



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---



## **FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

Funcionalización de esponjas de Colágena con  $\text{NPsTiO}_2$   
como alternativa de tratamiento en la preservación de la  
cresta alveolar.

### **TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**ESPECIALISTA EN MATERIALES DENTALES**

P R E S E N T A:

VICTOR IVAN GUERRERO BENITEZ

TUTOR: Dra. FEBE CAROLINA VAZQUEZ VAZQUEZ

ASESOR: Dr. OSMAR ALEJANDRO CHANES CUEVAS



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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**

Quiero dar las gracias de corazón a todas las personas, instituciones y organizaciones que estuvieron presentes a lo largo de este trabajo, dejando su huella en cada paso de este camino.

Primero que nada, quiero destacar a mi tutora, la Dra. Febe Carolina Vázquez. Gracias por su guía, paciencia y por compartir sus conocimientos de una manera tan cercana. Sus consejos y su apoyo me ayudaron a librar cada obstáculo y a aprender muchísimo en el proceso.

También quiero agradecer a mi asesor, el Dr. Osmar Chanes, y a todos los profesores que me acompañaron durante este proyecto. Su experiencia y sus palabras de ánimo me dieron las herramientas necesarias para enfrentar cada reto, convirtiendo este camino en una experiencia muy enriquecedora.

No puedo dejar de mencionar a mis compañeros, quienes estuvieron ahí en las largas horas de experimentación. Su ayuda técnica y moral hizo toda la diferencia, y compartir risas y desafíos juntos convirtió este viaje en algo realmente inolvidable.

A mi familia, y en especial a mis padres, les agradezco profundamente. Su amor incondicional, su confianza y el apoyo constante fueron la fuerza que me impulsó a seguir adelante, incluso en los momentos más difíciles. Saber que siempre podía contar con ustedes hizo que cada meta fuera alcanzable.

Por último, quiero agradecer al Laboratorio de Investigación de Materiales Dentales y Biomateriales, al Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos de la DPel, a la Facultad de Odontología de la UNAM y al proyecto PAPIT IN208324. Gracias por ofrecerme los recursos y el ambiente de aprendizaje que tanto me ayudaron a crecer y a desarrollar esta investigación.

A todos ustedes, muchísimas gracias por acompañarme en este camino y por brindarme su apoyo, cariño y conocimientos. Cada gesto, cada palabra y cada ayuda han hecho posible este trabajo, y siempre les estaré muy agradecido.

## Contenido

1. Resumen .....	1
2. Abstract.....	2
3. Introducción.....	3
3. Antecedentes.....	4
3.1 La Cresta Alveolar postextracción.....	4
3.2 Preservación de la Cresta Alveolar (PCA) .....	6
3.3 Colágena .....	7
3.4 Policaprolactona (PCL) .....	9
3.5 Dióxido de Titanio (TiO <sub>2</sub> ) .....	11
4. Métodos .....	13
4.1 Diseño general .....	13
4.2 Material.....	13
4.3 Tamaño de muestra.....	13
4.4 Grupos. ....	13
4.5 Funcionalización de la esponja.....	14
.....	15
4.6 Caracterización fisicoquímica .....	15
4.7 Estudios <i>In Vitro</i> .....	16
5. Ética .....	16
6. Estadística.....	17
7. Resultados.....	17
7.1 Espectroscopía Infrarroja.....	17
7.2 Difracción de Rx.....	17
7.3 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).....	18
7.3.1 MEB de la esponja de colágena sin funcionalizar .....	18
7.3.2 MEB de la Esponja de colágena funcionalizada.....	19
7.3.2 MEB de la esponja funcionalizada después del cultivo celular.....	20
7.4 Estudios <i>In Vitro</i> .....	21
7.4.1 Ensayo de WST-1 .....	21
7.4.2 Fluorescencia .....	22
8. Discusión .....	23
9. Conclusiones.....	25
10. Financiamiento .....	25
11. Referencias .....	26

# 1. Resumen

Este estudio tiene como propósito analizar la adhesión celular en esponjas de colágena modificadas con policaprolactona (PCL) y nanopartículas de dióxido de titanio (NPsTiO<sub>2</sub>) para evaluar su viabilidad como biomaterial en aplicaciones odontológicas y médicas. Se compararon dos grupos de esponjas: un control sin modificar y otra funcionalizada con PCL y NPsTiO<sub>2</sub>. Se emplearon cultivos celulares para analizar la adhesión y proliferación celular mediante técnicas de microscopia y ensayos de viabilidad.

Los resultados mostraron que la esponja funcionalizada presentó una mayor adhesión celular y proliferación en comparación con la esponja sin modificar. Además, los análisis demostraron que la presencia de PCL y NPsTiO<sub>2</sub> favorece la interacción celular sin generar citotoxicidad significativa. Estas observaciones sugieren que la modificación de esponjas de colágena con PCL y NPsTiO<sub>2</sub> podría mejorar su desempeño como biomaterial en la regeneración ósea y de tejidos blandos.

**Palabras clave:** adhesión celular, colágeno, policaprolactona, dióxido de titanio, biomateriales, regeneración tisular, citotoxicidad.

## 2. Abstract

This study aims to analyze cell adhesion in collagen sponges modified with polycaprolactone (PCL) and titanium dioxide nanoparticles (NPsTiO<sub>2</sub>) to evaluate their viability as biomaterials for dental applications. Two types of sponges were compared: unmodified and one functionalized with PCL and NPsTiO<sub>2</sub>. Cell cultures were used to analyze adhesion and proliferation through microscopy techniques and viability assays.

The results showed that the functionalized sponge exhibited greater cell adhesion and proliferation than the unmodified sponge. Furthermore, the analyses demonstrated that PCL and NPsTiO<sub>2</sub> promote cell interaction without cytotoxicity. These observations suggest that modifying collagen sponges with PCL and NPsTiO<sub>2</sub> could enhance their performance as biomaterials for bone and soft dental tissue regeneration.

**Keywords:** cell adhesion, collagen, polycaprolactone, titanium dioxide, biomaterials, tissue regeneration, cytotoxicity.

### 3. Introducción

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la pérdida dentaria presenta una prevalencia del 23% en pacientes de 60 años, este evento puede ocasionar problemas psicológicos, dificultades sociales, limitaciones funcionales, así como cambios en la dimensión ósea que pueden producir alteraciones en los tejidos dando como consecuencia defectos en el reborde alveolar<sup>1</sup>.

“Abrams en 1987 estudió pacientes parcialmente desdentados y se encontraron defectos en el reborde en el 91% de los casos”<sup>2</sup>. La preservación de la cresta alveolar (PCA) es la estrategia que surge específicamente para contrarrestar la reabsorción ósea y prevenir estos defectos, todo para mantener la estructura y el volumen óseo necesario para una adecuada rehabilitación con prótesis o implantes.

A lo largo del tiempo se han implementado métodos que permitan mejorar las condiciones para restauraciones protésicas como aloinjertos, xenoinjertos, autoinjertos, membranas reabsorbibles y esponjas de colágena, todos estos promueven preservar el volumen de la cresta alveolar tras realizar una extracción dental<sup>3</sup>.

El uso de estos biomateriales regenerativos ha revolucionado la práctica odontológica, dando al profesional técnicas que favorecen tanto la estabilidad mecánica del sitio de la extracción como la regeneración tisular.

Actualmente se utiliza la combinación de membranas de colágena con injertos óseos es el método al que más recurren los odontólogos, ha tenido buenos resultados, pero gran parte de la población en México no tiene acceso a esto por los altos costos<sup>4</sup>.

Se han buscado alternativas más accesibles y que eliminen las limitaciones de los biomateriales actuales. En la revisión de la literatura se encontró que dentro de los materiales utilizados con resultados favorables se encuentran la colágena (Col), la policaprolactona (PCL) y las nanopartículas de dióxido de titanio (NPsTiO<sub>2</sub>)<sup>5,6</sup>.

Por ello el presente estudio se centra en la caracterización fisicoquímica y biológica de esponjas de colágena funcionalizadas con PCL y NPsTiO<sub>2</sub>, para evaluar su potencial en la preservación de la cresta alveolar y ofrecer una alternativa a los métodos actuales.

### 3. Antecedentes

#### 3.1 La Cresta Alveolar postextracción

El hueso es una mezcla de sustancias, 2/3 inorgánico, principalmente calcio y fosfato en forma de hidroxiapatita, con una pequeña cantidad de otros minerales como magnesio y potasio; y 1/3 de matriz orgánica, aproximadamente con un 90% de colágena y 10% de otras proteínas no colágenas como osteocalcina, osteopontina, etc.<sup>7</sup>

La parte del maxilar y la maxila que rodea a la raíz del diente, separada solo por el ligamento periodontal, se llama proceso alveolar. Se compone de una capa interna, ligera y porosa, que se identifica como hueso trabecular; la cual es rodeada por una capa externa, densa y de hueso compacto, llamado hueso cortical<sup>8</sup>.

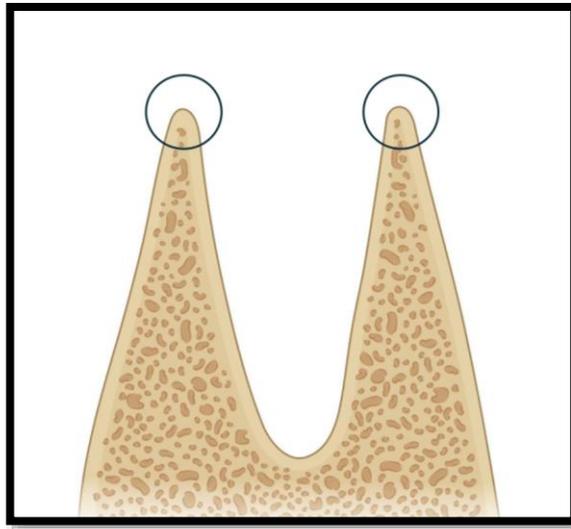


Figura 1. Cresta Alveolar

El lugar donde las tablas corticales se conectan con el hueso propiamente dicho es la cresta alveolar, también llamada del tabique interdental (Figura 1), esta cresta se encuentra generalmente a 1.5 - 2mm por debajo de la unión amelocementaria del diente<sup>7,9</sup>.

Cuando se realiza la extracción de un diente, se inicia una serie de procesos en el cuerpo que afectan tanto al hueso como a los tejidos blandos, gracias a esto “ocurre una reducción de la estimulación física del hueso alveolar, produciéndose una reabsorción ósea que es irreversible, crónica y acumulativa”<sup>10</sup>.

Inmediatamente después de realizar la extracción, se forma un coágulo en el alvéolo; posteriormente aparece tejido de granulación, se genera hueso inmaduro y, por último, se produce la remodelación ósea<sup>11</sup>.

Después de la extracción se pierde también el ligamento periodontal esto lleva a se interrumpa la vascularización que este aporta al alvéolo y a la vez una falta de estimulación mecánica factor importante que influencia la reabsorción<sup>12,13</sup>.

Al perder el órgano dentario es prácticamente inevitable que se produzca reabsorción ósea después de la extracción, especialmente en la pared vestibular del alvéolo, ya que esta zona tiene un grosor cortical menor y una vascularización limitada<sup>14</sup>.

Dentro de los seis meses iniciales posteriores a la extracción, la reabsorción ósea es muy intensa. En algunos casos, el ancho del alvéolo puede reducirse hasta en un 50 % y la altura disminuir hasta en 4 mm durante el primer año<sup>3</sup>.

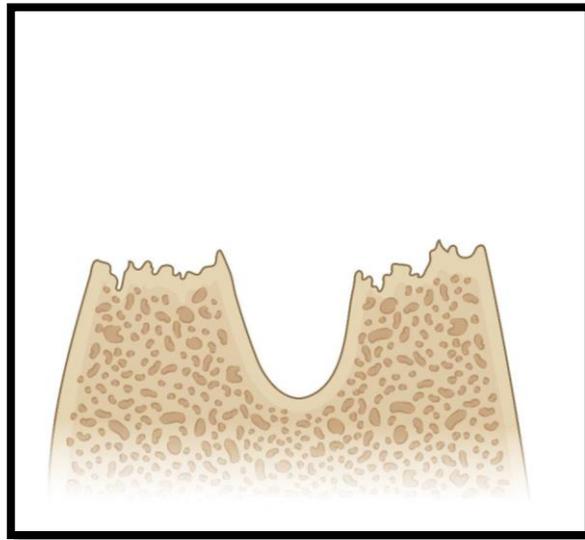


Figura 2. Colapso de la cresta alveolar

Podemos encontrar dos clasificaciones para la reabsorción ósea, la primera propuesta por Lekholm y Zarb (1985) es la siguiente<sup>15</sup>:

Tipo I: Hueso cortical muy compacto.

Tipo II: Hueso cortical compacto y hueso trabecular denso.

Tipo III: Hueso cortical menor y abundancia de hueso trabecular.

Tipo IV: Hueso cortical muy delgado y hueso trabecular poco denso.

La otra clasificación es más aceptada y se encuentra mayormente en la bibliografía, la propuso Cawood y Howell en 1988 dividiéndola en las siguientes 6 clases<sup>12,15</sup> :

Clase I: Cresta Dentada.

Clase II: Cresta alveolar postextractiva inmediata.

Clase III: Cresta en filo de cuchillo con adecuada cantidad ósea en altura y espesor.

Clase IV: Cresta en filo de cuchillo con adecuada cantidad ósea en altura, pero no en espesor.

Clase V: La cantidad ósea es inadecuada tanto en altura como en espesor

Clase VI: Zonas crestales deprimidas con reabsorción de las bases óseas más o menos evidentes sin la presencia de previsibilidad de cómo podrá evolucionar.

Cuando el odontólogo planea una rehabilitación con prótesis o implantes, estas modificaciones en el alvéolo pueden ser un problema, volviéndola un reto e incluso obligar a realizar procedimientos adicionales, como la elevación del seno maxilar. Por eso, a lo largo de los años se han desarrollado estrategias para minimizar esta pérdida ósea mediante la preservación de la cresta alveolar (PCA).

### **3.2 Preservación de la Cresta Alveolar (PCA)**

La PCA se puede definir como una serie de procedimientos diseñados para conservar la estructura ósea postextracción. Con ella se busca mejorar la cantidad de hueso remanente, facilitando así la rehabilitación oral y permitiendo al odontólogo ofrecer al paciente mejores resultados tanto en estética como en función<sup>16,17</sup>.

La clave para la PCA está en el uso de biomateriales que ayudan a mantener el volumen y la forma del alvéolo<sup>18</sup>. Estas técnicas hacen que la rehabilitación sea más predecible, incluso en muchos casos, evitan tener que recurrir a procedimientos adicionales<sup>4</sup>.

En tiempos pasados no se contaba con métodos efectivos para contrarrestar la pérdida ósea tras una extracción, esto limitaba y dificultaba la rehabilitación<sup>14</sup>. Sin embargo, con los avances en implantología y cirugía regenerativa durante los años 80 y 90, se empezaron a desarrollar técnicas que reducen la atrofia ósea y mejoran la calidad del reborde alveolar<sup>18</sup>.

Aunque la PCA no evita por completo la pérdida ósea, muchos estudios han demostrado que puede disminuir significativamente el colapso alveolar, lo que se traduce en mejores resultados estéticos y funcionales con mayor satisfacción en la rehabilitación dental<sup>17</sup>.

Se han evaluado diferentes técnicas y materiales para llevar a cabo la PCA<sup>3</sup>. Los injertos óseos autólogos han sido considerados el estándar de oro por mucho tiempo, sin embargo, se han buscado alternativas alogénicas y xenogénicas para contrarrestar las limitaciones de hueso disponible y evitar cirugías adicionales.

La incorporación de membranas de regeneración ósea guiada y biomateriales sintéticos ha revolucionado estos procedimientos, debido a que han mejorado los resultados clínicos y han reducido la morbilidad asociada a la intervención<sup>4</sup>.

La combinación de estas membranas con injertos óseos es el método más utilizado en estos días, ya que ayuda a mantener tanto la altura como el ancho de la cresta, aunque no logra impedir totalmente la reabsorción ósea<sup>19</sup>. Sin embargo el costo es alto y gran parte de la población no tiene el acceso a esto.

Otro material que se ha incorporado a la PCA es el ácido hialurónico (AH). Este complemento, especialmente efectivo cuando se mezcla con injertos óseos, estimula la producción de osteocalcina, que es un marcador clave en la formación ósea, lo que facilita una cicatrización más rápida y contribuye a mantener la estabilidad del alvéolo en cuanto a sus dimensiones<sup>20</sup>.

Una alternativa que busca dar buenos resultados, son los andamios cerámicos compuestos por dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>). Estudios experimentales en minipigs han demostrado que estos andamios pueden ayudar a conservar la forma convexa de la cresta tras la extracción, aunque no evitan por completo la pérdida en altura, sobre todo en la pared vestibular<sup>21</sup>.

A pesar de estas limitaciones, los andamios de TiO<sub>2</sub> ofrecen una buena estabilidad mecánica y favorecen la integración ósea dentro de sus poros, gracias a eso se han convertido en una opción viable frente a los injertos óseos convencionales.

También se ha explorado el uso de biomateriales con actividad biológica, como las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) y otros factores de crecimiento, por su capacidad para estimular la formación ósea y mejorar los resultados de la PCA. Un estudio de la Academia Americana de Periodoncia concluyó que estos elementos pueden reforzar la estructura ósea y optimizar los resultados clínicos en comparación con los injertos óseos tradicionales<sup>22</sup>.

Aunque es imposible evitar por completo la pérdida ósea, las técnicas actuales pueden minimizarla de manera muy significativa y mejorar los resultados de la rehabilitación oral.

Sin embargo, algunos estudios sugieren que no siempre es necesario aplicar estos procedimientos en todos los casos, ya que en ciertos alvéolos la cicatrización natural podría ser suficiente para lograr un sitio estable para la colocación de implantes<sup>23</sup>.

Así es que se hace indispensable realizar un diagnóstico detallado y elaborar un plan de tratamiento personalizado que utilice las estrategias de PCA más adecuadas para cada paciente.

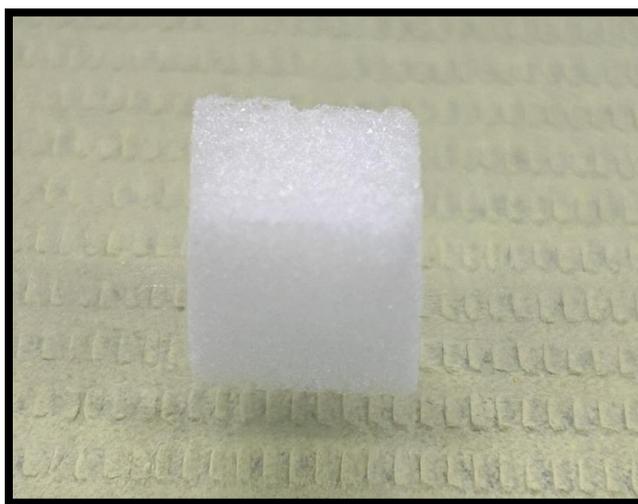
### **3.3 Colágena**

La colágena es una proteína fibrilar muy importante que se encuentra en casi todos los tejidos del cuerpo humano, formando gran parte de la matriz extracelular. Es un componente vital de los tejidos conectivos, como la piel, los tendones, los cartílagos, los huesos y los dientes, y juega un papel fundamental en su estructura y funcionamiento<sup>24</sup>.

La colágena (Col) es la proteína más abundante en nuestro organismo y crea una red que le hace que los tejidos sean resistentes y flexibles<sup>25</sup>. Existen al menos 28 tipos distintos, aunque solo algunos son de importancia en medicina. Por ejemplo, la colágena tipo I (Col I) se encuentra en mayor medida en la piel, los huesos, los tendones y los ligamentos, y se utiliza en biomateriales regenerativos por su resistencia y buena compatibilidad con el cuerpo<sup>24</sup>. La

colágena tipo II (Col II) es el componente principal del cartílago, por lo que se emplea en terapias para enfermedades de las articulaciones como la osteoartritis<sup>26</sup>.

Por su parte la colágena tipo III (Col III) se encuentra en la piel, vasos sanguíneos y órganos internos, y es común su mezcla con el tipo I en materiales destinados a la regeneración. Hay otros tipos, como Col IV y Col V, que están relacionados con la estructura de las membranas basales y tienen aplicaciones en la regeneración de tejidos blandos<sup>4,27</sup>.



**Figura 3. Esponja de colágena**

Gracias a su biocompatibilidad y su capacidad para brindar soporte mecánico, la Col se usa en medicina y odontología. Se ha convertido en un biomaterial de mucha importancia y uso en la regeneración ósea y la cicatrización de heridas<sup>28,29</sup>.

Por ejemplo, en cirugía las esponjas de Col (Figura 3) son muy utilizadas por su eficacia en aplicaciones hemostáticas. Esto es, porque la Col favorece la adhesión de plaquetas, estimula la proliferación celular y genera una matriz que promueve la regeneración tisular<sup>27</sup>.

Durante la cicatrización, estas esponjas participan en todas las fases, primero ayudan a detener el sangrado facilitando la formación de coágulos, y más adelante colaboran en la remodelación del tejido, sustituyendo las fibras de Col III por las de Col I para otorgar mayor resistencia y estabilidad al tejido.

Hablando de odontología las esponjas de Col han demostrado ser muy útiles. Se llegan a utilizar para mantener el volumen óseo tras la extracción de un diente, esto minimiza la reabsorción del hueso alveolar y ayuda a conservar el contorno de las encías<sup>28</sup>. Además, pueden servir como una barrera protectora que estabiliza el coágulo sanguíneo, promoviendo una cicatrización controlada.

Estas esponjas también pueden ayudar a potenciar la regeneración ósea si se impregnan con biomoléculas osteoinductivas<sup>24</sup>. El hecho de que sean muy porosas, en ocasiones más del 90%, favorece la absorción de líquidos como la

sangre y estimula la migración celular, para crear un entorno propicio y que exista proliferación de fibroblastos y osteoblastos.

A pesar de estas funciones de las esponjas de Col, tienen algunas limitaciones, en especial cuando se trata de preservación alveolar; ya que, se degradan de manera rápida en ambientes húmedos.

Un estudio de D'Amico et al. en el 2023 demostró que estas esponjas se degradan en menos de siete días, por lo que su función principal es detener el sangrado más que promover la formación de hueso<sup>30</sup>. Kalsi et al. en el 2019 reportaron que la formación ósea suele comenzar entre las tres y seis semanas después de una extracción dental<sup>17</sup>.

Esto nos habla de que por sí solas, las esponjas de Col actúan más como un agente hemostático y no como un estimulador directo de la regeneración ósea, por lo que es necesario combinarlas con otros materiales osteoinductivos para obtener resultados en la preservación alveolar.

La Col se ha convertido en un biomaterial muy valioso y utilizado en medicina regenerativa por su biocompatibilidad y estructura tridimensional, sin embargo, cuando se trata de regeneración ósea y preservación alveolar, se requiere complementarlo con otros biomateriales o biomoléculas, ya que las esponjas de Col por sí solas no garantizan la formación de nuevo tejido óseo.

### **3.4 Policaprolactona (PCL)**

“Los polímeros son macromoléculas que se forman por la repetición de unidades más pequeñas, llamadas monómeros, que se unen mediante enlaces químicos”. Pueden ser de origen natural, como el ADN, las proteínas y el caucho, o sintético, como el polietileno y el polipropileno, materiales ampliamente utilizados en la industria<sup>31</sup>.



**Figura 4. PCL en Pellets.**

Gracias a su estructura, los polímeros presentan propiedades únicas que los hacen útiles en una gran variedad de sectores; en actividades del día a día se utilizan bastante estos polímeros, por ejemplo, en la construcción, como utensilios de cocina, hasta en la biomedicina.

Los polímeros biodegradables han adquirido gran importancia en la medicina debido a su capacidad para degradarse dentro del organismo sin necesidad de una intervención quirúrgica posterior. Esto los hace ideales para dispositivos médicos temporales, como suturas absorbibles y andamios para la regeneración tisular<sup>32</sup>.

Un ejemplo de este tipo de polímeros es la poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL), un poliéster alifático biodegradable y biocompatible que se utiliza en ingeniería de tejidos y en sistemas de liberación controlada de fármacos. Se trata de un material semicristalino con excelente solubilidad en disolventes orgánicos, una temperatura de fusión de 55–60 °C y una temperatura de transición vítrea de aproximadamente -54 °C<sup>31</sup>.

Las características mecánicas del PCL incluyen una elevada elasticidad y resistencia, así como una lenta degradación (de 2 a 3 años), la cual ocurre gracias a la hidrólisis de sus enlaces éster, lo que lo convierte en un material ideal para dispositivos de uso prolongado<sup>32</sup>.

Una de las presentaciones en las que se puede encontrar el PCL es en pellets (Figura 4), su capacidad para ser modificado químicamente permite adaptarlo en la fabricación de andamios (scaffolds) y dispositivos biomédicos avanzados<sup>33</sup>.

En la ingeniería de tejidos, el PCL se utiliza debido a su capacidad para generar estructuras porosas que favorecen la regeneración ósea. Utilizando técnicas como el electrospinning y la impresión 3D se logra la producción de andamios de PCL con alta porosidad, facilitando la adhesión y proliferación celular<sup>34</sup>.

Cuando se combina con otros componentes, como la Col, algunas gelatinas, ácido hialurónico o nanotubos de carbono, se logran andamios con mejores propiedades que promueven la adhesión, proliferación y diferenciación celular<sup>35</sup>.

El uso del PCL en la regeneración ósea ha sido respaldado por estudios clínicos y experimentales. Un análisis mediante micro-CT y cortes histológicos demostró la formación de hueso mineralizado en alvéolos tratados con andamios de PCL, lo que sugiere que este material no solo permite una cicatrización ósea normal, sino que también ayuda a mantener la altura del reborde alveolar<sup>36</sup>.

En investigaciones recientes se observó que la combinación de PCL con fosfato de calcio, hidroxiapatita y nanopartículas bioactivas potencia su capacidad osteogénica, debido a que, estimula la proliferación de células madre mesenquimales y la formación de matriz ósea<sup>6</sup>.

Las técnicas de modificación superficial, como el tratamiento con plasma o la adición de factores de crecimiento, han demostrado mejorar su bioactividad y la adhesión celular<sup>33</sup>.

En odontología regenerativa, el PCL ha dado indicios de ser un material efectivo para la preservación de la cresta alveolar tras una extracción dental, ayudando a prevenir la reabsorción ósea y facilitando la colocación de implantes dentales<sup>37</sup>.

Un estudio clínico aleatorizado mostró que los alvéolos tratados con andamios de PCL presentaban una mejor conservación de la altura del reborde en comparación con los sitios sin intervención<sup>36</sup>.

La combinación de PCL con  $\beta$ -tricalcio fosfato (PCL-TCP) ha mostrado mejoras en la osteointegración y en la tasa de regeneración ósea en defectos alveolares, proporcionando un andamio adecuado para la formación de nuevo tejido óseo sin afectar el proceso de curación.

La lenta degradación del PCL puede representar tanto una ventaja como una limitación, si bien su durabilidad permite un soporte estructural prolongado, en algunos casos puede interferir con la formación de nuevo hueso si el material no se reabsorbe a un ritmo adecuado<sup>32</sup>.

Se han buscado estrategias para optimizar su tasa de degradación, Dwivedi et al en el 2020 combinaron el PCL con otros polímeros, para acelerar su degradación, Khadry en el 2023 llevó a cabo la modificación de la superficie con plasma o HA para incrementar la bioactividad y también adicionó óxidos metálicos como el  $\text{TiO}_2$  mejorando su tasa de degradación y aumentando su capacidad osteogénica<sup>32,33</sup>.

El PCL es un material con aplicaciones muy prometedoras, su combinación con otros biomateriales y su funcionalización con nanopartículas y factores de crecimiento pueden elevar su desempeño en la regeneración ósea y la PCA.

### **3.5 Dióxido de Titanio ( $\text{TiO}_2$ )**

El  $\text{TiO}_2$  es un material inorgánico que se ha estudiado mucho debido a sus múltiples aplicaciones en diversos campos, como la medicina y la tecnología.

Este interés por investigarlo se debe a su capacidad fotoactiva, que le permite generar especies reactivas de oxígeno (ROS) al exponerse a la luz ultravioleta (UV). Gracias a que estas ROS pueden inducir muerte celular, se ha llevado a su uso en terapias fotodinámicas tanto para el tratamiento del cáncer como para la desinfección de bacterias resistentes a los antibióticos<sup>38,39</sup>.

Las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  ( $\text{NPsTiO}_2$ ) tienen un tamaño que oscila entre 1 y 100 nanómetros y presentan propiedades únicas debido a su alta relación superficie-volumen, lo que las hace extremadamente reactivas. Se usan ampliamente en la fototerapia dinámica para el tratamiento de tumores malignos y la inactivación fotodinámica de bacterias resistentes a antibióticos<sup>38</sup>.

Estas  $\text{NPsTiO}_2$  han demostrado efectos antimicrobianos y fotocatalíticos, lo que les permite emplearse en medicina regenerativa para la regeneración de tejidos óseos y dérmicos<sup>40</sup>.

El  $\text{TiO}_2$  presenta tres fases cristalinas principales, la anatasa es la fase más utilizada en aplicaciones fotocatalíticas debido a su alta actividad bajo la luz UV,

facilitada por su estructura tetragonal y su brecha energética de 3.2 eV. Se ha demostrado que esta fase es altamente efectiva en la generación de ROS y en la eliminación de contaminantes, además de desempeñar un papel crucial en aplicaciones biomédicas como la terapia fotodinámica<sup>38,39</sup>.

El rutilo es la fase más estable a altas temperaturas y posee una estructura tetragonal con un menor vacío energético (3.0 eV), esto reduce su eficiencia en procesos fotocatalíticos bajo luz UV. Sin embargo, es ampliamente empleado en industrias como la producción de pigmentos para pinturas, plásticos y cosméticos, debido a su alta refracción y opacidad.

La fase brookita es la menos estudiada, presenta una estructura ortorrómbica y, en determinadas condiciones, ofrece una elevada actividad fotocatalítica. No obstante, debido a su inestabilidad en comparación con la anatasa y el rutilo, no es tan usado en aplicaciones industriales y médicas.

Las NPsTiO<sub>2</sub> han sido combinadas con polímeros como el quitosano y la poli(N-vinilpirrolidona) para desarrollar apósitos que tengan propiedades antimicrobianas y excelente biocompatibilidad. En el campo de la regeneración ósea, estas nanopartículas han demostrado alta biocompatibilidad y actividad osteoinductora, ayudan a la adhesión celular y la proliferación de osteoblastos<sup>41</sup>.

Se ha observado que la modificación de la superficie de las NPsTiO<sub>2</sub> mediante irradiación UV mejora su hidrofobicidad y promueve la osteointegración<sup>42</sup>.

Se han propuesto estrategias para mejorar la funcionalidad de las NPsTiO<sub>2</sub> en la regeneración ósea. El dopaje con silicio ha demostrado favorecer la angiogénesis, promoviendo la formación de nuevos vasos sanguíneos en el tejido óseo regenerado<sup>43</sup>.

La combinación de NPsTiO<sub>2</sub> con hidroxiapatita y Col también se ha visto que es efectiva como una estrategia para mejorar la osteoconductividad y estabilidad del material implantado<sup>40</sup>.

Se han hecho estudios en modelos animales que han demostrado que el uso de NPsTiO<sub>2</sub> en andamios porosos promueve la formación de nuevo tejido óseo en defectos óseos, lo que sugiere su potencial aplicación en la PCA<sup>5</sup>.

De manera parecida, la combinación de NPsTiO<sub>2</sub> con biomateriales como hidroxiapatita y quitosano ha mostrado resultados favorables en la regeneración de defectos óseos peri-implantarios<sup>41</sup>.

Con estas investigaciones se observa que las NPsTiO<sub>2</sub> tienen potencial en el desarrollo de estrategias avanzadas para la regeneración ósea, en la medicina regenerativa y podría ser útil en la PCA.

## 4. Métodos

### 4.1 Diseño general

Experimental *in vitro*

### 4.2 Material.

- Esponjas hemostáticas de uso comercial (Spongostan)
- PCL (Mw 92,000 Da, Sigma Aldrich)
- $\text{NPsTiO}_2$  (Tamaño de partícula: 20 nm, Sigma Aldrich)
- Agitador magnético
- Vasos de precipitados de 10ml marca PYREX
- Campana de extracción
- Cámara de luz UV
- Soporte para secado de las esponjas
- Platos de cultivo de 96 pozos
- Wst-1
- Cell tracker
- DAPI

### 4.3 Tamaño de muestra.

Un total de 30 muestras fueron preparadas, las cuales se dividieron en dos grupos.

### 4.4 Grupos.

Grupo control: Esponjas sin funcionalizar.

Grupo experimental: Esponjas funcionalizadas con la solución de PCL y  $\text{NPsTiO}_2$ .

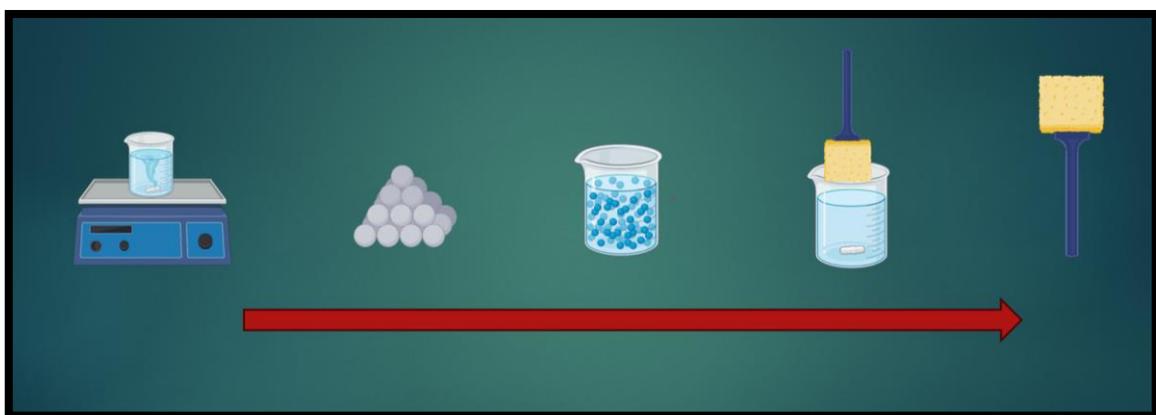
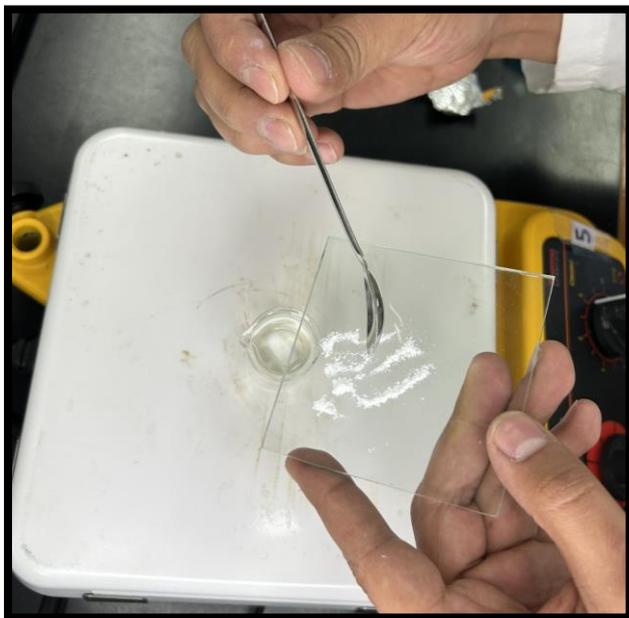


Figura 5. Metodología

## 4.5 Funcionalización de la esponja

Se inició la mezcla mediante un vaso de precipitado de 10 mL (PYREX) se llevó a cabo una solución de PCL al 6% (Peso/Volumen), a través de gránulos de PCL ( $M_w = 192,000$ ; Sigma-Aldrich) y utilizando una combinación de cloroformo con acetona en una proporción 3:1. La solución se mantuvo bajo una agitación magnética por 4 horas.



**Figura 6. Incorporación de nanopartículas de  $TiO_2$**

Una vez obtenida esta solución, se le incorporó 0.03 gramos de nanopartículas de dióxido de titanio ( $NPsTiO_2$ ) (Sigma-Aldrich) con un tamaño promedio de partícula de 21 nm (Figura 6), manteniéndose en agitación magnética hasta conseguir una mezcla uniforme. Posteriormente las esponjas de colágena (Spongostan) fueron introducidas a la solución (Figura 7) para funcionalizarse por absorción. Una vez funcionalizadas fueron colocadas en un soporte para su secado durante 24 horas (Figura 8). Finalmente, las muestras fueron sometidas a luz UV para su esterilización.



Figura 7. Solución de PCL + NP<sub>s</sub>TiO<sub>2</sub>

#### 4.6 Caracterización fisicoquímica

Las esponjas funcionalizadas (PCL/NP<sub>s</sub>TiO<sub>2</sub>) de Col fueron sometidas a un riguroso proceso de caracterización para establecer sus características y calidad. Se empleó la Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR) utilizando el equipo Shimadzu IR Affinity-1S con un rango de longitud de onda de 400 a 4000 cm<sup>-1</sup>.



Figura 8. Secado de las esponjas funcionalizadas

Por otro lado, se realizó una Difracción de Rayos X (D-RX) utilizando un difractómetro Siemens D-500 operado con radiación Cu K $\alpha$  ( $k = 1.5406 \text{ \AA}$ ) a 34 kV y 25 mA. El difractograma fue corrido entre los rangos de 0.5° - 8.0° (2 $\theta$ ), se utilizó la carta cristalográfica (JCPD 01-089-491) como referencia para el TiO<sub>2</sub>.

Finalmente, se realizó la Microscopía Electrónica de Barrido (ZEISS EVO 15), se observó la estructura superficial, ofreciendo imágenes de alta resolución que

revelaron la disposición, así como la adhesión de las  $\text{NP}\text{sTiO}_2$  y PCL en la esponja de colágena.

#### 4.7 Estudios *In Vitro*

Para los ensayos biológicos se obtuvieron dos grupos, esponjas de colágena (control) y de esponjas funcionalizadas ( $\text{PCL}+\text{NP}\text{sTiO}_2$ ), fueron colocadas en una placa de cultivo de 48 pozos y esterilizadas por radiación UV. La viabilidad celular se llevó a cabo sembrando células de osteoblastos fetales humanos (hFOB 1.19, ATCC) a una concentración de  $1 \times 10^4$  cells/mL por triplicado en cada uno de los grupos (control y funcionalizado) y utilizando el reactivo WST-1 a los días 3, 7, 10 y 14 de cultivo. (Fig. 9)

En los días establecidos las muestras fueron lavadas con PBS e incubadas con 200  $\mu\text{L}$  de medio de cultivo nuevo que contiene 20  $\mu\text{L}$  del reactivo WST-1 por 4 horas a 37 °C. Pasado el tiempo, los 200  $\mu\text{L}$  fueron removidos y colocados en un plato de lectura de 96 pozos y llevado a lectura para cuantificar la absorbancia mediante un espectrofotómetro (ChroMate, Awareness Technology) a una longitud de onda de 545 nm.

En el ensayo de fluorescencia se utilizaron solo las esponjas de colágena funcionalizadas, en las cuales se llevó a cabo un cultivo de hFOB y se aplicaron dos tinciones Cell-tracker y DAPI.

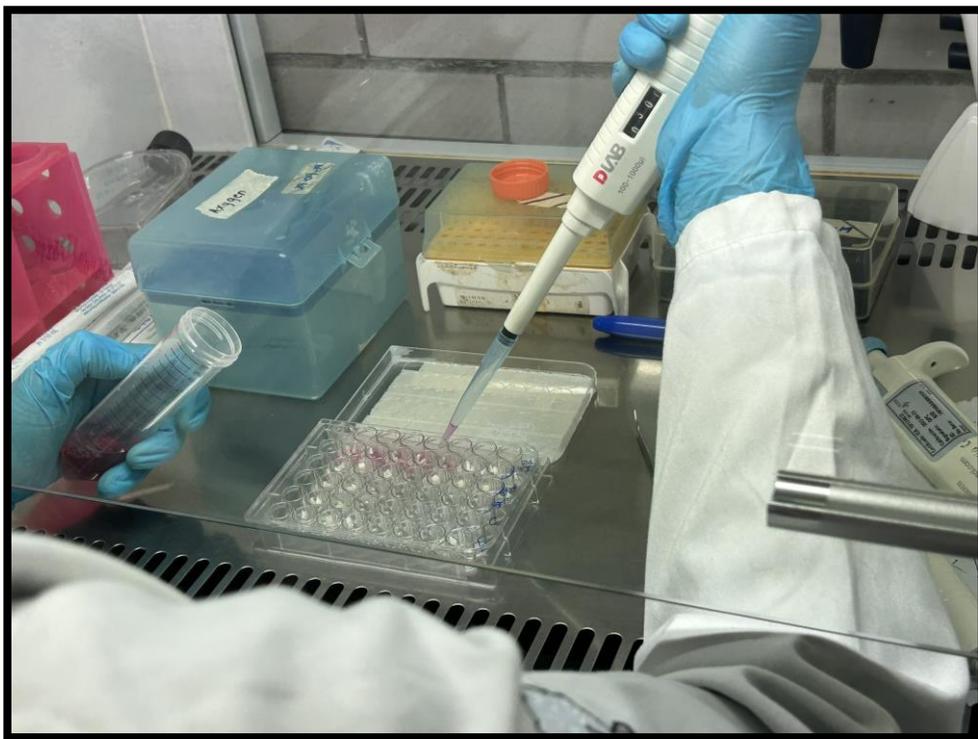


Figura 9. Ensayo WST-1

## 5. Ética

El estudio llevado a cabo no incluyó ningún tipo de elemento o muestra procedente de personas o animales, suprimiendo de esta manera cualquier

inconveniente ético asociado con la utilización de estos materiales, sin embargo, fue autorizado por el comité de ética con número CIE/05XX/11/2023.

## 6. Estadística

Se utilizó una prueba estadística ANOVA de dos vías utilizando el software GraphPad Prims. Se consideró como resultados una  $p < 0.05$ .

## 7. Resultados

### 7.1 Espectroscopía Infrarroja

La Figura 10 muestra el espectro de infrarrojo (FTIR) del grupo funcionalizado, donde se identifican diversas bandas de absorción características. Cerca de  $3300\text{ cm}^{-1}$ , se observa una banda atribuida al estiramiento N-H, propio de los grupos amida, mientras que alrededor de  $2900\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda correspondiente al estiramiento C-H, asociado a los grupos alquilo del PCL. Aproximadamente en  $1750\text{ cm}^{-1}$ , se distingue una banda atribuida al estiramiento del enlace C=O, característico de los grupos carbonilo en los ésteres del PCL. Finalmente, en la región comprendida entre  $1500$  y  $1000\text{ cm}^{-1}$ , se identifican señales relacionadas con las vibraciones simétricas y asimétricas de los enlaces C-O-C, típicos de estructuras tipo éster.

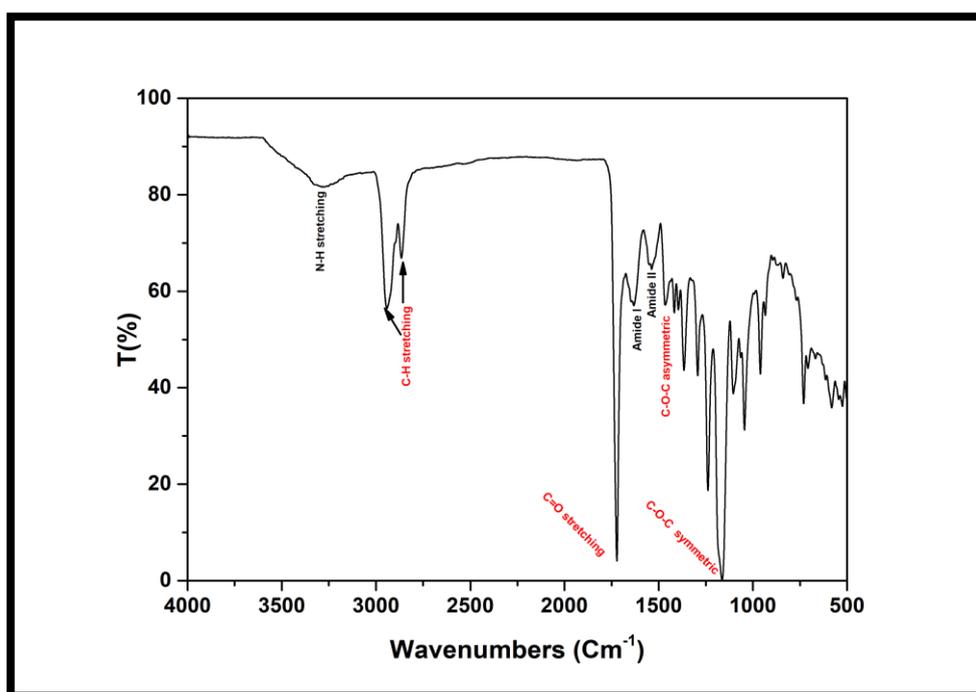


Figura 100. Espectroscopía Infrarroja de esponja funcionalizada

### 7.2 Difracción de Rx

La figura 11 muestra el difractograma del grupo funcionalizado (PCL + $\text{NPsTiO}_2$ ), en el cual se observan tres picos en los grados ( $2\theta$ )  $21.4^\circ$ ,  $23.9^\circ$  y  $25.3^\circ$  que

corresponden a los planos (110), (200) y (101) respectivamente. Los planos (110), (200) se relacionan con la estructura cristalina del PCL (Policaprolactona), mientras que el plano (101) se asocia con la estructura cristalina del  $\text{TiO}_2$  (dióxido de titanio) en su etapa anatasa. Esto de acuerdo con la carta cristalográfica (JCPD 01-089-491).

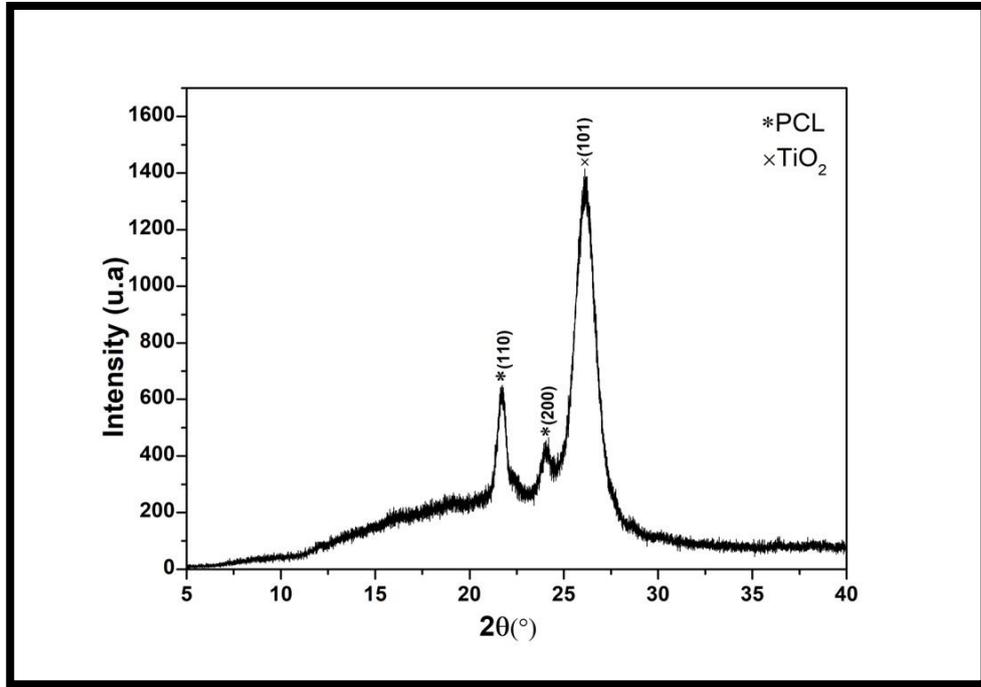


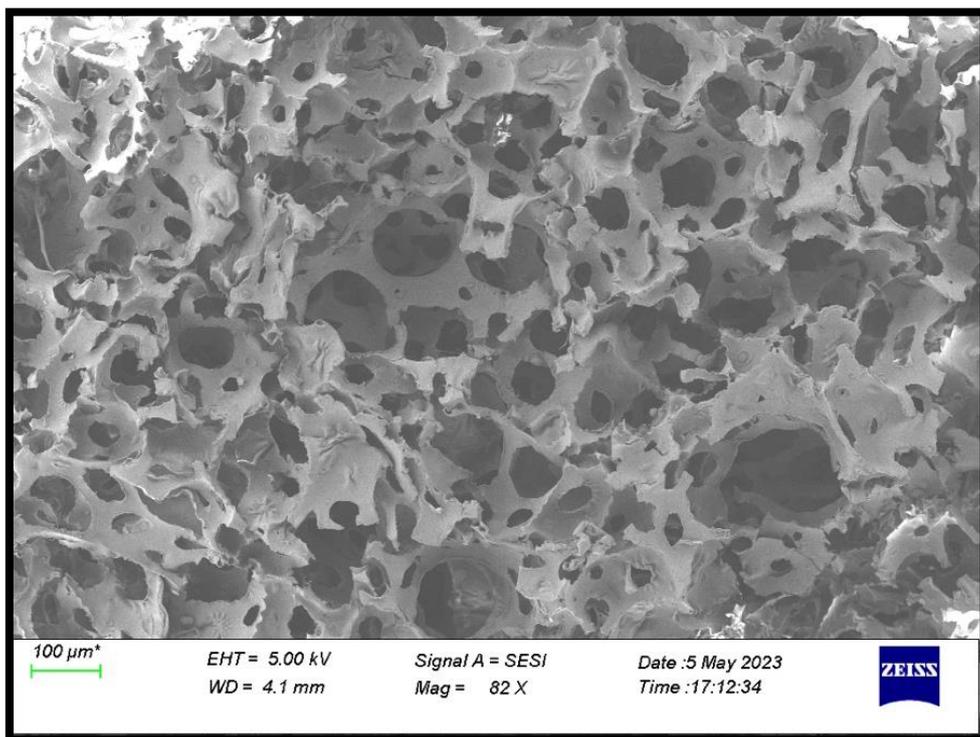
Figura 11. Difractograma de la esponja funcionalizada

## 7.3 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

### 7.3.1 MEB de la esponja de colágena sin funcionalizar

En la Figura 12 se puede apreciar la micrografía de la esponja de colágena sin modificaciones a un aumento de 82X. La estructura se ve altamente porosa con poros de diferentes tamaños y paredes delgadas; mostrando una morfología heterogénea, con algunas regiones donde los poros parecen colapsados o parcialmente cerrados.

La interconexión entre los poros que se observan, indica que la esponja tiene una arquitectura adecuada para la difusión de fluidos y la migración celular. Sin embargo, la distribución irregular de los poros podría influir negativamente en su estabilidad mecánica.



**Figura 11. MEB de la esponja de colágena sin funcionalizar**

### **7.3.2 MEB de la Esponja de colágena funcionalizada**

Después de hacer la funcionalización de la esponja de colágena con PCL y  $\text{NPsTiO}_2$ , se observó una modificación morfológica en la esponja, como se muestra en la Figura 13. Esta imagen, se obtuvo a un aumento de 100X y revela una estructura más homogénea con el tamaño de los poros más uniformes. Se observan regiones donde el material polimérico ha formado una capa delgada alrededor de la matriz colagénica, obteniendo una integración adecuada

Se observan paredes más definidas y menor presencia de colapsos en los poros, pudiendo otorgar una mejora en la estabilidad estructural. La funcionalización le podría estar dando a la esponja una diferente rugosidad superficial, lo que favorecería la adhesión celular y la biocompatibilidad del material.

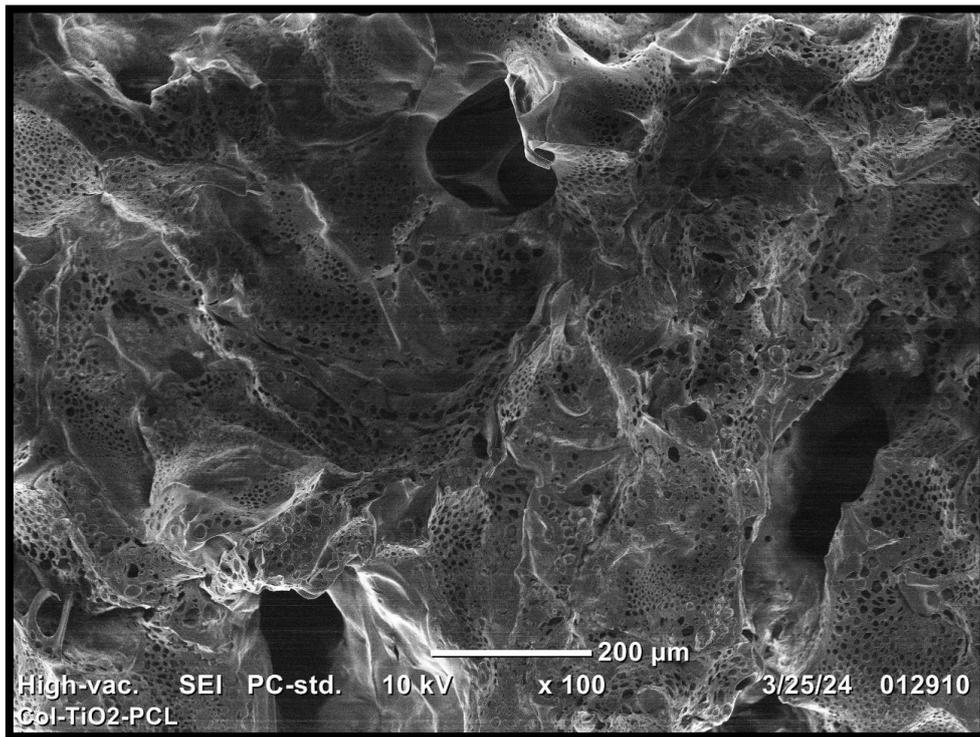


Figura 12. MEB de la Esponja de colágena funcionalizada

### 7.3.2 MEB de la esponja funcionalizada después del cultivo celular

Para evaluar la interacción del biomaterial con las células, se analizó la esponja funcionalizada después del cultivo celular mediante MEB a 59X (Figura 14). La micrografía muestra la presencia de estructuras celulares adheridas a la matriz,

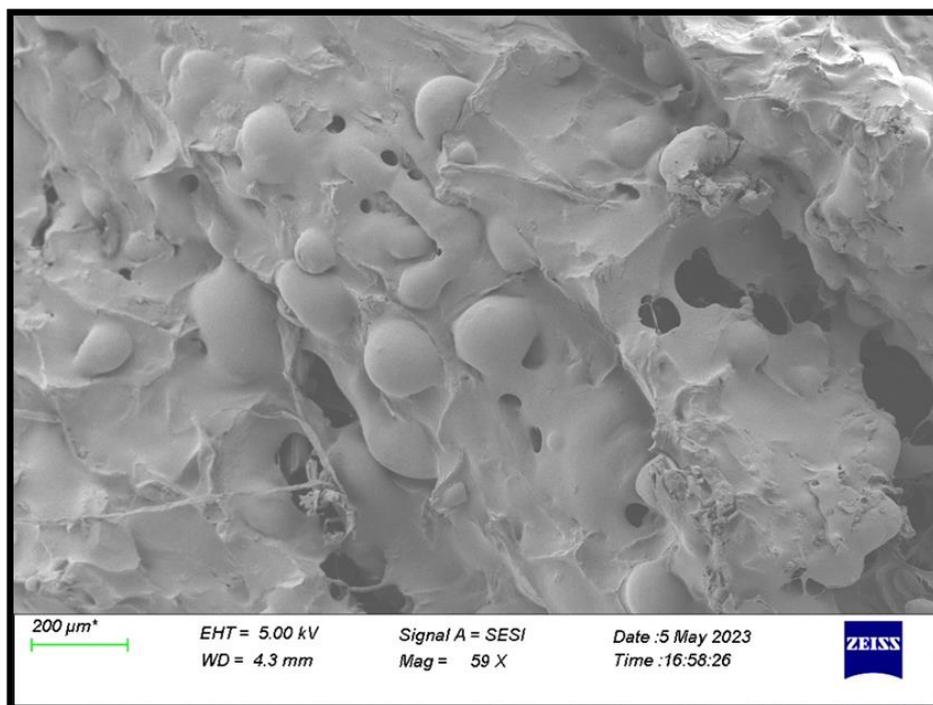


Figura 13. MEB de la Esponja de colágena funcionalizada posterior al cultivo celular

con una morfología alargada que indica que las células se han adherido y están proliferando.

Se observan cambios estructurales en la superficie de la esponja en comparación con la imagen anterior al cultivo celular, con algunas áreas recubiertas por una capa densa, que posiblemente sea compuesta por células y matriz extracelular secretada. La distribución de estos elementos indica que la esponja funcionalizada con PCL y  $\text{NP}\text{sTiO}_2$  ayuda a la adhesión celular.

## 7.4 Estudios *In Vitro*

### 7.4.1 Ensayo de WST-1

La figura 15 presenta la gráfica del estudio de viabilidad celular utilizando el método WST-1 para comparar la esponja funcionalizada con la esponja control.

Durante el primer día, se nota una viabilidad celular parecida entre las dos esponjas, aunque un poco menor en la esponja en funcionalizada. En el quinto día, los dos grupos muestras evidencian un incremento considerable en la viabilidad celular, logrando niveles parecidos.

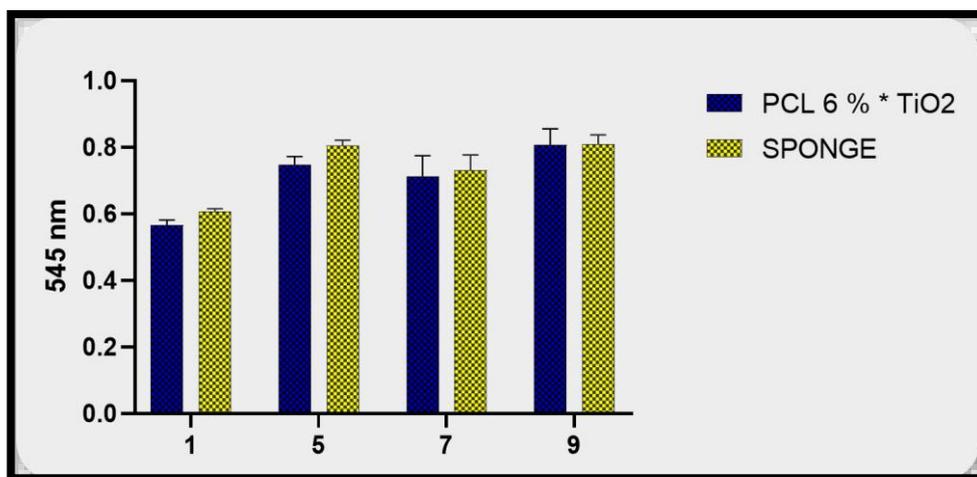


Figura 14. Gráfica del ensayo WST-1

En el séptimo día, se observa una leve reducción de la viabilidad en la esponja modificada en relación con el quinto día, mientras que la esponja de control conserva su nivel de viabilidad. En el día 9, los niveles de viabilidad celular en los dos grupos son bastante parecidos.

A pesar de que la esponja modificada presenta una ligera reducción de viabilidad en algunos momentos (día 1 y día 7), por lo general, el crecimiento celular se mantiene similar al de la esponja control. Esto implica que el funcionamiento con PCL y  $\text{NP}\text{sTiO}_2$  no provoca un impacto negativo considerable en la viabilidad celular durante los periodos de cultivo evaluados.

## 7.4.2 Fluorescencia

En la figura 16 se muestran las fotos del ensayo de fluorescencia con dos tipos de tinción (DAPI y Cell-Tracker) y tres aumentos diferentes (4X, 10X y 20X).

En la primera fila (A, B, C) se pueden observar las imágenes con tinción DAPI, esta tinción tiñe los núcleos celulares en azul, se visualiza una distribución uniforme de las células sobre la esponja.

La segunda fila (D, E, F) muestra la tinción Cell-Tracker, que marca el citoplasma de las células vivas en verde, muestra de igual manera células presentes en la esponja y con una distribución homogénea.

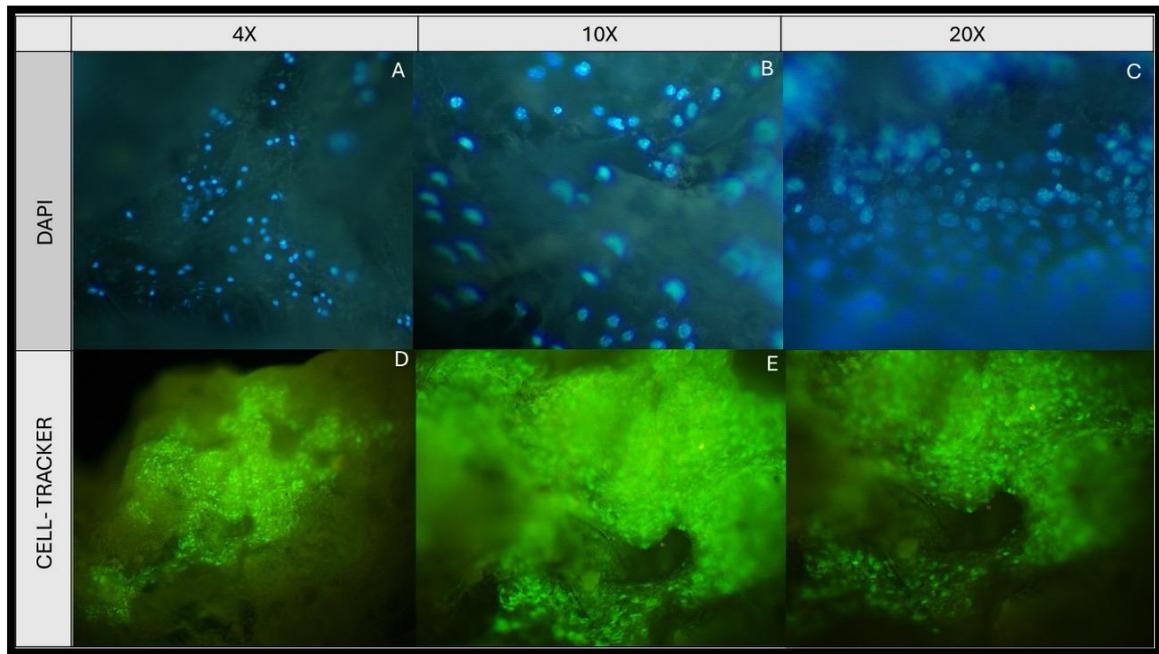


Figura 15. Ensayo de fluorescencia

## 8. Discusión

La preservación de la cresta alveolar es importante para mantener el soporte óseo después de una extracción dental, evitando la reabsorción ósea y facilitando la rehabilitación.

Gracias a los resultados obtenidos en el presente estudio se puede decir que la funcionalización de las esponjas de colágena con PCL y NPsTiO<sub>2</sub> han modificado favorablemente las propiedades fisicoquímicas y biológicas del biomaterial.

Los picos observados en los planos (110) y (200) en la DR-X se asocian claramente a la estructura cristalina del PCL, mientras que el pico correspondiente al plano (101) coincide con la fase anatasa del TiO<sub>2</sub>.

Estos hallazgos corroboran que la funcionalización permitió integrar exitosamente ambos componentes en la esponja de colágena, sin ningún cambio en su estructura química,

El análisis por FTIR aportó información adicional sobre la integración de los componentes, detectando bandas características correspondientes a los grupos funcionales del PCL (enlaces C-H y C=O) y las interacciones presentes en la matriz colagénica (enlaces N-H).

Estas señales indican que el proceso de funcionalización preserva la estructura original de la colágena, y además permite una interacción estable entre el polímero y las nanopartículas, lo que según Khedary et al, es fundamental para mejorar la integridad y estabilidad mecánica del biomaterial<sup>33</sup>.

La MEB mostró diferencias morfológicas notables entre la esponja de colágena sin funcionalizar y la funcionalizada. En el grupo control se observó una estructura porosa con interconexión variable de poros, característica que ayuda a la difusión de nutrientes y a la migración celular, pero que podría limitar su estabilidad mecánica.

En la esponja funcionalizada se observó una estructura más homogénea y con paredes más definidas, lo que sugiere que la capa de PCL incorporada, junto con la presencia de NPsTiO<sub>2</sub>, mejora la rigidez y cohesión del andamio.

Esto es muy relevante, debido a que, una mayor estabilidad estructural es esencial para mantener el contorno del reborde alveolar y prevenir la reabsorción ósea postextracción<sup>16,18</sup>.

Las imágenes obtenidas después del cultivo celular mediante MEB demostraron una adhesión y proliferación de las células hFOB sobre la superficie de la esponja funcionalizada. Esta presencia de células podría indicar que la modificación superficial inducida por el PCL y NPsTiO<sub>2</sub> no solo mejora las propiedades mecánicas del biomaterial, sino que también crea un entorno favorable para la colonización celular.

Este hallazgo concuerda con estudios recientes de Yazdanian y Mihardi en los que demostraron que la incorporación de  $\text{NPsTiO}_2$  puede mejorar la osteointegración y la adhesión celular, promoviendo la formación de tejido óseo<sup>5,40</sup>.

Los estudios *in vitro* mediante el ensayo de viabilidad celular (WST-1) mostraron que, aunque al principio viabilidad celular fue ligeramente menor en las esponjas funcionalizadas, a partir del quinto día se observó un incremento significativo en la proliferación celular en ambos grupos, alcanzando niveles comparables.

En general se observa que el biomaterial es biocompatible y soporta el crecimiento celular de manera adecuada. Estos resultados los podemos comparar con lo que reportaron “Sano y Jo” donde evaluaron la respuesta celular en andamios compuestos por PCL y compuestos inorgánicos, confirmando su potencial en aplicaciones de regeneración ósea<sup>37,44</sup>.

La tinción por fluorescencia, utilizando DAPI y Cell-Tracker, reforzó los hallazgos del ensayo de viabilidad, al mostrar una distribución uniforme de núcleos celulares y la presencia de citoplasma en células viables sobre la esponja funcionalizada.

Esto confirma la biocompatibilidad del material, y también indica que la modificación con PCL y  $\text{NPsTiO}_2$  contribuye a un ambiente que favorece la adhesión y proliferación celular, aspectos fundamentales para la regeneración del tejido óseo en procedimientos de preservación alveolar.

Otros estudios como los de Goh y Dwivedi destacan la importancia de incorporar biomateriales como el PCL y  $\text{NPsTiO}_2$ , para mejorar las propiedades de andamios en regeneración ósea tal y como se hizo en estas esponjas funcionalizadas<sup>32,36</sup>.

Es importante reconocer algunas limitaciones del estudio. La evaluación *in vitro*, aunque es fundamental para establecer la biocompatibilidad y respuesta celular inicial, necesita ser complementada con estudios *in vivo* que permitan valorar el comportamiento del biomaterial en condiciones fisiológicas y su eficacia real en la preservación del volumen alveolar.

También se requiere hablar de la tasa de degradación del PCL, que puede representar tanto una ventaja como una limitación, debe ser optimizada para asegurar que el material actúe como soporte temporal sin interferir en la formación de nuevo tejido óseo a largo plazo. Se recomienda hacer un ensayo de degradación para saber la tasa de degradación la esponja funcionalizada.

Estos hallazgos son la base para futuras investigaciones en las que se puedan explorar combinaciones adicionales con factores de crecimiento u otros compuestos bioactivos, con el fin de potenciar aún más la capacidad osteoinductora y osteoconductiva del biomaterial.

## 9. Conclusiones

Se demostró que la integración de PCL y NPsTiO<sub>2</sub> en las esponjas de colágena, sin cambios en la naturaleza de los materiales es posible con la metodología empleada.

Se observó que la mejora en la homogeneidad y estabilidad estructural, junto con una adecuada adhesión y proliferación celular, da la posibilidad al nuevo material a utilizarse para la preservación de la cresta alveolar.

Aunque se observó una leve variación en la viabilidad celular en las primeras etapas, no hubo diferencia significativa con el grupo control, reafirmando la biocompatibilidad de la esponja funcionalizada con las concentraciones utilizadas.

Los hallazgos de este estudio indican que la incorporación de PCL y NPsTiO<sub>2</sub> en esponjas de colágena representa una estrategia prometedora para la preservación de la cresta alveolar.

Se reconoce la necesidad de complementar estos resultados con estudios *in vivo* que permitan evaluar el comportamiento del biomaterial en condiciones fisiológicas y determinar su eficacia a largo plazo.

En futuras investigaciones se podría complementar la metodología con la integración de factores de crecimiento u otros compuestos bioactivos para potenciar aún más la osteoconductividad y lograr una regeneración tisular más predecible.

## 10. Financiamiento

Se agradece al proyecto DGAPA PAPIT IN208324 por los recursos brindados para esta investigación.

## 11. Referencias

1. World Health Organization. Salud bucodental. *Oral health* <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health> (2024).
2. Abrams, H., Kopczyk, R. A. & Kaplan, A. L. Incidence of anterior ridge deformities in partially edentulous patients. *J. Prosthet. Dent.* **57**, 191–194 (1987).
3. Oghli, A. A. & Steveling, H. Ridge preservation following tooth extraction: A comparison between atraumatic extraction and socket seal surgery. *QUINTESSENCE Int.* **41**, 2010.
4. Natto, Z. S., Parashis, A. O. & Jeong, Y. N. Soft-Tissue Changes After Using Collagen Matrix Seal or Collagen Sponge With Allograft in Ridge Preservation: A Randomized Controlled Volumetric Study. *J. Oral Implantol.* **46**, 588–593 (2020).
5. Mirhadi & Nemati. Synthesis and Characterization of Highly Porous TiO<sub>2</sub> Scaffolds for Bone Defects. *Int. J. Eng.* **33**, (2020).
6. Lima, R. B. W., Troconis, C. C. M., Moreno, M. B. P., Murillo-Gómez, F. & De Goes, M. F. Depth of cure of bulk fill resin composites: A systematic review. *J. Esthet. Restor. Dent.* **30**, 492–501 (2018).
7. *Newman and Carranza's Essentials of Clinical Periodontology: An Integrated Study Companion.* (Elsevier, Amsterdam, 2022).
8. Short, M. J. & Levin-Goldstein, D. *Head, Neck & Dental Anatomy.* (Cengage, Boston, MA, 2022).
9. *Periodontología clínica e implantología odontológica.* (Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 2017).
10. Raspall, G. *Cirugía maxilofacial: patología quirúrgica de la cara, boca, cabeza y cuello.* (Ergon, Majadahonda, Madrid, 2018).
11. Araújo, M. G. & Lindhe, J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J. Clin. Periodontol.* **32**, 212–218 (2005).
12. Di Stefano, D. A. & Cazzaniga, A. *Tecniche rigenerative e ricostruttive in chirurgia implantare.* (Elsevier, Milano [Italy], 2012).
13. Newman, M. G., Klokkevold, P. R., Elangovan, S. & Hernandez-Kapila, Y. L. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology and Implantology.* (Elsevier, St. Louis, Missouri, 2024).
14. Tallgren, A. The continuing reduction of the residual alveolar ridges in complete denture wearers: A mixed-longitudinal study covering 25 years. *J. Prosthet. Dent.* **27**, 120–132 (1972).
15. Rinaldi, M. & Mottola, A. *Manejo de obstáculos anatómicos en cirugía implantar: implantología guiada por computadora - injertos óseos.* (Amolca (Actualidades Médico Odontológicas Latinoamericanas), Caracas, 2011).
16. Jung, R. E., Ioannidis, A., Hämmerle, C. H. F. & Thoma, D. S. Alveolar ridge preservation in the esthetic zone. *Periodontol.* **2000** **77**, 165–175 (2018).
17. Kalsi, A. S., Kalsi, J. S. & Bassi, S. Alveolar ridge preservation: why, when and how. *Br. Dent. J.* **227**, 264–274 (2019).
18. Araújo, M. G., Sukekava, F., Wennström, J. L. & Lindhe, J. Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *J. Clin. Periodontol.* **32**, 645–652 (2005).
19. Alqahtani, A. M. Guided Tissue and Bone Regeneration Membranes: A Review of Biomaterials and Techniques for Periodontal Treatments. *Polymers* **15**, 3355 (2023).

20. Lee, J. *et al.* Effects of hyaluronic acid and deproteinized bovine bone mineral with 10% collagen for ridge preservation in compromised extraction sockets. *J. Periodontol.* **92**, 1564–1575 (2021).
21. Tiainen, H., Verket, A., Haugen, H. J., Lyngstadaas, S. P. & Wohlfahrt, J. C. Dimensional Ridge Preservation with a Novel Highly Porous TiO<sub>2</sub> Scaffold: An Experimental Study in Minipigs. *Int. J. Biomater.* **2012**, 1–9 (2012).
22. Einhorn, T. A. & Gerstenfeld, L. C. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nat. Rev. Rheumatol.* **11**, 45–54 (2015).
23. Mardas, N., Macbeth, N., Donos, N., Jung, R. E. & Zuercher, A. N. Is alveolar ridge preservation an overtreatment? *Periodontol. 2000* **93**, 289–308 (2023).
24. Fan, L. *et al.* The Use of Collagen-Based Materials in Bone Tissue Engineering. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 3744 (2023).
25. Sheikh, Z. *et al.* Collagen based barrier membranes for periodontal guided bone regeneration applications. *Odontology* **105**, 1–12 (2017).
26. Geiger, M. Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **55**, 1613–1629 (2003).
27. D'Amico, E. *et al.* Hemostatic Collagen Sponge with High Porosity Promotes the Proliferation and Adhesion of Fibroblasts and Osteoblasts. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 7749 (2023).
28. Durham, E. L. *et al.* Optimizing bone wound healing using BMP2 with absorbable collagen sponge and Talymed nanofiber scaffold. *J. Transl. Med.* **16**, 321 (2018).
29. Chun, H. J. *Novel Biomaterials for Regenerative Medicine*. (Springer, Singapore, 2018).
30. D'Amico, E. *et al.* Hemostatic Collagen Sponge with High Porosity Promotes the Proliferation and Adhesion of Fibroblasts and Osteoblasts. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 7749 (2023).
31. Ulery, B. D., Nair, L. S. & Laurencin, C. T. Biomedical applications of biodegradable polymers. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **49**, 832–864 (2011).
32. Dwivedi, R. *et al.* Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: Review of literature. *J. Oral Biol. Craniofacial Res.* **10**, 381–388 (2020).
33. Khdary, N. H., Almuarqab, B. T. & El Enany, G. Nanoparticle-Embedded Polymers and Their Applications: A Review. *Membranes* **13**, 537 (2023).
34. Lien, W., Roberts, H. & Vandewalle, K. Hardness Development in Resin Composite Core Materials. *J. Prosthodont. Off. J. Am. Coll. Prosthodont.* **31**, 305–313 (2022).
35. Wang, H. A Review of the Effects of Collagen Treatment in Clinical Studies. *Polymers* **13**, 3868 (2021).
36. Goh, B. T., Teh, L. Y., Tan, D. B. P., Zhang, Z. & Teoh, S. H. Novel 3 D polycaprolactone scaffold for ridge preservation – a pilot randomised controlled clinical trial. *Clin. Oral Implants Res.* **26**, 271–277 (2015).
37. Sano, T. *et al.* Biomaterials for Alveolar Ridge Preservation as a Preoperative Procedure for Implant Treatment: History and Current Evidence. *Bioengineering* **10**, 1376 (2023).
38. Ziental, D. *et al.* Titanium Dioxide Nanoparticles: Prospects and Applications in Medicine. *Nanomaterials* **10**, 387 (2020).
39. Eldebany, N. *et al.* Gelatin Loaded Titanium Dioxide and Silver Oxide Nanoparticles: Implication for Skin Tissue Regeneration. *Biol. Trace Elem. Res.* **199**, 3688–3699 (2021).

40. Yazdani, A., Jahandideh, A. & Hesaraki, S. The effect of green synthesis of TiO<sub>2</sub> nanoparticles/collagen/HA scaffold in bone regeneration: As an animal study. *Vet. Med. Sci.* **9**, 2342–2351 (2023).
41. Hovazi, E. & Rostami, E. Fabrication characterization and biological applications of TiO<sub>2</sub> nanoparticles coated by chitosan. *Nanomedicine Res. J.* **8**, (2023).
42. Kim, H.-J., Ferracane, J. L., Park, M. & Choi, K.-K. Effect of ethyl cellulose coating as an evaluation agent against contamination on the bond strength of zirconia restorations: An *in vitro* study. *J. Prosthet. Dent.* **127**, 766.e1-766.e9 (2022).
43. Ding, Z. *et al.* Si-doped porous TiO<sub>2</sub> coatings enhanced *in vitro* angiogenic behavior of human umbilical vein endothelial cells. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **159**, 493–500 (2017).
44. Jo, D. *et al.* A randomized controlled clinical trial evaluating efficacy and adverse events of different types of recombinant human bone morphogenetic protein-2 delivery systems for alveolar ridge preservation. *Clin. Oral Implants Res.* **30**, 396–409 (2019).