumen (polvo-líquido). Las muestras de polímero se obtuvieron mediante moldes metálicos circulares con medidas de 1.5 mm de diámetro por 1 mm de grosor. Una vez obtenidas las muestras se continuó con el protocolo de pulido, retirando los bordes irregulares con ayuda de una piedra rosa activada por medio del micromotor y finalmente fueron sometidas a un ciclo de esterilizado de 20 min.

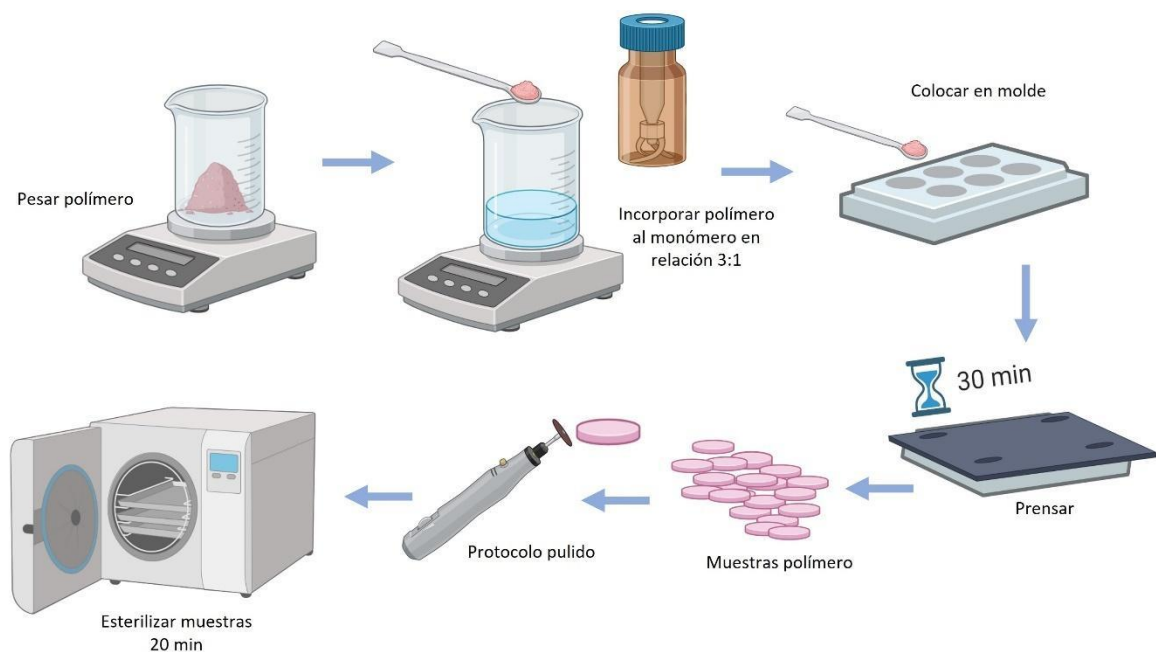


Figura 5. Elaboración de muestras de polímero convencional y con OG. **Fuente:** Propia, BioRender.

Subcultivo celular de hDPSC

Las células hDPSC fueron obtenidas del banco de células del Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LII), perteneciente al Área de Nanoestructuras y Biomateriales de la Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en Guanajuato, México, con previa autorización del comité de ética en investigación (registro CE 16/004). Las células fueron cultivadas en medio esencial modificado (MEM, Sigma-Aldrich, EE. UU.) suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS, Sigma-Aldrich), 1% de antibiótico (1.000 UI/mL de penicilina, 100 mg/mL de estreptomycin (PenStrep,

Sigma-Aldrich) y 1% de L-Glutamina (Glutamax, Life Tecnologías, Gibco, EE.UU.). El cultivo celular se llevó a cabo en condiciones de incubación estandarizadas ($37\pm 1^\circ\text{C}$; humedad relativa $95\pm 1\%$; $5\pm 1\%$ CO_2) durante un periodo de 21 días (500 ± 4 h) con cambios de medio de cultivo realizados cada tercer día. El desprendimiento de las células se efectuó mediante tratamiento con Tripsina-EDTA al 0,25% (Sigma-Aldrich, EE. UU.). Posteriormente, las células se inocularon en platos de 24 pocillos a una densidad mínima de 1×10^5 células/mL.

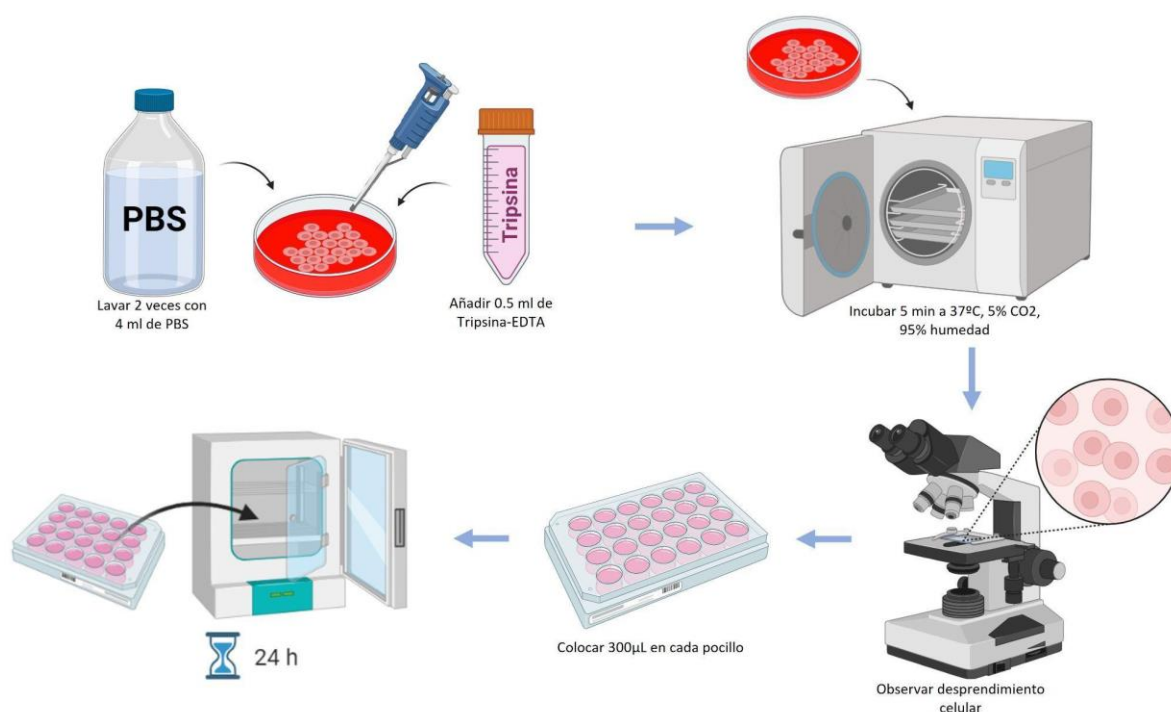


Figura 6. Protocolo de subcultivo celular. **Fuente:** Propia, BioRender.

Colocación de las muestras

A las 24 horas de haberse realizado el subcultivo celular se llevó a cabo la exposición de las muestras; donde obtuvimos los siguientes grupos: control celular, células en contacto directo con polímero enriquecido con óxido de grafeno, células en contacto indirecto con polímero enriquecido con óxido de grafeno, células en contacto directo con polímero convencional y células en contacto indirecto con polímero convencional.

Para el contacto directo se colocó una muestra de polímero enriquecido con óxido de grafeno y convencional respectivamente en flotación sobre el medio de cultivo. En los grupos de contacto indirecto se utilizó una elución, la cual se obtuvo colocando en 1 mL de MEM, una muestra de polímero enriquecido con óxido de grafeno y polímero convencional en un tubo falcón, respectivamente. Las muestras se colocaron bajo condiciones estériles en incubación con agitación durante 24 horas a 180 rpm, 37°C . Transcurridas las 24 horas, se retiró la muestra de polímero y se utilizó el sobrenadante como medio de cultivo para los grupos correspondientes.

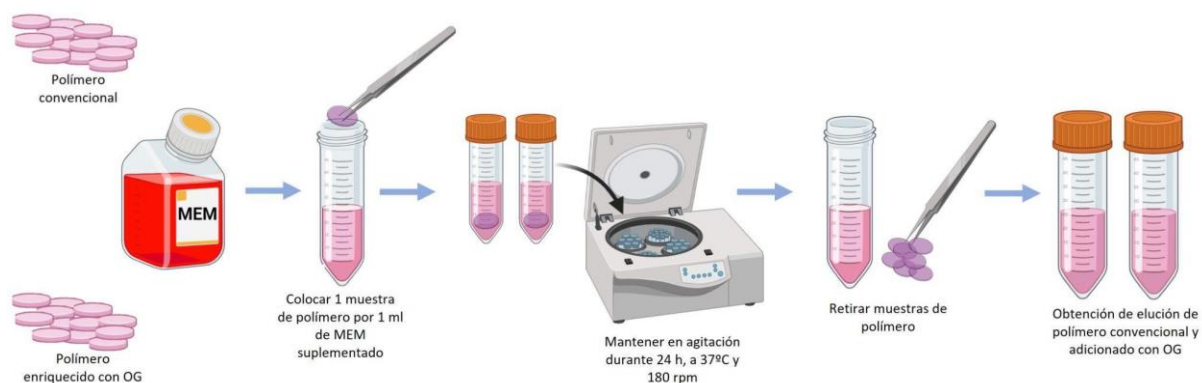


Figura 7. Método para obtención de elución de polímero convencional y polímero adicionado con óxido de grafeno. **Fuente:** Propia, BioRender.

Ensayo de MTT: Citotoxicidad y proliferación celular

El efecto citotóxico del polímero enriquecido con óxido de grafeno y convencional se evaluó empleando hDPSC con una densidad mínima de 1×10^5 cél/mL cultivado en placas de 96 pocillos e incubando durante 24 horas (citotoxicidad) y 72 horas, 7 días y 14 días (proliferación celular), mantenidas a 37°C, 5% CO₂ y 95% de humedad relativa. Realizando cambio de medio cada tercer día.

El conteo de células viables se llevó a cabo mediante el ensayo MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol). Las células tratadas se incubaron durante 4 horas con una solución de 0,2 mg/mL de MTT en medio de cultivo fresco. El formazán formado se disolvió con 0.1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO, Karal, Guanajuato, México), y las lecturas de absorbancia se analizaron en un Multiskan GO™ a 570 nm. Los experimentos se repitieron por triplicado en tres experimentos independientes (n=9), y los resultados fueron expresados con los porcentajes promedios del número de células viables en comparación al grupo control (Sin exposición a polímero enriquecido con óxido de grafeno y polímero convencional).

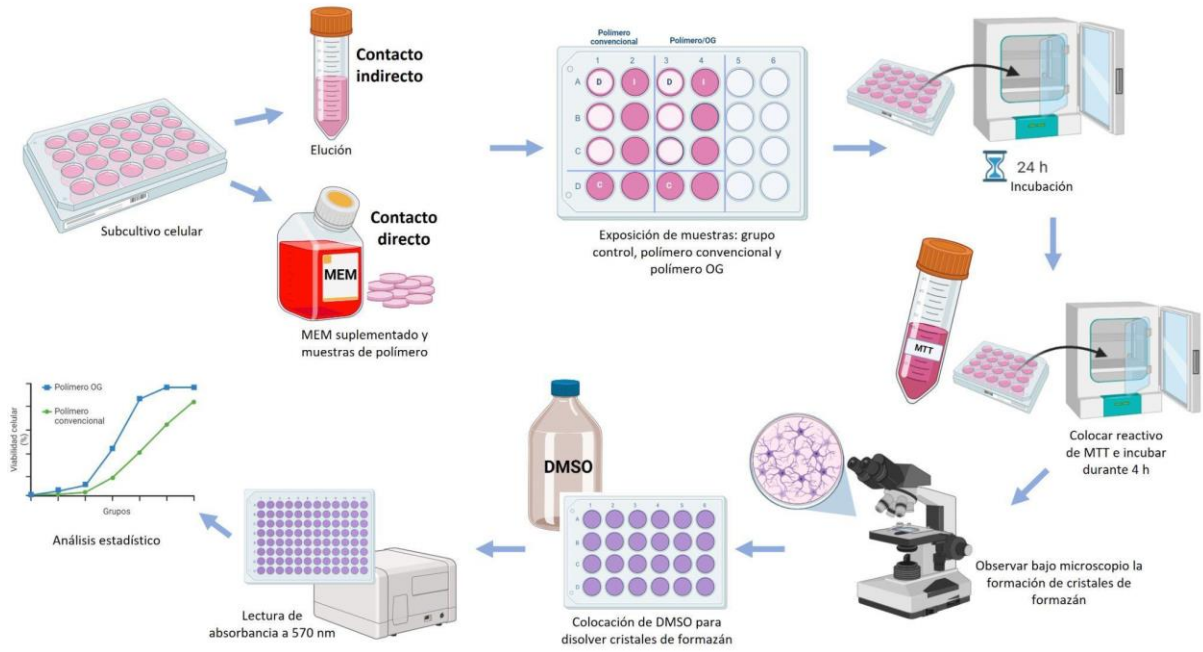


Figura 8. Procedimiento para ensayo de MTT: evaluación de citotoxicidad. **Fuente:** Propia, BioRender.

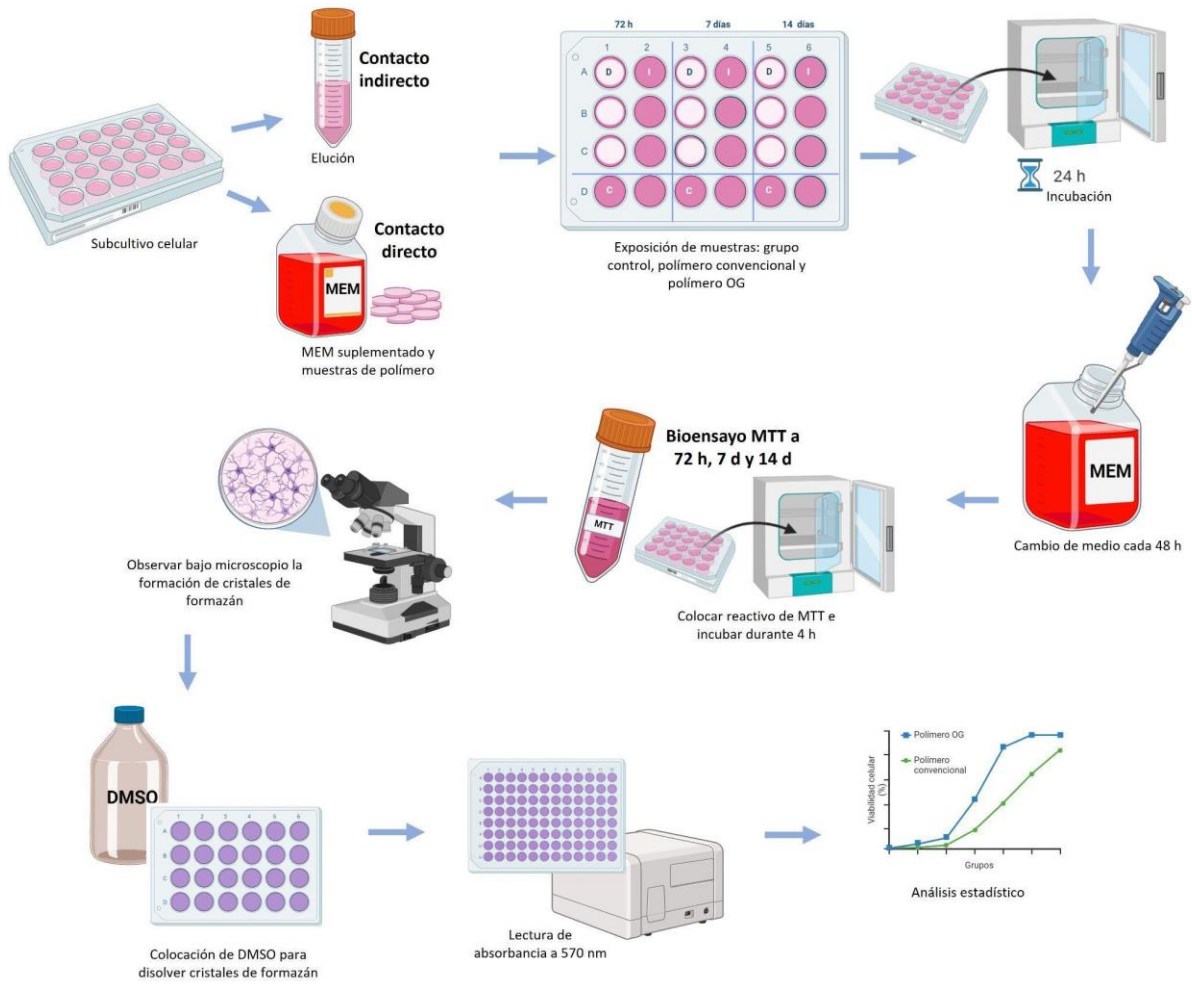


Figura 9. Procedimiento para ensayo de MTT: evaluación de proliferación celular. **Fuente:** Propia, BioRender.

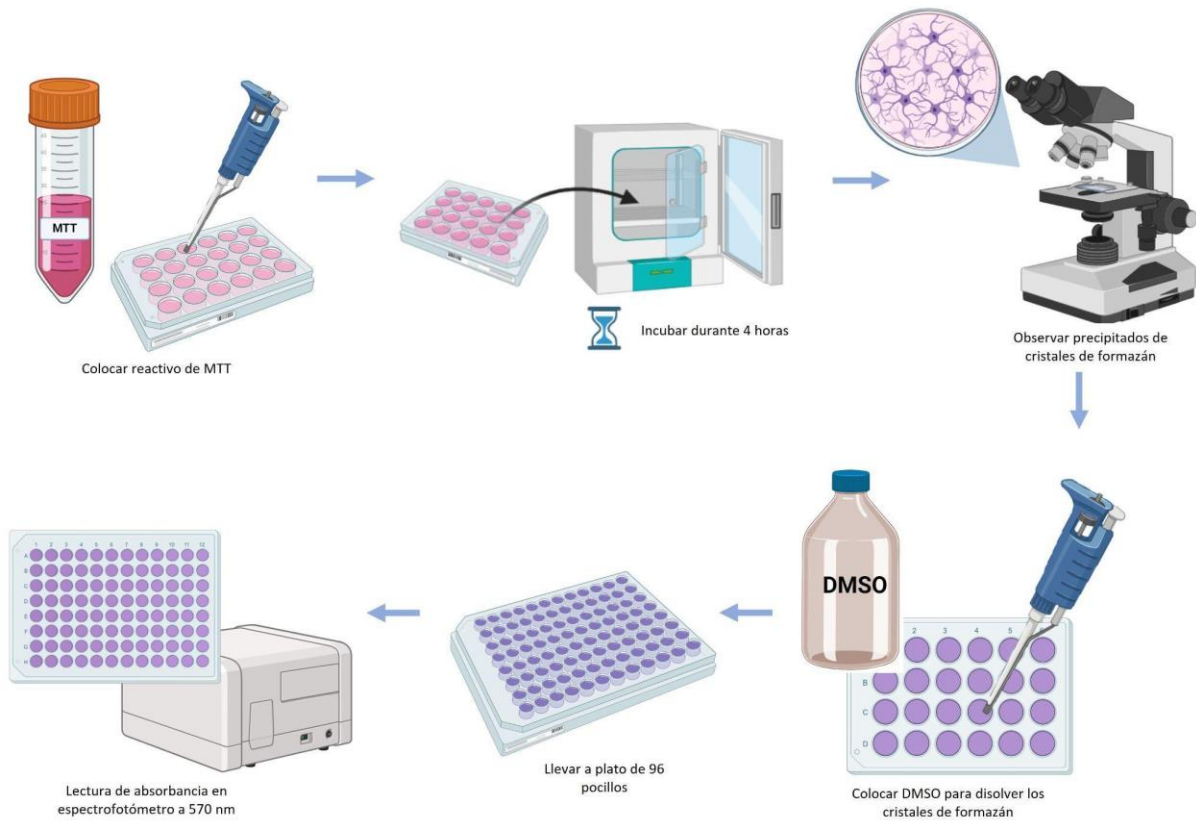


Figura 10. Procedimiento para lectura de absorbancia en espectrofotómetro. **Fuente:** Propia, BioRender.

Análisis estadístico

Los resultados se reportan con el promedio y desviación estándar (d.e) para calcular la viabilidad celular de las hDPSC. Se realizaron pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk. La estadística comparativa se analizó de acuerdo con la distribución de los datos en las pruebas biológicas: citotoxicidad y proliferación celular. Para resultados paramétricos (ANOVA *pos-hoc* de Tukey). Los datos se registraron y analizaron con el software SPSS versión 20 (IBM, Chicago, EE. UU.), considerando un nivel de significancia de $p < 0.05$.

CAPÍTULO 4

Resultados

Se llevo a cabo el triplicado de los experimentos. Los datos se analizaron con Shapiro- Wilks, estadística descriptiva (promedio y d.e.) e inferencial con ANOVA *post-hoc* de Tukey considerando como valor significativo $p < 0.05$.

Para el grupo de polímero convencional en contacto directo se identificó viabilidad celular (%) de 90.8 ± 6.2 a 24 h, 99.9 ± 7.0 a 72 h, 120.2 ± 14.6 a 7 días y 102.9 ± 17.3 a 14 días; en contacto indirecto: 77.2 ± 8.4 a 24 h, 64.8 ± 21.6 a 72 h, 91.4 ± 16.5 a 7 días y 63 ± 15.8 a 14 días (**Ver figura 11**).

El grupo de polímero enriquecido con óxido de grafeno en contacto directo: 149.6 ± 14.5 a 24 h, 95.7 ± 6.1 a 72 h, 172.9 ± 16.2 a 7 días y 95.4 ± 22.8 a 14 días; en contacto indirecto: 99 ± 21.4 a 24 h, 67 ± 9.6 a 72 h, 142 ± 18.7 a 7 días y 79.1 ± 3.1 a 14 días. (**Ver figura 12**).

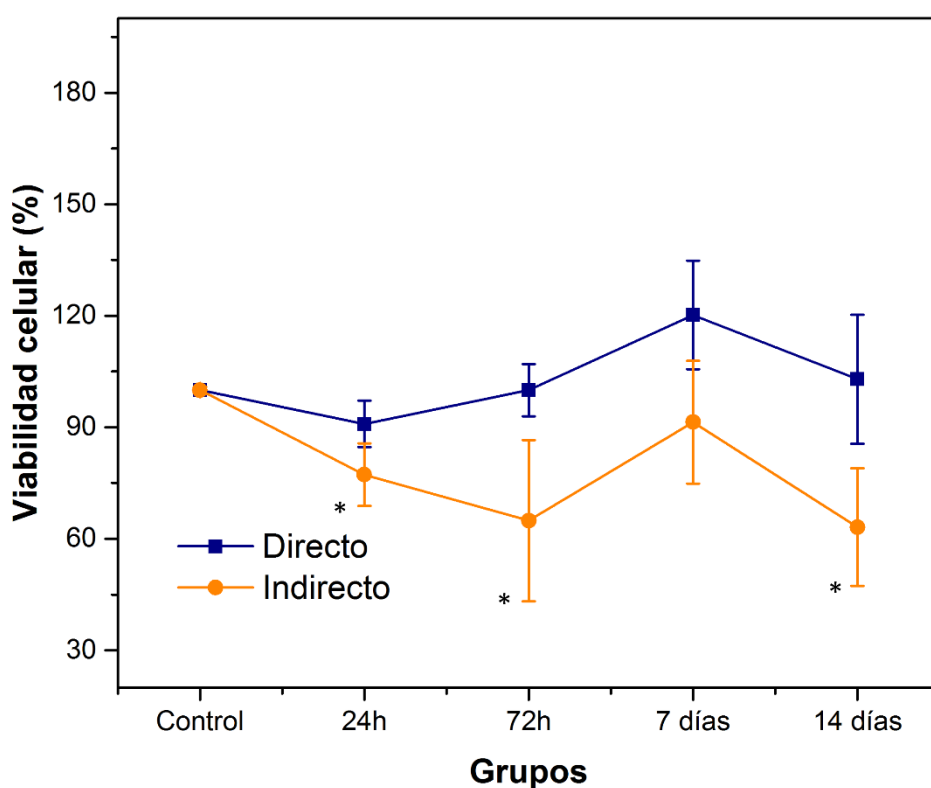


Figura 11. Viabilidad celular hDPSC-polímero convencional en contacto directo e indirecto a 24 h, 72 h, 7 días y 14 días. Densidad óptica 570 nm. Rango de abs. (0.137–3.303). Cada valor en la gráfica representa porcentaje del promedio y d.e. Se realizó ANOVA de una vía, *post hoc* de Tukey, (*) representa las concentraciones con diferencia significativa $p < 0.001$, $n=9$. **Fuente:** Directa.

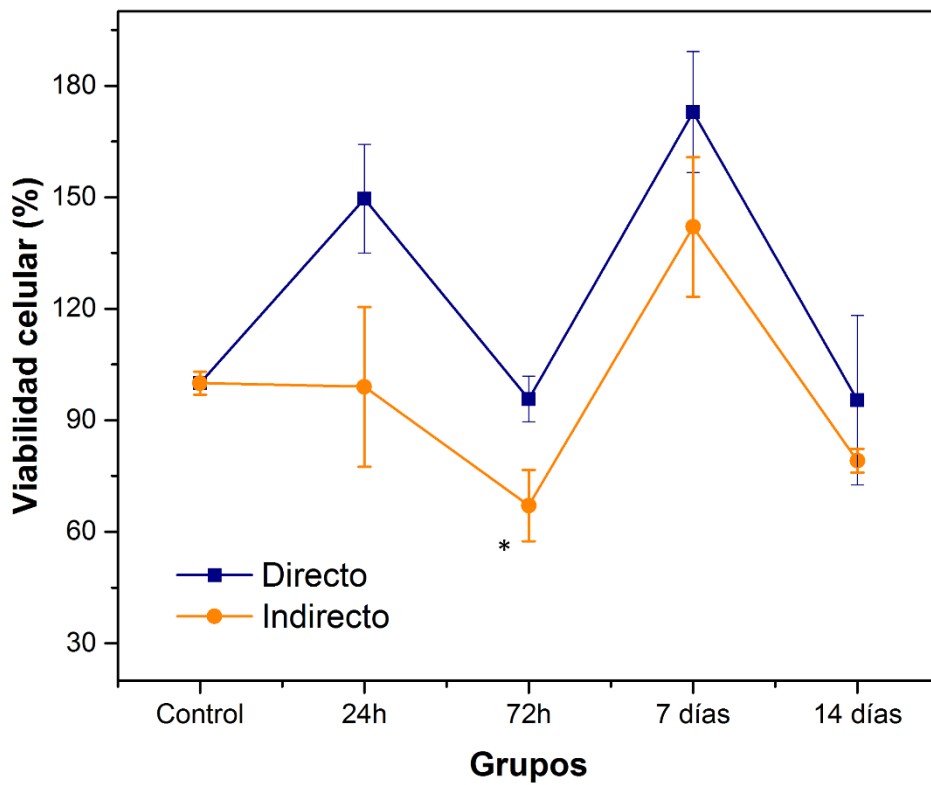


Figura 12. Viabilidad celular hDPSC-polímero enriquecido con OG en contacto directo e indirecto a 24 h, 72 h, 7 días y 14 días. Densidad óptica 570 nm. Rango de abs. (0.099;3.214). Cada valor en la gráfica representa porcentaje del promedio y d.e. Se realizó ANOVA de una vía, *post hoc* de Tukey, (*) representa las concentraciones con diferencia significativa $p < 0.001$, $n = 9$. **Fuente:** Directa.

Discusión

Estudios recientes, como Garcia-Contreras *et al.*, 2021 y Jang *et al.*, 2021, mostraron aumento significativo en la estimulación y proliferación celular en contacto con óxido de grafeno (OG). Scarano *et al.*, 2021 también informaron mejor osteointegración con implantes PMMA adicionado con óxido de grafeno (Garcia-Contreras *et al.*, 2021; Jang *et al.*, 2021; Scarano *et al.*, 2021). Esto coincide con lo reportado en nuestra investigación, donde es evidente la proliferación celular de las hDPSC en contacto con el polímero adicionado con óxido de grafeno.

Mirza y colaboradores en 2019 estudiaron los efectos biológicos de PMMA modificado con óxido de grafeno, revelando mayor viabilidad celular y mejor respuesta de diferenciación osteogénica (Mirza *et al.*, 2019). Asimismo, Pahlevanzadeh *et al.*, estudiaron un cemento a base de PMMA reforzado con óxido de grafeno concluyendo que existe un aumento en la viabilidad y proliferación celular en comparación al cemento a base de PMMA convencional, por lo cual al cemento modificado con OG se le consideró como material bioactivo (Pahlevanzadeh *et al.*, 2021).

Los implantes de PMMA con óxido de grafeno mejoran la osteointegración sugiriendo estimulación de la proliferación celular (Scarano *et al.*, 2021).

En periodoncia el PMMA con óxido de grafeno ha sido utilizado para colocarse y adaptarse en cavidades óseas complejas. La incorporación del grafeno ha evidenciado una curación más rápida en los tejidos de los pacientes esto debido a la bioactividad de material (Soleymani *et al.*, 2020).

Conclusión

El polímero enriquecido con óxido de grafeno muestra efectos favorables en la estimulación de la proliferación celular al evidenciar mayor confluencia celular, siendo evaluadas mediante ensayo de MTT en comparación al polímero convencional, lo que lo convierte en un material óptimo para favorecer la proliferación celular.

En cuanto a la citotoxicidad, no se observa una diferencia evidente entre los valores de viabilidad celular a 24 horas entre el polímero enriquecido con óxido de grafeno y el polímero convencional en contacto directo e indirecto con células troncales pulpares dentales humanas (hDPSC); ya que ambos presentan un porcentaje de viabilidad celular $\geq 75\%$, lo que sugiere no ser un valor citotóxico.

Estos datos sugieren el uso potencial del polímero enriquecido con óxido de grafeno para su uso clínico en cuanto a la regeneración de defectos maxilofaciales, prótesis e ingeniería tisular, así como en otras áreas biomédicas.

Con los resultados obtenidos podemos sugerir que nuestra hipótesis de trabajo ha sido aceptada y el polímero enriquecido con óxido de grafeno no es citotóxico con las células troncales pulpares dentales humanas (hDPSC) y logra estimular la proliferación celular en comparación al polímero convencional.

Referencias

1. Acosta-Torres, L. S., Flores-Arriaga, J. C., Serrano-Díaz, P. N., González-García, I. A., Viveros-García, J. C., Villanueva-Vilchis, M. D. C., & Arenas-Arrocena, M. C. (2021). Biomaterial antifúngico para reducir las infecciones causadas por *Candida albicans* en pacientes edéntulos. *Gaceta médica de México*, 157(4), 437-442.
2. Ali Sabri, B., Satgunam, M., Abreeza, N. M., & N. Abed, A. (2021). A review on enhancements of PMMA denture base material with different nano-fillers. *Cogent Engineering*, 8(1), 2-17.
3. Ali, U., Karim, K. J. B. A., & Buang, N. A. (2015). A review of the properties and applications of poly (methyl methacrylate) (PMMA). *Polymer Reviews*, 55(4), 678-705.
4. Alison, M. R., & Islam, S. (2009). Attributes of adult stem cells. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 217(2), 144-160.
5. Argueta-Figueroa, L., Mesta-Pichardo, D. I., Torres-Gómez, N., Martínez-Alvarez, O., Paulino-González, Á. D., & Arenas-Arrocena, M. C. (2018). Acrílico termopolimerizable enriquecido con nanopartículas de cobre: evaluación antibacteriana y citotóxica. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 11(21), 45-60.
6. Arias, M. E., & Felmer, R. (2009). Biología de las células madre embrionarias (ES cells) en distintas especies: potenciales aplicaciones en biomedicina. *Archivos de medicina veterinaria*, 41(3), 185-195.
7. Arrebola, D. F. A., Fernández, L. A. R., & Sánchez, D. L. C. (2003). Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia, algunas consideraciones y su utilidad. *Revista toxicológica en línea*, 40-53.
8. Asar, N. V., Albayrak, H., Korkmaz, T., & Turkyilmaz, I. (2013). Influence of various metal oxides on mechanical and physical properties of heat-cured polymethyl methacrylate denture base resins. *The journal of advanced prosthodontics*, 5(3), 241-247.
9. Bastida Hernández, R. (2021). Biocompósitos a base de grafeno y sus derivados para la regeneración ósea.
10. Bernal León, L. J., & Murillo Ramírez, M. P. (2020). Regeneración dental a partir de las células troncales. Revisión narrativa.

11. Cepeda, L. F., Oyervides, J. D. F., Marines, L. R., Galindo, A. S., & López, L. I. L. (2017). Grafeno, el material del futuro. Síntesis y propiedades. *Ciencia cierta*, 50, 1-7.
12. Chávez-Palacios, R. (2022). Adición de óxido grafeno a resina autopolimerizable, termopolimerizable y PMMA prepolimerizado: evaluación de propiedades físicas, antimicrobianas y biocompatibilidad.
13. Cruz, M. D. C. L., Mendiola, A. V., & Cruz, I. S. (2014). Ciclo celular: Mecanismos de regulación. *Vertientes. Revista Especializada en Ciencias de la Salud*, 17(2).
14. Curbelo, S., Meneses, R., Pereira-Prado, V., & Tapia, G. (2020). Regeneración ósea como un ejemplo de ingeniería tisular en odontología, con énfasis en el desarrollo de los andamios. *Odontoestomatología*, 22(36), 74-86.
15. De Ita, M., & Sánchez, M. G. (2019). Fundamentos del ciclo celular y conceptos básicos sobre su regulación. *Revista de Embriología y Genética*, 1, 1–16.
16. Díaz, L. D. L., Cala, Ó. L. O., Pinto, C. O. B., Lizcano, Á. I. G., & Cornejo, V. M. M. (2003). El ciclo celular. *MedUNAB*, 6(16), 21-29.
17. Díez-Pascual, A. M. (2022). PMMA-based nanocomposites for odontology applications: a state-of-the-art. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10288.
18. Escorcía, V. S., & Polo, J. A. R. (2020). Estrategias de ingeniería tisular de la pulpa dental: revisión de literatura. *Ciencia y Salud Virtual*, 12(2), 113-126.
19. Falke, G. F., & Atala, A. (2000). Reconstrucción de tejidos y órganos utilizando ingeniería tisular. *Archivos Argentinos Pediatría*, 98(2), 103-105.
20. Fragoso, L. R., Baltasar, E. H., & Esparza, J. A. R. (2004). El ciclo celular: características, regulación e importancia en el cáncer. *Biotecnología aplicada*, 21(2), 60-69.
21. Gallegos-Hernández, G. F. (2018). Ensayos colorimétricos para la detección de citotoxicidad. *Vid supra*, 10(1), 1-55.
22. Garcia Contreras, René. (2017). Manual: Enseñanza práctica del aislamiento, cultivo y caracterización de células madre mesenquimales de la pulpa dental humana.

23. Garcia-Contreras, R., Guzman-Juarez, H., Lopez-Ramos, D., & Alvarez-Gayosso, C. (2021). Biological and physico-mechanical properties of poly (methyl methacrylate) enriched with graphene oxide as a potential biomaterial. *Journal of Oral Research*, 10(2), 1-9.
24. Ghosh, P. K., Kumar, A., & Kumar, K. (2015). Improving thermal and electrical properties of graphene–PMMA nanocomposite. *Polymer Science Series A*, 57, 829-835.
25. Gotta, S., Carpignano, R., Ugartemendia, L., Asta, D., & Blasco, F. (2021). Obtención y caracterización de células madre mesenquimales adultas de la pulpa dental humana. *Revista de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires*, 36(83), 67-74.
26. Guadix, J. A., Zugaza, J. L., & Gálvez-Martín, P. (2017). Características, aplicaciones y perspectivas de las células madre mesenquimales en terapia celular. *Medicina clínica*, 148(9), 408-414.
27. Jarama, D. O. L., Gavilanes, T. A. U., Arreaga, F. G. G., & García, H. V. V. (2018). Importancia de la medicina regenerativa en la odontología. *RECIMUNDO: Revista Científica de la Investigación y el Conocimiento*, 2(1), 197-224.
28. Jucht, D., Rujano, R., Romero, M., & Rondón, L. (2014). Utilización de células madre en el ámbito odontológico. Revisión de la literatura. *Acta Bioclínica*, 1, 101-23.
29. Kausar, A. (2019). Poly (methyl methacrylate) nanocomposite reinforced with graphene, graphene oxide, and graphite: A review. *Polymer-Plastics Technology and Materials*, 58(8), 821-842.
30. Lango-López, D. G., Mireles-Ramírez, J., Flores-Castro, N. J., Moreno-Fonseca, M. V., Mendoza-Sánchez, Á. A., Chávez-Granados, P. A., & Manisekaran, R. (2022). Nanopartículas incorporadas al PMMA y sus propiedades antimicrobianas: una revisión sistemática. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 15(29).
31. Lei, T., Zhang, X., & Du, H. (2021). Characteristics, classification, and application of stem cells derived from human teeth. *Stem Cells International*, 2021, 1-11.
32. Leyendecker Junior, A., Gomes Pinheiro, C. C., Lazzaretti Fernandes, T., & Franco Bueno, D. (2018). The use of human dental pulp stem cells for in vivo bone tissue engineering: a systematic review. *Journal of tissue engineering*, 9, 2041731417752766.

33. Lomanto Díaz, L. D., Ortiz Cala, Ó. L., Bretón Pinto, C. O., Gómez Lizcano, Á. I., & Mesa Cornejo, V. M. (2003). El ciclo celular. *MedUNAB*, 2, 16.
34. Lunavictoria Beltrán, M. Á. (2020). Síntesis y caracterización de óxido de grafeno y óxido de grafeno reducido. *Tesis*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba.
35. Mata-Miranda, M., Vázquez-Zapién, G. J., & Sánchez-Monroy, V. (2013). Generalidades y aplicaciones de las células madre. *Perinatología y reproducción humana*, 27(3), 194-199.
36. Medrano, M. G. M., Rosu, H. C., & González, L. T. (2012). Grafeno: el alótropo más prometedor del carbono. *Acta Universitaria*, 22(3), 20-23.
37. Merino, G. M., Dewey, R. A., Mayocchi, K. A., Butler, T. A., Dorati, P. J., Basal, R. L., & Micinquevich, S. B. (2015). Células madres pulpares: describiendo y descubriendo potencialidades. XIV Jornadas Científicas de la Facultad de Odontología - XII Jornadas para Jóvenes Investigadores - IV Jornadas para Estudiantes Integrantes de Proyectos. *Revista de la Facultad de Odontología*, Universidad Nacional de la Plata.
38. Mirza, E. H., Khan, A. A., Al-Khureif, A. A., Saadaldin, S. A., Mohamed, B. A., Fareedi, F., ... & Mahmood, A. (2019). Characterization of osteogenic cells grown over modified graphene-oxide-biostable polymers. *Biomedical Materials*, 14(6), 065004.
39. Morales-Sánchez, J., Ulloa-Fernández, A., Castro-Piedra, S., Centeno-Cerdas, C., & Calvo-Castro, L. A. (2019). Cultivo Celular e Ingeniería de Tejidos: Aplicaciones en Biomedicina. *Revista Tecnología en Marcha*, Especial 2019. 25 Aniversario del Centro de Investigación en Biotecnología, 56-65.
40. Muñetón, C. M. (2006). *Ciclo celular*. Fondo Editorial Biogénesis, 207-218.
41. Orive, G., Hernández, R. M., Garcón, A. R., Igartúa, M., & Pedráz, J. L. (2003). *Ingeniería tisular: retos y realidades*. *Vitae*, 10(2).
42. Orta, L. J. G., Rytzner, A. F., & de Nova García, J. (2011). Investigación con células madre de origen dentario. *Actualización. Gaceta dental: Industria y profesiones*, 223, 118-129.
43. Pahlevanzadeh, F., Bakhsheshi-Rad, H. R., Kharaziha, M., Kasiri-Asgarani, M., Omid, M., Razzaghi, M., & Berto, F. (2021). CNT and rGO reinforced PMMA based bone cement for fixation of load bearing implants: Mechanical property and biological response. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 116, 104320.

44. Pardo, V. M. R. (2005). Células madre: Conceptos generales y perspectivas de investigación. *Universitas Scientiarum*, 10(1), 5-14.
45. Parra-Castañeda, R., Rivera-Gonzaga, J. A., Ancona-Meza, A. L., Ávila, A. M., Morales, S. L., & Calderón, J. Z. (2018). Polimetilmetacrilato, una alternativa viable para la fabricación de prótesis craneal. *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, 7(13), 49-53.
46. Peñón Vivas, P. Á., Casanova Díaz, C. P., & Guerra Cobián, O. (2011). El polimetilmetacrilato en la reconstrucción craneofacial. *Revista Cubana de Estomatología*, 48(2), 136-146.
47. Prosper, F., & Verfaillie, C. M. (2003, December). Células madre adultas. *Anales del sistema sanitario de navarra*, 26,3, 345-356. Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.
48. Quesada Leyva, L., León Ramentol, C. C., Fernández Torres, S., & Nicolau Pestana, E. (2017). Células madre: una revolución en la medicina regenerativa. *MediSan*, 21(5), 574-581.
49. Rendón, J., Jiménez, L. P., & Urrego, P. A. (2011). Células madre en odontología.(Stem cells in dentistry). *CES Odontología*, 24(1), 51-58.
50. Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J., & Minor, L. (2016). Cell viability assays. *Assay Guidance Manual*. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences.
51. Rodríguez, A. N., Curto, M. H., Sario, F., Sánchez, J. D., Panaino, I., & Garrofe, A. (2020). El grafeno en la rehabilitación bucal y su comportamiento biológico: caso clínico. *Rev. Ateneo Argent. Odontol*, 18-22.
52. Rodríguez-Gómez, A. D. J., & Frias-Vázquez, S. (2014). La mitosis y su regulación. *Acta pediátrica de México*, 35(1), 55-68.
53. Rodríguez-González, C., & Kharissova, O. V. (2008). Propiedades y aplicaciones del grafeno. *Ingenierías*, 11(38), 17-23.
54. Romero, J. A. A., Guerrero, D. M. P., & Pardo, V. M. R. (2007). Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas. *Nova*, 5(8).
55. Rosales Ibáñez, R., Alvarado Estrada, K. N., & Ojeda Gutiérrez, F. (2012). Ingeniería tisular en Odontología. *Revista ADM*, 164-67.
56. Sánchez-Gómez, I., Gonzáles-Pelayo, G. L., Santibáñez-Escobar, L. P., Gaona-Bernal, J., Torres, L. V. G., Márquez-García, E., & Flores-Hernández, F. Y. (2022). Celulas troncales aisladas de piezas dentales provenientes de población mexicana el Estado de Jalisco. *Salud Jalisco*, 9(1), 16-27.

57. Santiago Dager, E., LaO Salas, N., Urgellés Pérez, Y., Riesgo Cosme, Y., & Alí Pérez, N. A. (2014). Ventajas y usos de las células madre en estomatología. *MediSan*, 18(9), 1282-1292.
58. Scarano, A., Orsini, T., Di Carlo, F., Valbonetti, L., & Lorusso, F. (2021). Graphene-doped poly (methyl-methacrylate)(PMMA) implants: A micro-CT and histomorphometrical study in rabbits. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1441.
59. Scholey, J. M., Civelekoglu-Scholey, G., & Brust-Mascher, I. (2016). Anaphase b. *Biology*, 5(4), 51.
60. Segura-Valdez, M. D. L. (2008). Visualización de la Mitosis con el microscopio de fuerza atómica. TIP. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 11, 2.
61. Socarrás-Ferrer, B. B., del Valle-Pérez, L. O., de la Cuétara-Bernal, K., Marsán-Suárez, V., Segura, M. S., & Macías-Abraham, C. (2013). Células madre mesenquimales: aspectos relevantes y aplicación clínica en la medicina regenerativa. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 29(1), 16-23.
62. Soleymani Eil Bakhtiari, S., Bakhsheshi-Rad, H. R., Karbasi, S., Tavakoli, M., Razzaghi, M., Ismail, A. F., & Berto, F. (2020). Polymethyl methacrylate-based bone cements containing carbon nanotubes and graphene oxide: An overview of physical, mechanical, and biological properties. *Polymers*, 12(7), 1469.
63. Valencia Giraldo, A. (2011). El grafeno. *Revista Colombiana de Materiales*, 1.
64. Valero, P., Arraiz, N., López, E., Acosta, C., Bermúdez, V., & Velasco, M. (2010). Células madre: fundamentos y experiencias de terapia celular. *Diabetes Internacional y Endocrinología*, 2(1).
65. Varetti, G. y Musacchio, A. (2008). El punto de control del conjunto del husillo. *Biología actual*, 18 (14), 591-R595.
66. Vidales, R. N., & Mugica, J. R. E. (1993). Ciclo celular. *La Ricerca Folklorica*, 2, 1-9.
67. Villalón, A. R. (2016). Grafeno: Síntesis, propiedades y aplicaciones biomédicas. *Universidad Complutense, Tesis*.
68. Yadav, K., Singhal, N., Rishi, V., & Yadav, H. (2014). Cell proliferation assays. In eLS John Wiley & Sons, Ltd: Chichester.

69. Zafar, M. S. (2020). Prosthodontic applications of polymethyl methacrylate (PMMA): An update. *Polymers*, 12(10), 2299.

70. Zhu, J., & Thompson, C. B. (2019). Metabolic regulation of cell growth and proliferation. *Nature reviews Molecular cell biology*, 20(7), 436-450.

ANEXOS

Participación y obtención del 3er lugar en la categoría Básica de nivel Licenciatura con la presentación en la modalidad cartel del trabajo de investigación: "Citotoxicidad y proliferación de células troncales pulpares en respuesta a un biopolímero enriquecido con óxido de grafeno" en el XXXI Encuentro Nacional y XXII Iberoamericano de Investigación en Odontología y X Jornadas Internacionales de Investigación en Odontología UAO, efectuado los días 8, 9 y 10 de noviembre de 2023.



Universidad Autónoma de Zacatecas
Unidad Académica de Odontología
Sociedad Nacional de Investigadores en Odontología, A. C.

OTORGAN EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO A

Magdalena Vega-Quiroz, René García-Contreras, Benjamín Aranda-Herrera, Christian Andrea López-Ayuso

TERCER LUGAR CATEGORÍA LICENCIATURA AREA BÁSICA MODALIDAD CARTEL

Citotoxicidad y proliferación de células troncales pulpares en respuesta a un biopolímero enriquecido con óxido de grafeno

**XXXI Encuentro Nacional y XXII Iberoamericano de Investigación en Odontología
y X Jornadas Internacionales de Investigación en Odontología UAO**

Efectuado los días, 8, 9 y 10 de noviembre de 2023

Dr. Rubén de Jesús Ibarra Reyes
Rector Universidad
Autónoma de Zacatecas

Dr. Amaury de Jesús Pozos Guillén
Presidente de la Sociedad Nacional
de Investigadores en Odontología, A.C.

Dra. Leticia Rodríguez Villalobos
Directora de la Unidad Académica
de Odontología UAZ

Participación y obtención del 3er lugar en la modalidad cartel del trabajo de investigación: "Citotoxicidad y proliferación de células troncales pulpares en respuesta a un biopolímero enriquecido con óxido de grafeno" en el marco del 2º Congreso Internacional de BioNano Materiales, efectuado los días 23, 24 y 25 de octubre de 2023.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

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

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

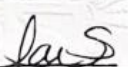
a

Magdalena Vega-Quiroz, René García-Contreras,
Benjamin Aranda-Herrera, Christian Andrea López-Ayuso

Por haber obtenido el
Tercer Lugar
en el Concurso de Carteles
con el trabajo

"Citotoxicidad y proliferación de células troncales dentales pulpares humanas
en respuesta a un biopolímero enriquecido con óxido de grafeno"
en el marco del
2º Congreso Internacional de BioNano Materiales

"Por mi Raza Hablará el Espíritu"
León, Guanajuato, a 25 de octubre de 2023


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




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

ENESL-UNAM-DECI-21CBN23-039