

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



CAPACIDAD OSTEOINDUCTORA DE UN ANDAMIO SOBRE
CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES DEL
LIGAMENTO PERIODONTAL

Por

C.D. VALERIA MONTSERRAT REA HERNÁNDEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de
Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Periodoncia con Implantología Oral

“Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de
Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM: IN226124”

Febrero, 2026

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Periodoncia con Implantología Oral

CAPACIDAD OSTEOINDUCTORA DE UN ANDAMIO SOBRE
CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES DEL
LIGAMENTO PERIODONTAL

Comité Académico

Presidente

Secretario

Vocal

CAPACIDAD OSTEOINDUCTORA DE UN ANDAMIO SOBRE
CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES DEL
LIGAMENTO PERIODONTAL



C.D. Valeria Montserrat Rea Hernández
TESISTA

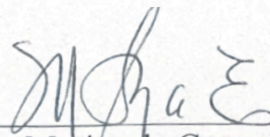
Comité de tesis



Dra. Norma Idalia Rodríguez Franco
DIRECTOR INTERNO DE TESIS



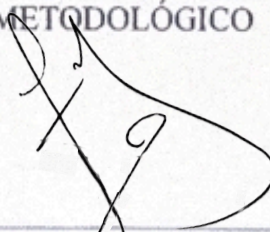
Dr. Raúl Rosales Ibáñez
DIRECTOR EXTERNO DE TESIS



Dra. Mariánela Garza Enríquez
CODIRECTOR DE TESIS



Dra. María de los Angeles Andrea Carvajal Montes de Oca
ASESOR METODOLÓGICO



Dr. Gustavo Israel Martínez González
ASESOR

DEDICATORIA

A Dios, por acompañarme en cada paso de este camino, darme fortaleza en los momentos difíciles y permitirme alcanzar esta meta.

A mis padres, por su amor incondicional, su apoyo constante y por ser el ejemplo que me inspira a seguir adelante. Gracias por confiar en mí y por acompañarme siempre en cada uno de mis sueños.

A mis hermanas, por su cariño, comprensión y por estar presentes a lo largo de esta etapa tan importante de mi vida.

A Jaime, por ser mi apoyo incondicional, mi compañero y mi lugar seguro. Gracias por tu paciencia, por motivarme en los momentos más difíciles y por celebrar conmigo cada logro.

Y a todas las personas que me acompañaron durante este proceso, gracias por sus enseñanzas, palabras de aliento y apoyo. De una u otra manera, cada uno contribuyó a que este sueño se hiciera realidad.

Con amor y gratitud, dedico este trabajo a todos ustedes.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por colmar mi camino de bendiciones, por darme fortaleza en los momentos difíciles y por permitirme alcanzar esta meta que hoy representa un sueño cumplido.

A mis papás, por su amor incondicional, por apoyarme en cada decisión que he tomado y por impulsarme siempre a seguir adelante. Gracias por creer en mí, por su paciencia y por ser el pilar fundamental de mi formación personal y profesional.

A mis hermanas, por su compañía, comprensión y apoyo constante a lo largo de este camino. Gracias por estar siempre presentes, por animarme en los días complicados y celebrar conmigo cada logro.

A Jaime, por recorrer a mi lado cada etapa de este proceso, por tu paciencia, tu apoyo incondicional y por darme ánimo cuando más lo necesité. Gracias por acompañarme en este trayecto y por creer siempre en mí.

A mi generación, por convertirse en mis cómplices 24/7 durante estos tres años. Gracias por las experiencias compartidas, el trabajo en equipo, el apoyo mutuo y por hacer de este camino un recuerdo inolvidable.

A mis amigos, por estar siempre ahí para escucharme, acompañarme y tenderme la mano cuando lo necesité. Gracias por su cariño, su comprensión y por ser un apoyo fundamental durante este proceso.

Al Dr. Raúl, por su paciencia, por brindarme su tiempo y por compartirme generosamente sus conocimientos. Gracias por la confianza depositada en mí y por su guía durante este proceso de formación.

Al equipo de trabajo del Dr. Raúl: Mau, Amai, Leo y Gio, quienes sin conocerme me dedicaron su tiempo, apoyo y disposición para ayudarme a sacar adelante este proyecto. Gracias por su colaboración y por su valiosa contribución durante el desarrollo de esta investigación.

A la Dra. Norma, porque sin sus correcciones, su exigencia académica y su apoyo constante, este trabajo no hubiera sido posible. Gracias por impulsarme a mejorar y alcanzar un mayor nivel profesional.

Al Dr. Jesús y a la Dra. Marianela, por ser parte fundamental de este posgrado, por su apoyo constante y por el ejemplo profesional y humano que representan. Gracias por sus enseñanzas, su disposición para orientar y por contribuir de manera significativa a mi formación.

A CONACYT por la beca otorgada.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	iv
LISTA DE FIGURAS	viii
NOMENCLATURA	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS	4
3. OBJETIVOS.....	5
3.1 Objetivo general:.....	5
3.2 Objetivos específicos:.....	5
4. ANTECEDENTES	6
4.1 Periodontitis.....	6
4.1.1 Lesiones óseas periodontales: defectos óseos.....	6
4.1.2 Clasificación de los defectos óseos	6
4.1.3 Lesiones de furcación	7
4.1.4 Auxiliares de diagnóstico.....	9
4.2 Regeneración de defectos periodontales.....	9
4.2.1 Propiedades biológicas de los injertos óseos	9
4.2.2 Regeneración tisular guiada	10
4.2.2.1 Ingeniería tisular	10

4.2.2.1.1 Criterios para considerar una célula troncal de acuerdo de la Sociedad Internacional de Terapia Celular	11
4.3 Definición de células troncales.....	11
4.3.1 Origen de las células troncales.....	12
4.3.1.1 Células troncales embrionarias	12
4.3.1.2 Células troncales del adulto u órgano específico	12
4.3.2 Clasificación y potencial de células troncales.....	13
4.3.2.1 Células totipotentes	13
4.3.2.2 Células pluripotentes	13
4.3.2.3 Células multipotentes	13
4.3.2.4 Células oligopotentes.....	14
4.3.2.5 Células unipotentes.....	14
4.4 Materiales para elaborar andamios	14
4.4.1 Polímeros sintéticos	14
4.4.2 Materiales naturales	14
4.4.3 Características clave del andamio	15
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
5.1 Diseño del estudio.....	16
5.2 Universo de estudio	16
5.3 Tamaño de muestra	16
5.4 Criterios de selección	16
5.4.1 Criterios de inclusión.....	16
5.4.2 Criterios de exclusión	17
5.4.3 Criterios de eliminación	17
5.5 Descripción de los procedimientos de estudios in vitro e in vivo	17

5.5.1 Caracterización fenotípica de las PDMSCs	18
5.5.2 Ensayo de diferenciación osteogénica	19
5.5.2 Ensayo de diferenciación condrogénica	19
5.5.3 Ensayo efecto citotóxico de los andamios	20
5.5.4 Potencial osteogénico del andamio Qs/ZnO/CaCO ₃	21
5.5.5 Adherencia de las PDMSCs sobre el andamio	22
5.5.6 Creación de defectos periodontales. Estudio in vivo	22
5.5.7 Estudio radiográfico y CBCT	24
5.6 Análisis estadístico	24
5.7 Consideraciones éticas	25
6. RESULTADOS.....	26
6.1 Cultivo celular.....	26
6.2 Fenotipo de las células troncales mesenquimales de ligamento periodontal	26
6.3 Evaluación de la multipotencialidad de las PDMSCs.....	27
6.3.1 Ensayo de diferenciación osteogénica	27
6.3.2 Ensayo de diferenciación condrogénico.....	27
6.4 Evaluaciones biológicas del constructo tisular	28
6.4.1 Ensayo de citotoxicidad.....	28
6.4.2 Evaluación del efecto osteoinductor del andamio de Qs/ZnO/CaCO ₃ sobre PLMSCs	29
6.5 Adhesión de las células sobre los andamios de Qs/ZnO/CaCO ₃ por medio de Faloidina	30
6.6 Mandíbulas de modelo murino	31
7. DISCUSIÓN.....	33
8. CONCLUSIÓN.....	35
9. LITERATURA CITADA.....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1 Ensayo de viabilidad celular (MTT) en PDLSCs cultivadas sobre andamio de celulosa-hidroxiapatita.....	20
Figura 2 Andamio de celulosa-hidroxiapatita utilizado para el cultivo celular.	21
Figura 3 Creación del defecto perioontal en el modelo animal.	23
Figura 4 Las células troncales del ligamento periodontal.....	26
Figura 5 Expresión inmunofluorescente de marcadores de troncalidad de células mesenquimales del ligamento periodontal (PDLSCs).....	26
Figura 6 Células troncales de ligamento periodontal grupo control.	27
Figura 7 Células troncales de ligamento periodontal, tinción azul alcian grupo control	28
Figura 8 Viabilidad celular de células del ligamento periodontal	29
Figura 9 Células troncales de ligamento periodontal grupo control negativo	29
Figura 10 Proyección en plano Z de imágenes confocales.	30
Figura 11 Micrografías de microscopía confocal que representan células troncales de ligamento periodontal (PDLSCs)	31
Figura 12 Imágenes radiográficas y tomográficas de mandíbulas en modelo murino con defecto óseo, andamio sin células y andamio con células.....	32

NOMENCLATURA

AAP	American Academy of Periodontology
AlamarBlue™	Ensayo de viabilidad celular
BSA –	Bovine Serum Albumin (albúmina sérica bovina)
CaCO ₃ –	Carbonato de calcio
CD29, CD34, CD35, CD44, CD45, CD73, CD90, CD105 –	Marcadores de superficie celular usados para caracterización de células troncales
CO ₂ –	Dióxido de carbono
DAPI –	4',6-diamidino-2-fenilindol (tinción nuclear)
DMEM –	Dulbecco's Modified Eagle Medium (medio de cultivo celular)
EMD –	Proteínas derivadas de la matriz del esmalte
ESCs –	Células troncales embrionarias
FBS –	Fetal Bovine Serum (suero fetal bovino)
FITC –	Isotiocianato de fluoresceína (marcador fluorescente)
HAp –	Hidroxiapatita
IL –	Interleucina
MSC –	Mesenchymal Stem Cells (células troncales mesenquimales)
PDLSCs – periodontal)	Periodontal Ligament Stem Cells (células troncales del ligamento)
PRF –	Fibrina rica en plaquetas

PRP –	Plasma rico en plaquetas
rhPDGF-BB –	Factor de crecimiento derivado de plaquetas recombinante humano
β -TCP –	Beta-tricálcico fosfa

TESISTA: C.D. Valeria Montserrat Rea Hernández
DIRECTOR DE TESIS: Dra. Norma Idalia Rodríguez Franco
CODIRECTOR DE TESIS: Dra. Marianela Garza Enríquez
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

CAPACIDAD OSTEOINDUCTORA DE UN ANDAMIO SOBRE
 CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES DEL
 LIGAMENTO PERIODONTAL

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La regeneración de los defectos de furca derivados de la enfermedad periodontal representa un reto clínico importante en odontología, debido a la complejidad anatómica de estas lesiones y a las limitaciones de los tratamientos convencionales. En este contexto, la ingeniería tisular surge como una alternativa terapéutica prometedora, al proponer estrategias basadas en la combinación de células, biomateriales y biomoléculas para favorecer la regeneración de los tejidos periodontales. El uso de constructos tisulares tridimensionales ha cobrado relevancia como una opción para mejorar la predictibilidad de los procedimientos regenerativos, particularmente en modelos experimentales in vivo.

OBJETIVO: Observar in vivo el potencial osteogénico de las células troncales del ligamento periodontal empleando dos medios de osteodiferenciación, con la finalidad de evaluar la terapia celular como una opción en la regeneración de defectos intraóseos periodontales en un modelo experimental en ratas Wistar.

METODOLOGÍA: Se sembraron células troncales del ligamento periodontal en un andamio compuesto de quitosano, óxido de zinc y carbonato de calcio (Qs/ZnO/CaCO₃), evaluándose inicialmente su citotoxicidad. Posteriormente, se elaboraron constructos tisulares mediante técnicas de ingeniería tisular. Se crearon defectos de 2 mm en la región de furca de ratas Wistar, en los cuales se colocaron los constructos correspondientes. Los animales se distribuyeron en tres grupos experimentales (n = 3 por grupo): grupo control (defecto sin tratamiento), grupo con andamio sin células y grupo con constructo tisular. Los especímenes fueron evaluados durante un periodo de seis meses.

RESULTADOS: Los andamios de Qs/ZnO/CaCO₃ no mostraron citotoxicidad, lo que permitió su aplicación en defectos de furca en ratas Wistar. El grupo control presentó únicamente cicatrización parcial del defecto, mientras que el grupo tratado con andamio sin células mostró un efecto osteoconductor limitado. En contraste, el grupo tratado con constructo tisular evidenció una mayor regeneración ósea y una mejor integración con el tejido huésped.

CONCLUSIONES: La combinación de andamios bioactivos con células troncales del ligamento periodontal favorece la regeneración de defectos intraóseos

periodontales, lo que sugiere que esta estrategia representa una alternativa prometedora dentro del campo de la ingeniería tisular. No obstante, se requieren estudios adicionales con un mayor tamaño de muestra y modelos experimentales más complejos para confirmar su posible aplicación clínica

TESISTA: C.D. Valeria Montserrat Rea Hernández
DIRECTOR DE TESIS: Dra. Norma Idalia Rodríguez Franco
CODIRECTOR DE TESIS: Dra. Marianela Garza Enríquez
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

CAPACIDAD OSTEOINDUCTORA DE UN ANDAMIO SOBRE
CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES DEL
LIGAMENTO PERIODONTAL

ABSTRACT

INTRODUCTION: The regeneration of furcation defects resulting from periodontal disease represents a significant clinical challenge in dentistry due to the anatomical complexity of these lesions and the limitations of conventional treatment approaches. In this context, tissue engineering has emerged as a promising therapeutic alternative by proposing strategies based on the combination of cells, biomaterials, and biomolecules to promote periodontal tissue regeneration. The use of three-dimensional tissue constructs has gained relevance as a potential approach to improve the predictability of regenerative procedures, particularly in *in vivo* experimental models. **OBJECTIVE:** To observe *in vivo* the osteogenic potential of periodontal ligament stem cells using two osteodifferentiation media, with the aim of evaluating cell therapy as an option for the regeneration of periodontal intraosseous defects in an experimental model using Wistar rats. **METHODOLOGY:** Periodontal ligament stem cells were seeded onto a scaffold composed of chitosan, zinc oxide, and calcium carbonate (Qs/ZnO/CaCO₃), and its cytotoxicity was initially evaluated. Subsequently, tissue constructs were developed using tissue engineering techniques. Defects measuring 2 mm were surgically created in the furcation region of Wistar rats, and the corresponding constructs were placed into the defects. The animals were divided into three experimental groups (n = 3 per group): control group (defect without treatment), scaffold-only group, and tissue construct group. The specimens were evaluated over a six-month period. **RESULTS:** The Qs/ZnO/CaCO₃ scaffolds did not exhibit cytotoxic effects, allowing their application in furcation defects in Wistar rats. The control group showed only partial healing of the defect, while the scaffold-only group demonstrated limited osteoconductive effects. In contrast, the group treated with tissue constructs exhibited greater bone regeneration and improved integration with the host tissue. **CONCLUSIONS:** The combination of bioactive scaffolds with periodontal ligament stem cells enhances the regeneration of periodontal intraosseous defects, suggesting that this strategy represents a promising approach within the field of tissue engineering. However, further studies with

larger sample sizes and more complex experimental models are required to confirm its potential clinical application.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades periodontales constituyen un problema de relevancia médica y social, debido a su alta prevalencia y al impacto negativo que generan en la calidad de vida de los pacientes. Estas patologías no solo afectan la salud bucal, sino que también se asocian con alteraciones funcionales, estéticas y psicológicas, además de representar una carga económica importante derivada de su tratamiento y de la rehabilitación de las secuelas que producen.

Una característica fundamental de la enfermedad periodontal es la pérdida progresiva del soporte óseo y de los tejidos de inserción que mantienen al órgano dentario en función, lo que puede culminar en la pérdida dental. Ante esta situación, la terapia periodontal tiene como uno de sus principales objetivos no solo el control de la enfermedad, sino la recuperación de la estructura y función de los tejidos periodontales afectados. En este contexto, la fase correctiva de la terapia periodontal busca restablecer la arquitectura periodontal mediante procedimientos regenerativos que permitan la restitución de los componentes del periodonto de inserción.

Actualmente, existen diversas alternativas terapéuticas orientadas a la regeneración de los defectos periodontales, entre las que se incluyen el uso de injertos óseos, la regeneración tisular guiada y la aplicación de materiales de origen biológico como factores de crecimiento, proteínas y células, generalmente combinados con medios de transporte o andamios. La regeneración tisular guiada es una técnica quirúrgica que emplea la colocación de una barrera impermeable entre la superficie radicular previamente tratada y el epitelio crevicular, con el objetivo de favorecer la repoblación celular adecuada y promover la recuperación de la inserción periodontal perdida.

A pesar de los avances alcanzados con estas técnicas, la predictibilidad de los tratamientos regenerativos continúa siendo limitada, lo que ha impulsado la búsqueda de estrategias terapéuticas más seguras y eficaces. En este sentido, el desarrollo de la ingeniería tisular ha permitido la integración de células y biomateriales para la creación de estructuras

tridimensionales capaces de servir como soporte para la regeneración de tejidos dañados, representando una alternativa prometedora en el campo de la periodoncia regenerativa.

El problema que aborda la presente investigación radica en la necesidad de desarrollar enfoques regenerativos que permitan una recuperación más predecible de los defectos intraóseos periodontales, mediante el uso de terapias basadas en células con potencial osteogénico y su interacción con biomateriales, superando las limitaciones observadas en las técnicas convencionales.

Derivado de lo anterior, surge la siguiente pregunta de investigación: ¿La creación de una nueva técnica regenerativa mediante constructos tisulares tridimensionales, que integren células troncales del ligamento periodontal y biomateriales, puede favorecer la recuperación de la forma y función celular en los defectos periodontales intraóseos?

La importancia de realizar este trabajo radica en la elevada prevalencia de la enfermedad periodontal y en la necesidad de generar alternativas terapéuticas innovadoras que contribuyan a mejorar los resultados de los procedimientos regenerativos. El estudio del potencial osteogénico de las células troncales del ligamento periodontal permite ampliar el conocimiento sobre su comportamiento biológico y su posible aplicación en estrategias de regeneración periodontal.

El objetivo general de esta investigación fue evaluar el potencial osteogénico de las células troncales obtenidas del ligamento periodontal, cultivadas en medios de osteodiferenciación, con la finalidad de proponer su aplicación como una alternativa en el tratamiento regenerativo de los defectos intraóseos periodontales.

Para el desarrollo del estudio se realizó la obtención y cultivo de células troncales del ligamento periodontal, las cuales fueron sometidas a medios de osteodiferenciación y combinadas con biomateriales para la formación de constructos tisulares tridimensionales. Posteriormente, se evaluó su comportamiento celular y su capacidad osteogénica bajo condiciones experimentales controladas.

Los principales resultados obtenidos demostraron que las células troncales del ligamento periodontal presentan capacidad de diferenciación osteogénica al ser cultivadas en medios específicos, así como una interacción favorable con los biomateriales empleados, lo que sugiere que la formación de constructos tisulares tridimensionales constituye una estrategia con potencial para la regeneración de defectos periodontales intraóseos.

2. HIPÓTESIS

Hi. Un andamio de Qs/ZnO/CaCO₃ sembrado con células troncales del ligamento periodontal muestra capacidad osteoinductora, y se obtiene regeneración de lesiones de furca en ratas Wistar.

Ho. Un andamio de Qs/ZnO/CaCO₃ sembrado con células troncales del ligamento periodontal muestra capacidad osteoinductora, y no se obtiene regeneración de lesiones de furca en ratas Wistar.

Ha. Un andamio de Qs/ZnO/CaCO₃ sembrado con células troncales del ligamento periodontal muestra capacidad osteoinductora, y se obtiene de manera parcial regeneración de lesiones de furca en ratas Wistar.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general:

Evaluación de la capacidad osteoinductora de un andamio sobre células troncales mesenquimales del ligamento periodontal

3.2 Objetivos específicos:

- Caracterizar el fenotipo de las células troncales mesenquimales obtenidas del ligamento periodontal.
- Realizar la diferenciación a osteogénico y condrogénico de las células troncales.
- Evaluar citotoxicidad de andamios elaborados de Quitosano (Cs), carboximetilcelulosa (CMC), óxido de zinc (ZnO) y carbonato de calcio or Chitosan (Cs), carboxymethylcellulose (CMC), zinc oxide (ZnO) and calcium carbonate. (Qs/ZnO/CaCO₃).
- Comparar la diferenciación osteogénica del constructo tisular
- Evaluar la adhesión de las células troncales mesenquimales de ligamento periodontal sobre el andamio de *Qs/ZnO/CaCO₃*.
- Evaluar la regeneración de la lesión de furca diseñada *ad oc* en modelo murino.

4. ANTECEDENTES

4.1 Periodontitis

La periodontitis es una enfermedad infecciosa que causa inflamación en los tejidos de soporte dental, así como pérdida progresiva de la inserción y pérdida ósea. Además, se asocia a la presencia de placa dentobacteriana (AAP, 2001; Haffajee et al, 1994; Page et al 1997).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, aproximadamente el 15% de la población mundial de adultos sufren de enfermedad periodontal avanzada (Petersen y Ogawa, 2005). Algunos de los síntomas que se pueden presentar son sangrado gingival que puede ser espontáneo o al momento del sondeo. La profundidad del sondeo es variable y se encuentran pérdidas de hueso de manera horizontal o vertical. También puede presentarse movilidad de los dientes en caso con pérdida ósea avanzada (Herrera et al.).

4.1.1 Lesiones óseas periodontales: defectos óseos

Una de las características principales de la enfermedad periodontal destructiva es la pérdida de soporte óseo, y se considera que sea la secuela anatómica a la dispersión apical de la periodontitis. La evaluación del grado de pérdida de hueso alveolar debe evaluarse tanto clínicamente, como mediante radiografías para tener un buen diagnóstico, plan de tratamiento y evaluación del pronóstico (Papapanou & Tonetti, 2000).

4.1.2 Clasificación de los defectos óseos

La configuración de los defectos óseos se caracteriza ciertos factores como: la localización de los microorganismos en la superficie radicular, anatomía radicular, grosor del hueso alveolar, posición de la raíz dentro del proceso alveolar y la relación con otras lesiones periodontales (Papapanou & Tonetti, 2000).

La característica principal de los defectos supraóseos es que la base de la bolsa periodontal se encuentra coronal a la cresta alveolar. En los defectos infraóseos la bolsa periodontal se localiza en su base, apical a la cresta alveolar residual. Los defectos infraóseos afectan solo a un diente mientras que los cráteres afectan (Papapanou y Tonetti, 2000; Goldman y Cohen, 1958).

La clasificación de los defectos verticales se lleva a cabo de acuerdo con las paredes óseas remanentes, el ancho del defecto, y la extensión topográfica alrededor del diente. Los defectos de tres paredes se localizan en áreas interdentes, superficies linguales de piezas mandibulares y maxilares donde la placa lingual está intacta, así como ambas paredes interproximales. Pueden extenderse hasta involucrar más de dos superficies dentales. (Papapanou y Tonetti, 2000; Goldman y Cohen, 1958).

Los defectos de tres paredes se pueden observar a menudo en los espacios interdentes donde se puede ver que las paredes están intactas una pared proximal, la bucal y la lingual/palatina. Estas en distintas ocasiones se pueden clasificar como lesiones poco profundas, mientras que otras son lesiones estrechas y profundas (Goldman & Cohen, 1958; Papapanou & Tonetti, 2000).

Los de dos paredes pueden estar localizados en zonas interproximales en donde una pared se va a encontrar afectada, normalmente la vestibular, mientras que las otras dos permanecen íntegras, que suelen ser lingual/palatina y proximal. Los de una pared suelen verse en los espacios interdentes donde una pared proximal se encuentra íntegra pero la lingual/palatina y vestibular están afectadas. Mientras que en los cráteres el defecto afecta a dos superficies radiculares adyacentes en una medida similar (Goldman & Cohen, 1958; Carranza et al., 2019).

4.1.3 Lesiones de furcación

Cuando la enfermedad periodontal provoca una reabsorción ósea en la zona de bifurcación o trifurcación multiradicular la furca se ve afectada, esto según el glosario de términos de la Academia Americana de Periodoncia (Jepsen et al., 2020; Piloni A y Rojas M, 2018).

El término de afectación de la furcación hace referencia la extensión de la formación de bolsa en la zona interradicular del hueso alveolar de los dientes multirradiculares (Larato, 1975).

Existen varias clasificaciones de lesiones en furca actualmente estas se basan en la extensión del defecto y el grado de pérdida de inserción ya sea horizontal o vertical, el más

utilizado se desarrolló en 1953 por Glickman donde describe las principales características del defecto de furcación.

Grado I es cuando la lesión es incipiente, presenta bolsa supra ósea y ligera pérdida de hueso en la zona de furcación, el grado II es con pérdida de hueso interradicular y formación de bolsa, pero una parte del hueso alveolar y del ligamento periodontal permanecen intactos, el grado III es una lesión que atraviesa el hueso y el grado IV es una lesión pasante con recesión gingival, que lleva a una zona de furcación claramente visible (Pilloni & Rojas, 2018).

Clasificación de lesiones de furcación de Hamp (1975):

Grado I: La pérdida horizontal de soporte no excede 3 mm del ancho del diente, en el grado II la pérdida horizontal excede 3 mm del ancho del diente sin abarcar la totalidad del área de la furcación, el grado III es con destrucción horizontal de lado a lado de los tejidos periodontales en el área de la furcación

Las lesiones en furca se evalúan utilizando la sonda y radiografías intraorales (Darby et al., 2015), utilizando la sonda periodontal y la sonda Naber. Basandonos en las radiografías nuestro punto de referencia es la distancia entre el hueso marginal y la unión cemento-esmalte para describir las condiciones periodontales (Yusof et al., 2021).

El diagnóstico de estas lesiones se realiza evaluando la profundidad de bolsa al sondaje, nivel de inserción clínica, sondeo de la entrada de la furca y se complementa con radiografías periapicales y panorámicas intraorales. Aunque generalmente debido al acceso limitado de las profundidades de la furca, variaciones morfológicas y errores al medir, puede haber dificultades en un análisis clínico preciso de las furcas.

El grado de afectación de la furcación, determina significativamente el pronóstico ya que al finalizar el tratamiento periodontal y durante la terapia de mantenimiento, los molares con furcación de Clase I se perdieron en el 10% de los casos a los 12 años, mientras que a los 10 años los molares con Clase II y Clase III se perdieron en el 25% y 40% de los casos.

Otro factor importante es la movilidad: estudios clínicos longitudinales han concluido que los dientes móviles con afectación de la furcación presentan un mayor riesgo de pérdida de inserción en comparación con los dientes sin movilidad. El sistema actual mide únicamente la pérdida de inserción horizontal (Pilloni A y Rojas M, 2018).

4.1.4 Auxiliares de diagnóstico

La radiografía periapical es la técnica de diagnóstico por imagen más utilizada en la evaluación clínica (Yusof NAM et al., 2021).

Aunque las radiografías bidimensionales convencionales son utilizadas para diagnosticar los niveles de hueso en la enfermedad periodontal, el aumento y distorsión causados por la geometría de proyección del haz de rayos x, hace casi imposible obtener un diagnóstico preciso, estas radiografías pueden generar imágenes con las raíces superpuestas en la región de interés, ocultando, los defectos alveolares óseos, bucales y linguales (Padmanabhan S et al., 2017).

4.2 Regeneración de defectos periodontales

A lo largo de la historia se han realizado procedimientos quirúrgicos que ayudan a mejorar la respuesta tisular del periodonto y por consiguiente la regeneración. Se han utilizado distintos injertos como: los autógenos, entre ellos el aloinjerto óseo desecado, congelado y desmineralizado y los injertos congelados y desecados; los xenoinjertos como los que provienen del hueso bovino; los injertos aloplásticos, como la cerámica para uso biológico, (BETA) β -fosfato tricálcico (β -TCP), e hidroxiapatita (Polimeni. 2006).

4.2.1 Propiedades biológicas de los injertos óseos

Se reconocen cuatro conceptos fundamentales en relación con los materiales de injerto óseo: 1) Osteoconductor: capacidad del material para servir como un andamio que permita la migración, adhesión y proliferación de células óseas sobre su superficie, favoreciendo la formación de hueso nuevo; 2) Osteoinductor: propiedad mediante la cual se promueve el reclutamiento y diferenciación de células mesenquimales indiferenciadas y preosteoblastos hacia células formadoras de hueso; 3) Osteogénico: hace referencia a la presencia de células viables dentro del injerto, como osteoblastos o células troncales osteoprogenitoras, que participan directamente en la formación de hueso; y 4) Osteogénesis: proceso biológico en el que las células osteogénicas depositan matriz ósea de manera directa, contribuyendo a la

regeneración y remodelación del defecto (Polimeni et al., 2006; Melcher, 1985; Nyman et al., 1982).

4.2.2 Regeneración tisular guiada

La regeneración tisular guiada es la técnica en la cual se emplea la implantación quirúrgica de una barrera que va a ser impermeable entre una superficie radicular que debe estar desintoxicada y el epitelio crevicular buscando regenerar la inserción periodontal que se perdió.

Actualmente existen diversas alternativas terapéuticas que permiten favorecer la regeneración de los defectos periodontales, entre ellas la colocación de injertos óseos donde se incluye la regeneración tisular guiada y el uso de materiales de origen biológico como factores de crecimiento, proteínas y células, empleando andamios o medios de transporte como soporte.

4.2.2.1 Ingeniería tisular

El concepto de ingeniería tisular en periodoncia se originó a partir de la regeneración tisular guiada, un enfoque mecánico basado en el uso de membranas no reabsorbibles para lograr la regeneración de los defectos periodontales. En implantología, la regeneración ósea guiada aplica el mismo principio, incorporando injertos óseos para aportar soporte adicional a las membranas y favorecer el aumento del tejido óseo, con el propósito de permitir la correcta colocación de implantes dentales (Kao et al., 2009). Los objetivos principales de la ingeniería tisular se centran en la regeneración, reparación o reemplazo bioartificial de órganos y tejidos afectados por diferentes factores.(Kao et al., 2009).

Teniendo como objetivo principal la regeneración, reparación o reemplazo bioartificial de los órganos y tejidos del cuerpo humano que fueron afectados por diferentes factores.

La ingeniería tisular se basa principalmente en 3 componentes que van a ser fundamentales los cuales son: 1) Células, 2) Andamios 3) Factores de crecimiento o inductores o biomoléculas (Rosales-Ibáñez & Ojeda-Gutiérrez, 2011).

4.2.2.1.1 Criterios para considerar una célula troncal de acuerdo de la Sociedad Internacional de Terapia Celular

Capacidad de adherirse a plástico in vitro: Este criterio se refiere a la capacidad de las células madre estromales mesenquimales (MSCs) de adherirse y crecer en la superficie de cultivo de plástico en un entorno de laboratorio in vitro. Esta característica es una de las primeras observadas cuando se cultivan MSCs y es indicativa de su capacidad de proliferación y supervivencia en cultivo. (Dominic et al, 2006).

Las MSCs expresan marcadores de superficie celular característicos que las distinguen de otros tipos de células. Estos marcadores pueden incluir CD73, CD90 y CD105, mientras que no expresan marcadores hematopoyéticos como CD45 y CD34. La expresión de estos marcadores se utiliza para identificar y caracterizar las MSCs en cultivo. Marcadores Positivos: CD73 (5'-Nucleotidasa), CD90 (Thy-1), CD105 (Endoglina), marcadores Negativos: CD45, CD34. (Dominic et al, 2006).

Las MSCs tienen la capacidad única de diferenciarse en células de múltiples linajes, incluidos osteoblastos (células óseas), condrocitos (células cartilaginosas) y adipocitos (células grasas). Esta capacidad de diferenciación es una característica fundamental de las MSCs y se utiliza para demostrar su plasticidad y potencial terapéutico en la regeneración de tejidos. (Dominic et al, 2006).

4.3 Definición de células troncales

Las células troncales también llamadas mesenquimales progenitoras son células indiferenciadas presentes en etapas embrionaria, fetal y adulta de la vida. Dan lugar a células diferenciadas que son componentes básicos de tejidos y órganos. En las etapas posnatal y adulta de la vida, las células madre específicas de tejidos se encuentran en órganos diferenciados y son fundamentales en la reparación después de una lesión.

4.3.1 Origen de las células troncales

Las células troncales pueden agruparse en 3 grandes categorías en función de su origen: células troncales embrionarias (ESCs), células pluripotenciales inducidas (iPSCs) y células troncales adultas o somáticas. En general, las ESCs y las iPSCs son pluripotentes, mientras que las células madre adultas son oligopotentes o unipotentes.

4.3.1.1 Células troncales embrionarias

Células troncales embrionarias. Se derivan de las células de las capas internas de los blastocitos en la etapa del desarrollo embrionario y tienen la capacidad de diferenciarse en cualquier tipo celular y la habilidad de la autorreplicación. Estas células pueden diferenciarse en tejidos de las 3 capas germinales primarias, pero también pueden mantenerse en estado indiferenciado durante un periodo prolongado en cultivo. Su ventaja potencial es la capacidad de diferenciarse en cualquier linaje celular y como desventajas tenemos que se pueden proliferar sin control y se obtienen solo de embriones, por lo que trae problemas éticos (Bartold et al., 2006).

4.3.1.2 Células troncales del adulto u órgano específico

Células troncales del adulto. Se pueden obtener de: cordón umbilical, líquido amniótico, médula ósea, tejido adiposo, cerebro y dientes. Pueden ser autólogas y aisladas y se pueden tomar del paciente o alogénicas, no plantean problemas de rechazo mientras que las células embrionarias no tienen esa característica (Bartold et al., 2006). Presentan la ventaja de que las células autólogas no plantean problemas de rechazo, ni controversias éticas. Las células troncales adultas pueden obtenerse de todos los tejidos de las 3 capas germinales, así como de la placenta, se ha demostrado que el trasplante de células troncales adultas restaura órganos dañados in vivo, como la reparación del tejido óseo y la revascularización del tejido cardíaco isquémico mediante la diferenciación de células troncales y la generación de nuevas células especializadas demostrado que las células madre adultas cultivadas secretan diversos

mediadores moleculares con propiedades antiapoptóticas, inmunomoduladoras, angiogénicas y quimiotácticas que favorecen la reparación.

4.3.2 Clasificación y potencial de células troncales

Una de las dos características principales de las células troncales, varía en función de su origen y derivación. Todas las células troncales pueden clasificarse según su potencial de diferenciación en 5 grupos: totipotentes u omnipotentes, pluripotentes, multipotentes, oligopotentes y unipotentes.

4.3.2.1 Células totipotentes

Las células totipotentes son las más indiferenciadas y se encuentran en las primeras fases del desarrollo. Un ovocito fertilizado y las células de las dos primeras divisiones son células totipotentes, ya que se diferencian en tejidos embrionarios y extraembrionarios, formando así el embrión y la placenta (Rossant, 2001).

4.3.2.2 Células pluripotentes

Las células troncales pluripotentes son capaces de diferenciarse en células que surgen de las 3 capas germinales - ectodermo, endodermo y mesodermo a partir de las cuales se desarrollan todos los tejidos y órganos (P. De Miguel et al., 2010).

4.3.2.3 Células multipotentes

Las células troncales multipotentes se encuentran en la mayoría de los tejidos y se diferencian en células de una sola capa germinal (Ratajczak et al., 2012). Las células troncales mesenquimales (MSC) son las células multipotentes más reconocidas. Pueden derivarse de diversos tejidos, como la médula ósea, el tejido adiposo, el hueso, la gelatina de Wharton, la sangre del cordón umbilical y la sangre periférica (Aberdeen AB25 2ZD, UK et al., 2010). Dichas células se adhieren a las placas de cultivo celular y se caracterizan por tener marcadores celulares de superficie específicos. Estas células pueden diferenciarse en

tejidos derivados del mesodermo, como tejido adiposo, hueso, cartílago y músculo (Bruder et al., 1997) (Prockop, 1997) (Friedenstein et al., 1970).

4.3.2.4 Células oligopotentes

Las células troncales oligopotentes son capaces de autorrenovarse y formar 2 o más linajes dentro de un tejido específico. Las células madre hematopoyéticas son un ejemplo típico de células madre oligopotentes, ya que pueden diferenciarse tanto en linajes mieloides como linfoides.

4.3.2.5 Células unipotentes

Las células troncales unipotentes pueden autorrenovarse y diferenciarse en un solo tipo celular específico y formar un único linaje, como las células troncales musculares, dando lugar a células musculares maduras y no a otras células (Kolios & Moodley, 2013; Beck & Blanpain, 2012; Roojj & Grooteged, 1998).

4.4 Materiales para elaborar andamios

4.4.1 Polímeros sintéticos

Poliláctico (PLA) y poliglicólico (PGA): Ambos son polímeros biodegradables que se utilizan ampliamente debido a su capacidad para descomponerse de forma controlada en el cuerpo. Poliésteres, polioxipropileno (PCL), y copolímeros: Usados cuando se necesita un control más preciso sobre la velocidad de biodegradación (Middleton & Tipton, 2000; O'Brien, 2011).

4.4.2 Materiales naturales

El colágeno es un componente estructural esencial de los tejidos conectivos, por lo que se usa frecuentemente en la ingeniería de tejidos para imitar la matriz extracelular natural. Carboximetilcelulosa (CMC) es un derivado de la celulosa, un polímero natural que se encuentra en las plantas. Quitosano: Un polisacárido derivado de la quitina (de los exoesqueletos de insectos y crustáceos) que es biocompatible y biodegradable. Algas y agarosa: Polímeros naturales obtenidos de algas marinas, usados para formar andamios con

características de hidratación y biocompatibilidad (Lee & Mooney, 2012; Drury & Mooney, 2003).

4.4.3 Características clave del andamio

Una de las características de un andamio es la biocompatibilidad. El material debe ser bien tolerado por el cuerpo y no causar una respuesta inmune significativa.

Biodegradabilidad: El andamio debe ser capaz de descomponerse y absorberse gradualmente mientras el tejido nuevo crece.

Porosidad: Los andamios deben ser porosos para permitir el intercambio de nutrientes y la migración celular, lo que facilita el crecimiento del tejido.

Mecánica: El andamio debe tener la rigidez adecuada para soportar la tensión a medida que el tejido regenerado toma forma (O'Brien, 2011; Hutmacher, 2000).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Diseño del estudio

Es un estudio comparativo, abierto, experimental, prospectivo y longitudinal.

5.2 Universo de estudio

Como universo de estudio se incluyeron: células troncales mesenquimales de ligamento periodontal, andamios polímero de Qs/ZnO/CaCO₃. Y ratas Wistar con defectos de furca creados de manera quirúrgica.

5.3 Tamaño de muestra

Para el presente estudio in vivo se emplearon nueve ratas Wistar, las cuales fueron seleccionadas de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Los animales fueron aleatoriamente divididos en tres grupos experimentales, con tres individuos por grupo, de la siguiente forma:

Grupo 1 (Control negativo): Defectos de furca sin tratamiento ni colocación de andamio (n = 3); Grupo 2 (control positivo): Defectos de furca tratados únicamente con el andamio, sin células (n = 3); Grupo 3 (grupo experimental): Defectos de furca tratados con andamio sembrado con células troncales del ligamento periodontal, constructo tisular (n = 3).

5.4 Criterios de selección

5.4.1 Criterios de inclusión

Dentro de los criterios de inclusión se estudiaron ratas Wistar macho con un peso 280-380g con un estado de salud general óptimo y libre de signos clínicos de enfermedad.

5.4.2 Criterios de exclusión

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: ratas Wistar que no cumplieran con el rango de peso establecido, que presentaran signos de enfermedad, heridas o alteraciones en cavidad oral antes del procedimiento quirúrgico.

5.4.3 Criterios de eliminación

En los criterios de eliminación se consideraron muerte del modelo animal durante el procedimiento o en el periodo posoperatorio inmediato, Así como complicaciones locales o sistémicas que impidieran la evolución adecuada del experimento.

5.5 Descripción de los procedimientos de estudios in vitro e in vivo

El ligamento periodontal fue obtenido de terceros molares, los cuales fueron procesados en una cabina de flujo laminar (Telstar Bio II Advance). Utilizando una hoja de bisturí, se raspó la superficie radicular para obtener el ligamento periodontal. Posteriormente, el ligamento periodontal fue colocado en una caja Petri estéril y fragmentado con una hoja de bisturí del tamaño #22. Los fragmentos de tejido fueron transferidos a tubos de 15 ml (Nunc) a los cuales se les añadió una solución de 3 mg/mL de colagenasa tipo II (Sigma-Aldrich) durante 15 minutos. Después de la digestión, se agregó medio de cultivo (DMEM, Dulbecco's Modified Eagle Medium Low-Glucose, Biowest, USA) con 10% de suero fetal bovino (FBS, Fetal Bovine Serum, Biowest, USA) en una proporción de 1:1. Los tubos fueron centrifugados (Sigama-216 KL) durante 10 minutos a 1000 rpm a una temperatura de 20°C. El sobrenadante se descartó y se obtuvo el pellet celular, el cual se resuspendió mediante micropipetas y se sembró en cajas de cultivo de 25 cm² (Nunc EasYFlask). Las cajas fueron incubadas en una incubadora (Binder CB 150-UL) durante 20 minutos a 37°C, 95% O₂ y 5% CO₂ para permitir la adhesión celular en la superficie de la caja. Se añadieron 4 ml de medio de cultivo (DMEM), con 10% de suero fetal bovino (FBS), y una solución de antibióticos y antimicóticos al 1% (penicilina 100 UI/ml, estreptomina 100ug/ml y anfotericina B 0.25ug/ml, Sigma-Aldrich). El medio de cultivo fue reemplazado cada 72 horas para asegurar el crecimiento celular, hasta obtener una confluencia del 70% en la superficie de la caja.

5.5.1 Caracterización fenotípica de las PDMSCs

La caracterización inmunofenotípica de las células troncales mesenquimales obtenidas de ligamento periodontal se realizó a través de inmunofluorescencia. Se sembraron 10×10^3 células en cubreobjetos redondos. A las 48 hrs de sembrado celular, las células se lavaron con PBS (Phosphate Buffered Saline) y se fijaron con paraformaldehído al 3,7% (Spi-Chem, Chemicals—SPI Supplies, West Chester, PA, EE. UU.) durante 15 minutos a temperatura ambiente, seguidamente de tres lavados con PBS. Luego, las células se permeabilizaron con Triton X-100 al 3 % (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) durante 30 min a 4 °C y los sitios inespecíficos se bloquearon con BSA al 1 % (Bovine Serum Albumin, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) durante 1 h a temperatura ambiente.

Posteriormente, las células se incubaron con los anticuerpos policlonales primarios anti CD29⁺, CD44⁺, CD90⁺, CD105⁺, CD34⁻ y CD45⁻ (todos de Santa Cruz, Biotechnology, Santa Cruz, CA, EE. UU.) diluidos 1:100 en solución de bloqueo durante toda la noche a 4 °C. Posteriormente, las células se lavaron con PBS y se incubaron con el anticuerpo secundario (FITC-anti-ratón, Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc., Baltimore, MA, EE. UU.) diluido 1:100 en solución de bloqueo a temperatura ambiente durante 1 h. Los núcleos celulares se contra tiñeron con 40,6-diamidino-2-fenilindol 1 mg/1 ml (DAPI, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.), durante 5 min a temperatura ambiente. Finalmente, las células se lavaron y se montaron con medio de montaje VECTASHIELD (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA, EE. UU.). Las muestras se observaron en un microscopio confocal, usando un objetivo de 10x. Los marcadores de superficie celular de células troncales hematopoyéticas CD34 y CD35, se usaron como marcadores negativos de Células Troncales Mesenquimales. Se usó un pozo para el análisis cada marcador (CD29⁺, CD44⁺, CD90⁺, CD105⁺, CD34⁻ y CD45⁻).

5.5.2 Ensayo de diferenciación osteogénica

Para evaluar el potencial de diferenciación osteogénica de las células troncales del ligamento periodontal (PDLSCs), se sembraron aproximadamente 5×10^3 células por pozo en placas de 24 pozos (TPP, Techno Plastic Products). Los grupos experimentales se dividieron en células cultivadas con medio DMEM bajo en glucosa (Dulbecco's Modified Eagle Medium Low-Glucose, Biowest) como grupo control, y células tratadas con medio osteogénico (MesenCult™ Osteogenic Differentiation Kit:05465; StemCell) como grupo experimental. Después de 21 días de inducción, se retiró el medio de cultivo, se lavaron las células con agua destilada y se fijaron con paraformaldehído al 4% durante 20 minutos a temperatura ambiente. Luego, se eliminó el fijador y se lavaron nuevamente con agua destilada antes de agregar la tinción rojo de alizarina (Alizarin Red S: # A5533; Sigma) durante 1 hora a temperatura ambiente. Finalmente, se retiró la tinción y se lavaron inmediatamente con agua destilada. Las muestras fueron observadas utilizando un microscopio óptico de campo claro de contraste de fases (Leica DM IL LED).

5.5.2 Ensayo de diferenciación condrogénica

Para evaluar el potencial de diferenciación condrogénica de las células troncales de ligamento periodontal, se sembraron aproximadamente 5×10^3 células por pozo en placa de 24 pozos (TPP, Techno Plastic Products) de la siguiente manera: células con DMEM bajo en glucosa (Dulbecco's Modified Eagle Medium Low-Glucose, Biowest) como grupo control, y células con medio condrogénico (MesenCult™-ACF Chondrogenic Differentiation Medium: #05455; StemCell) como grupo experimental. A los 21 días del periodo de inducción se retiró el medio de cultivo y se lavaron las células con agua destilada, posteriormente se realizó la fijación por medio de paraformaldehído al 4% durante 20 minutos a temperatura ambiente, se retiró el fijador y se lavó nuevamente con agua destilada para agregar ácido acético al 3% durante 3 minutos, se retiró el ácido acético para agregar la tinción azul alcian (Alcian Blue Staining Kit: #8378; ScienCell) durante 1 hora a temperatura ambiente, finalmente se retiró la tinción e inmediatamente se lavó con agua destilada. Se observó con el microscopio óptico de campo claro de contraste de fases (Leica DM IL LED).

5.5.3 Ensayo efecto citotóxico de los andamios

La viabilidad celular se determinó mediante la actividad metabólica celular. Se usó el ensayo colorimétrico AlamarBlue (Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, MA, EE. UU) basado en la reducción de resazurina a resorufina, por las células vivas, lo que permite medir cuantitativamente la viabilidad celular. Brevemente, se sembraron 5×10^3 células en cada uno de los andamios en placas de 96 pozos y se incubaron durante 3, 7, 10 y 14 días en condiciones de cultivo estándar, transcurrido el tiempo de estudio a cada pozo ($n=5$) se añadió $10 \mu\text{L}$ de reactivo de AlamarBlue y $90 \mu\text{L}$ de medio de cultivo fresco y se dejó incubando durante 3 h a 37°C protegido de la luz. Después de pasar este tiempo de incubación, la solución de AlamarBlueTM medio de cultivo ($100 \mu\text{L}$) se transfirieron a una nueva placa de 96 pozos y se midió la absorbancia a 600 nm utilizando un espectrofotómetro (PKL POKLER ITALIA, PPC 142). Los resultados se normalizaron con respecto a las células de control y se expresaron en porcentajes. Las células sembradas en los pozos sin en el andamio y bajo las mismas condiciones de cultivo se usaron como control positivo.

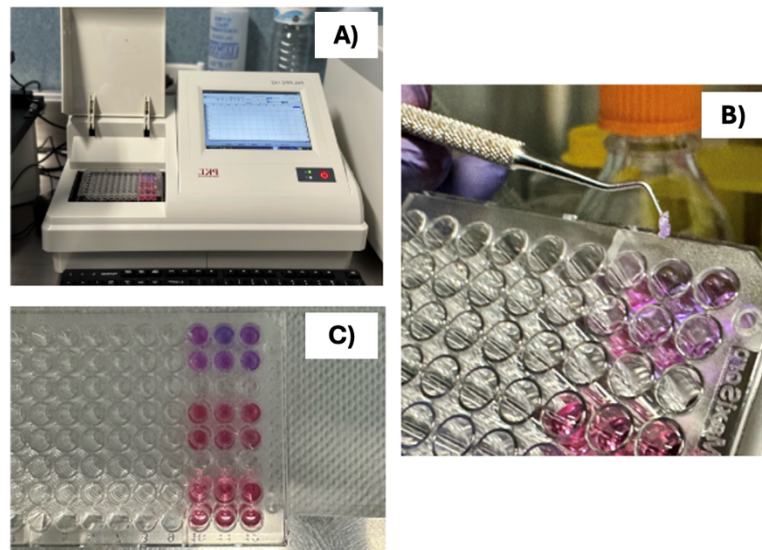


Figura 1 Ensayo de viabilidad celular (MTT) en PDLSCs cultivadas sobre andamio de celulosa-hidroxiapatita.

Ensayo de viabilidad celular (MTT) en células del ligamento periodontal cultivadas sobre el andamio de celulosa-hidroxiapatita. Se observa el procedimiento experimental del ensayo MTT. (A) Lectura espectrofotométrica de la placa de 96 pozos utilizando

5.5.4 Potencial osteogénico del andamio Qs/ZnO/CaCO₃

Para evaluar el potencial osteogénico del andamio Qs/ZnO/CaCO₃ (quitosano/óxido de zinc/carbonato de calcio), se sembraron 10×10^3 células troncales de ligamento periodontal (PDLSCs) en los andamios en una placa de 24 pozos (TPP, Techno Plastic Products) de la siguiente manera: células con DMEM bajo en glucosa (Dulbecco's Modified Eagle Medium Low-Glucose, Biowest) como grupo control negativo, células con medio de diferenciación como grupo control positivo y células sembradas en el andamio como grupo experimental DMEM bajo en glucosa (Dulbecco's Modified Eagle Medium Low-Glucose, Biowest) A los 21 días del periodo de inducción se retiró el medio de cultivo y se lavaron las células con agua destilada, posteriormente se realizó la fijación por medio de paraformaldehído al 4% durante 20 minutos a temperatura ambiente, se retiró el fijador y se lavó nuevamente con agua destilada para agregar la tinción roja de alizarina (Alizarin Red S: # A5533; Sigma) durante 1 hora a temperatura ambiente, finalmente se retiró la tinción e inmediatamente se lavó con agua destilada. Se observó con el microscopio óptico de campo claro de contraste de fases (Leica DM IL LED).

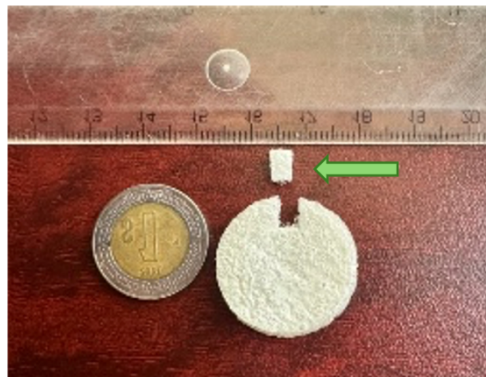


Figura 2 Andamio de celulosa-hidroxiapatita utilizado para el cultivo celular. Imagen representativa del andamio de celulosa-hidroxiapatita empleado en los ensayos de viabilidad celular. Se muestra la comparación del tamaño del andamio con una moneda de un peso mexicano (≈ 23 mm de diámetro) como referencia. En la parte superior del andamio se observa un fragmento recortado (flecha en color verde), correspondiente a la porción utilizada para los ensayos de cultivo celular in vitro.

5.5.5 Adherencia de las PDMSCs sobre el andamio

Se sembraron 5×10^3 células sobre los andamios, dos días después de la siembra celular, las muestras se lavaron dos veces con PBS y se fijaron con paraformaldehído al 3.6% durante 10 minutos. Posteriormente, se permeabilizaron con Triton X-100 al 0.2% durante 10 minutos, y se bloquearon con BSA al 5% durante 10 minutos. A continuación, se añadió 5 μ L de tinción de Faloidina (Falloidin- Alexa Fluor 566, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) a una concentración de 1:20 en solución bloqueadora y las muestras se incubaron durante 72 horas a 4°C. Después de este tiempo, las muestras se lavaron dos veces con PBS y se añadió DAPI a una concentración de 1:1000 para la visualización de núcleos. Todo el procedimiento se realizó a 4°C y protegido de la luz. Finalmente, las muestras se observaron en un microscopio confocal.

5.5.6 Creación de defectos periodontales. Estudio in vivo

Previo al procedimiento quirúrgico, los animales fueron anestesiados mediante inyección intramuscular de ketamina (80 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg), garantizando una anestesia profunda y estable durante la intervención.

Una vez bajo anestesia, se procedió a realizar un colgajo mucoperióstico a nivel de la región mandibular, exponiendo la zona de furca de los molares. Los defectos periodontales estandarizados se crearon con una fresa de bola de acero inoxidable (2 mm de diámetro), acoplada a una pieza de mano de baja velocidad bajo irrigación constante con solución salina estéril para evitar sobrecalentamiento y necrosis tisular.

Grupo 1 (Control negativo): Defectos de furca sin tratamiento ni colocación de andamio (n = 3); Grupo 2 (control positivo): Defectos de furca tratados únicamente con el andamio, sin células (n = 3); Grupo 3 (grupo experimental): Defectos de furca tratados con andamio sembrado con células troncales del ligamento periodontal, constructo tisular (n = 3).

Una vez colocado el material correspondiente, se reposicionó y suturó el colgajo con sutura de nylon monofilamento 6-0, asegurando el cierre primario del sitio quirúrgico.

El postoperatorio incluyó administración de analgésicos y antibióticos profilácticos, además de control diario para monitorear el bienestar de los animales. Los especímenes se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y ciclo luz-oscuridad, con libre acceso a agua y alimento.

Tras un periodo de seis meses, los animales fueron sacrificados de manera ética, y las muestras obtenidas fueron procesadas para su evaluación histológica e imagenológica, con el objetivo de analizar la regeneración periodontal en los distintos grupos.

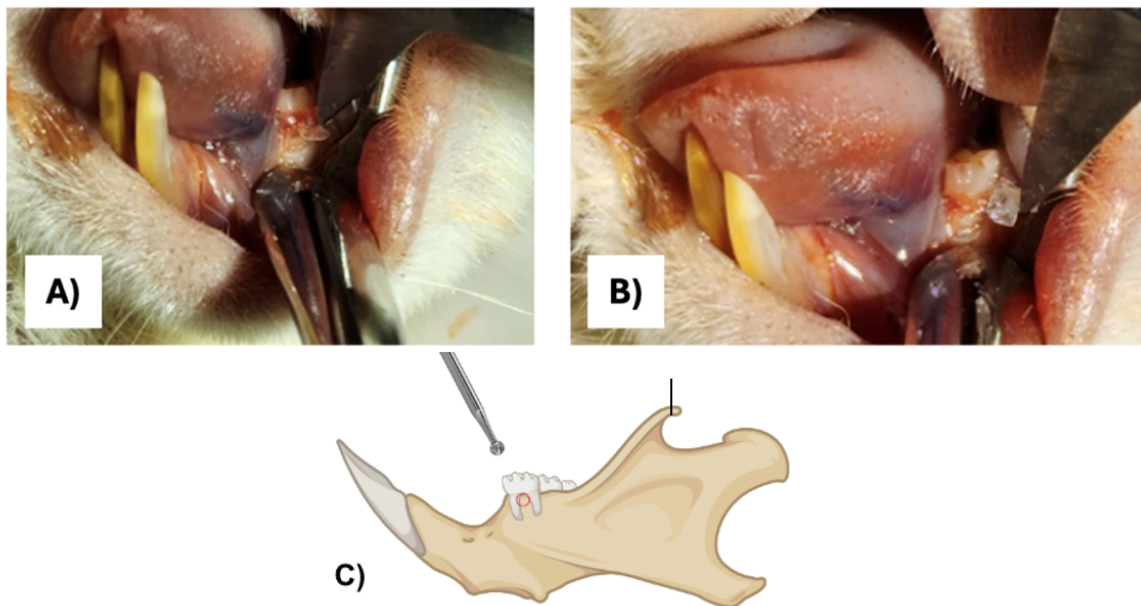


Figura 3 Creación del defecto perioontal en el modelo animal. Imágenes representativas del procedimiento quirúrgico realizado en el modelo animal. (A) Incisión y despegamiento de colgajo mucoperióstico en la región de incisivos superiores. (B) Preparación del defecto óseo estandarizado en la zona alveolar vestibular, previo a la colocación del andamio de celulosa-hidroxiapatita. (C) representación ilustrada del procedimiento quirúrgico.

5.5.7 Estudio radiográfico y CBCT

Las mandíbulas disecadas de ratas Wistar fueron sometidas a un protocolo estandarizado de radiografía con el objetivo de evaluar la delimitación de los defectos periodontales creados.

Para la adquisición de las imágenes se utilizó un equipo de rayos X NanoPix® (Eighteeth), acoplado a un sensor digital HyperLight-G® (Eighteeth), diseñado para radiografía dental de alta resolución. Las muestras se colocaron sobre una superficie acrílica estable, orientando la mandíbula de manera que el haz de rayos incidiera perpendicularmente al plano oclusal y de forma centrada en la zona de furca del molar tratado.

Se emplearon los parámetros de exposición recomendados para la toma de radiografías de incisivos inferiores en pacientes pediátricos, con una exposición de aproximadamente 0.08 a 0.10 segundos, voltaje de 70 kVp y corriente de 7 mA. Este tiempo de exposición fue seleccionado deliberadamente para evitar la sobreexposición de las estructuras mineralizadas y lograr un contraste adecuado de las densidades óseas, permitiendo distinguir con claridad las áreas regeneradas y las zonas de defecto.

Durante la toma, se mantuvo una distancia aproximada de 10cm, asegurando la reproducibilidad de las imágenes entre las diferentes muestras. Todas las radiografías fueron obtenidas bajo las mismas condiciones de calibración del equipo, y posteriormente se analizaron mediante software de procesamiento digital.

5.6 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó para evaluar la viabilidad celular de las células del ligamento periodontal cultivadas sobre el andamio en comparación con el grupo control a diferentes tiempos de evaluación (3, 7, 10 y 14 días). Los datos se expresaron como media \pm desviación estándar. Previo al análisis comparativo, se evaluó la distribución de los datos. Debido al tamaño reducido de la muestra, se emplearon pruebas estadísticas no paramétricas.

Para la comparación de la viabilidad celular entre el grupo control y el grupo con andamio en los distintos tiempos de evaluación, se utilizó la prueba de Kruskal–Wallis, seguida de la

prueba post hoc de Dunn para comparaciones múltiples cuando fue necesario. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo. El análisis estadístico se realizó utilizando un programa estadístico especializado.

5.7 Consideraciones éticas

"Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud":

Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II, I. Investigación con riesgo mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado.

Título segundo, Capítulo VI. De la investigación en órganos, tejidos y sus derivados, productos y cadáveres de seres humanos artículos 59 (obtención, conservación, utilización preparación suministro y destino final.) y 60 (además del debido respeto al cadáver humano, la observación del título decimocuarto en cuanto a la materia de control sanitario de la disposición de órganos, tejidos y cadáveres de seres humanos.)

Título séptimo. De la investigación que incluya la utilización de animales de experimentación. Capítulo único. Artículos 121-126.

6. RESULTADOS

6.1 Cultivo celular

Se obtuvo el cultivo primario a partir de ligamento periodontal, las células se observaron bajo microscopio visualizándose células adheridas de acuerdo con los criterios de la Sociedad Internacional de Terapia Celular (Dominic et al, 2006). a la superficie exhibiendo una morfología fibroblastoide homogénea (Figura 1), de acuerdo con los criterios de la Sociedad Internacional de Terapia Celular (Dominic et al, 2006).

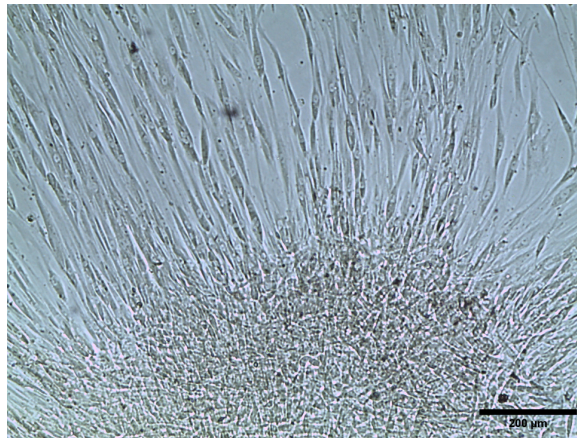


Figura 4 Las células troncales del ligamento periodontal. Objetivo 10X, barra de escala 200m, Imágenes tomadas con el microscopio invertido Leica de campo claro del Laboratorio de Ingeniería Tisular y Medicina Traslacional UNAM.

6.2 Fenotipo de las células troncales mesenquimales de ligamento periodontal

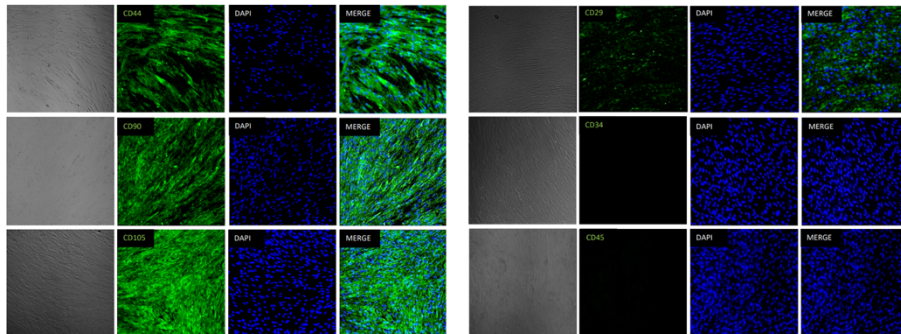


Figura 5 Expresión inmunofluorescente de marcadores de troncalidad de células mesenquimales del ligamento periodontal (PDLSCs).

Las PDLSCs muestran expresión positiva de los marcadores mesenquimales CD44, CD90 y CD105, evidenciada por la fluorescencia verde (FITC) y la tinción nuclear con DAPI (azul). En contraste, no se observó expresión de los marcadores hematopoyéticos CD29, CD34 y CD45, confirmando el fenotipo mesenquimal de las células. Las imágenes fueron capturadas mediante microscopía de fluorescencia a 20× de aumento.

6.3 Evaluación de la multipotencialidad de las PDMSCs

6.3.1 Ensayo de diferenciación osteogénica

La caracterización de la osteodiferenciación se realizó mediante la tinción de depósitos de calcio utilizando rojo de alizarina. Las células troncales del grupo control cultivadas con DMEM mostraron una morfología fibroblastoide (Figura 2B) y un marcaje negativo con rojo de alizarina (Figura 2A). Las células troncales del grupo experimental cultivadas con medio osteogénico mostraron depósitos de calcio densos (Figura 2D), estos depósitos fueron teñidos de rojo intenso por la tinción rojo de alizarina (Figura 2C), confirmando que estas células habían experimentado la diferenciación osteogénica.

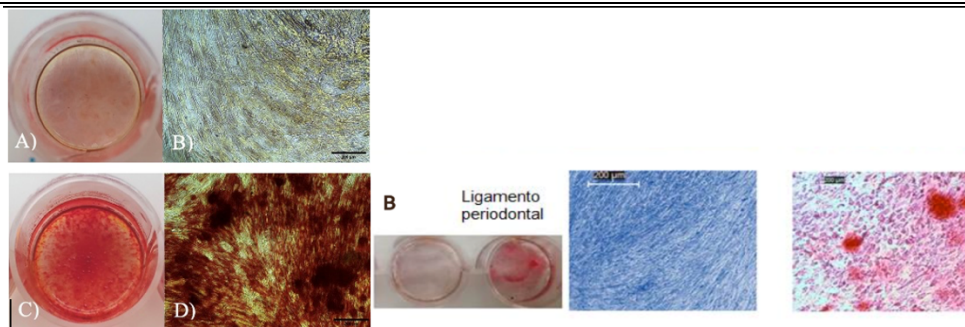


Figura 6 Células troncales de ligamento periodontal grupo control.

A) macroscópicamente y B) microscópicamente 10x. Células troncales del grupo experimental, los depósitos de calcio fueron teñidos de rojo intenso por la tinción rojo de alizarina. C) macroscópicamente y D) microscópicamente 10x. Barra de escala 200 μ m.

6.3.2 Ensayo de diferenciación condrogénico

La condrodiferenciación se evaluó mediante la tinción de glicosaminoglicanos utilizando azul alcian. Las células troncales del grupo control cultivadas con DMEM mostraron un marcaje ligeramente azul (Figura 3A, 3B), con respecto a las células troncales del grupo experimental cultivadas con medio condrogénico, se observa un aumento en la

presencia de glicosaminoglicanos teñidos de azul más intenso (Figura 3C,3D), probando de esta manera la diferenciación condrogénica.



Figura 7 Células troncales de ligamento periodontal, tinción azul alcian grupo control. A) macroscópicamente y B) microscópicamente 10x. Células troncales del grupo experimental, C) macroscópicamente y D) microscópicamente 10x. Barra de escala 200 μm .

6.4 Evaluaciones biológicas del constructo tisular

La composición del andamio y la preparación de los constructos tisulares son conceptos fundamentales en el campo de la ingeniería de tejidos y los biomateriales, especialmente en aplicaciones médicas como la regeneración de tejidos y órganos.

6.4.1 Ensayo de citotoxicidad

El ensayo realizado por MTS para evaluar si los andamios ($n=3$) de Qs/ZnO/CaCO₃ sobre las PLMSCs no son tóxicos y permiten la viabilidad y proliferación de las células, evidenció valores de viabilidad del $\sim 96\%$ en el tercer día, $\sim 83\%$ en el día 7 y $\sim 78\%$ en el día 10. No obstante, en el día 14, la viabilidad disminuyó un 10%, con un valor $\sim 68\%$. De acuerdo con los criterios establecidos por la norma ISO 10993-5:2009, que considera materiales con una viabilidad celular superior al 70% como no citotóxicos, los resultados obtenidos indican que los andamios evaluados pueden considerarse biocompatibles en las condiciones experimentales de este estudio.

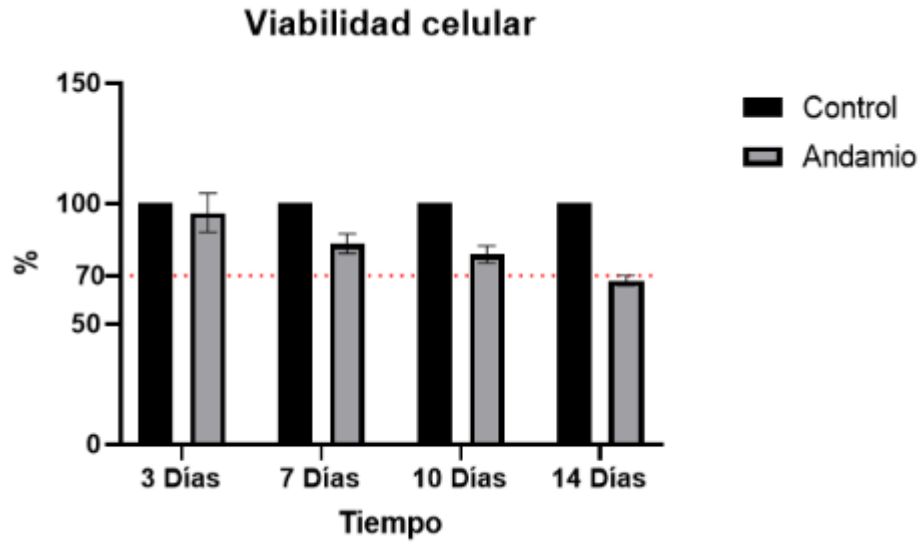


Figura 8 Viabilidad celular de células del ligamento periodontal cultivadas sobre el andamio de celulosa-hidroxiapatita en comparación con el grupo control a diferentes tiempos de evaluación (3, 7, 10 y 14 días).

6.4.2 Evaluación del efecto osteoinductor del andamio de Qs/ZnO/CaCO₃ sobre PLMSCs

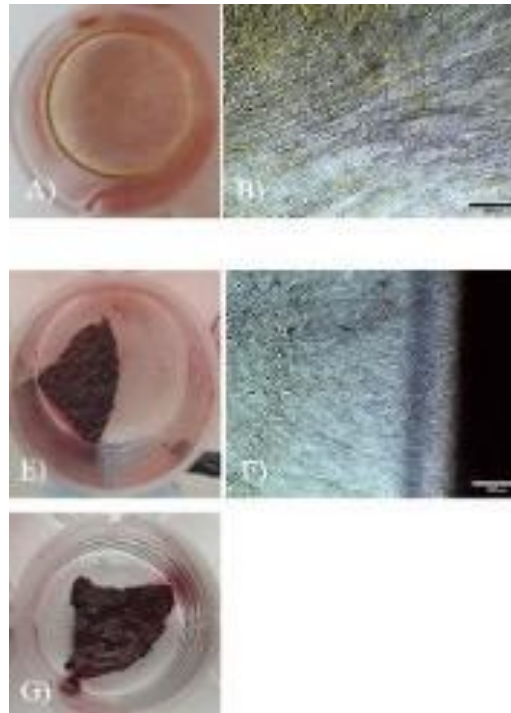


Figura 9 Células troncales de ligamento periodontal grupo control negativo

A) macroscópicamente y B) microscópicamente 10x. Células troncales del grupo control positivo, C) macroscópicamente y D) microscópicamente. Células troncales del grupo experimental sembradas en andamios de Qs/ZnO/CaCO₃, E) macroscópicamente y F) microscópicamente 10x. Barra de escala 200 μm. Andamio sin células, G) macroscópicamente.

6.5 Adhesión de las células sobre los andamios de Qs/ZnO/CaCO₃ por medio de Faloidina

El análisis mediante microscopia confocal se empleó para examinar la disposición del citoesqueleto de las troncales marcadas con faloidina y con DAPI para visualizar los núcleos celulares (Figura 5). Los resultados obtenidos revelan la presencia de fluorescencia roja, indicativa de la organización de microfilamentos de actina, así como la adhesión celular a la superficie de los andamios.

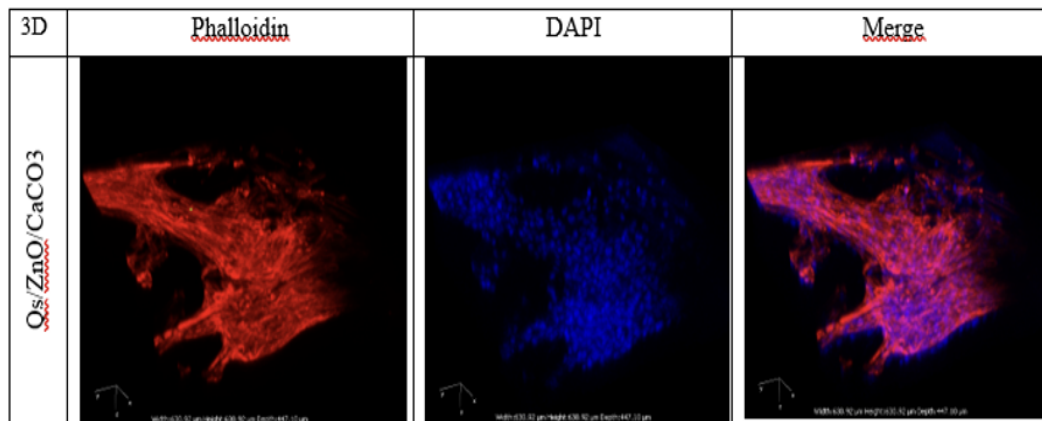


Figura 10 Proyección en plano Z de imágenes confocales. Los microfilamentos de actina de las células adheridas a la superficie del andamio aparecen en rojo y los núcleos celulares en azul, superposición de imágenes (merge) con las señales de faloidina y DAPI.

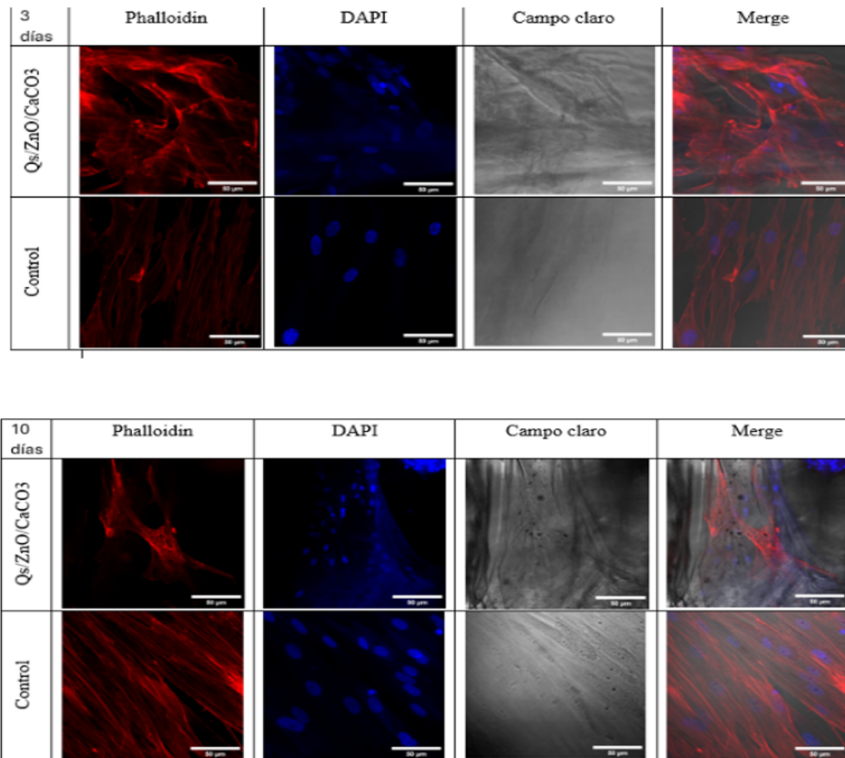


Figura 11 Micrografías de microscopía confocal que representan células troncales de ligamento periodontal (PDLSCs) Cultivadas en andamios de Qs/ZnO/CaCO₃, y grupo control respectivamente. Las imágenes muestran la organización del citoesqueleto de actina, resalta resaltado en rojo, así como la localización de los núcleos celulares, teñidos en azul con DAPI. Las micrografías adquiridas utilizando microscopía de campo claro y se ha aplicado la técnica de superposición de imágenes (merge) con las señales de faloidina y DAPI junto con la imagen de campo claro. La escala de la barra representa 50 μ m.

6.6 Mandíbulas de modelo murino

Las imágenes evidencian que los defectos sin tratamiento mantienen una pérdida de continuidad ósea. El grupo tratado con andamio sin células mostró evidencia limitada de regeneración ósea. En contraste, el grupo con andamio y células presentó mayor continuidad estructural y aumento de la radiodensidad en el área intervenida, lo que sugiere un proceso de regeneración ósea más favorable.

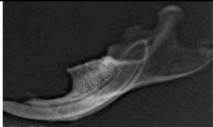

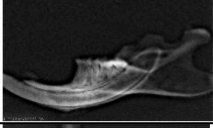


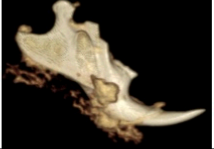
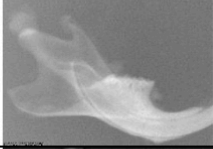
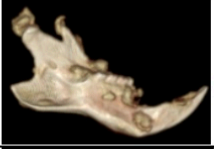
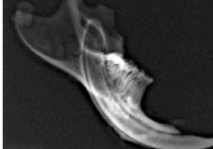
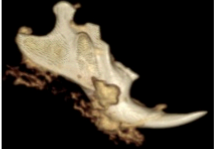
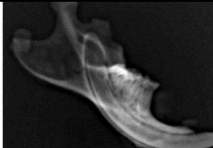
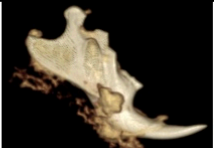
<i>Cuadrante</i>	Radiografía	Tomografía		
<i>Defecto solo</i>				
<i>Defecto solo</i>				
<i>Andamio sin Células lado Izquierdo</i>				
				
<i>Andamio con células</i>				
				

Figura 12 Imágenes radiográficas y tomográficas de mandíbulas en modelo murino con defecto óseo, andamio sin células y andamio con células.

7. DISCUSIÓN

El presente estudio evaluó la capacidad osteoinductora de un andamio de Qs/ZnO/CaCO₃ sembrado con células troncales del ligamento periodontal en un modelo de defectos de furca en ratas Wistar. Nuestros resultados mostraron que las células se adhirieron de forma adecuada al andamio, mantuvieron viabilidad y evidenciaron diferenciación hacia linaje osteogénico, además de observarse regeneración parcial del defecto en los grupos experimentales. Estos hallazgos son consistentes con lo reportado en la literatura, aunque existen diferencias relevantes al comparar con otros autores.

En cuanto al papel de las células troncales del ligamento periodontal (PDLSCs), Wen et al. (2024) señalan que su potencial regenerativo está limitado por la variabilidad biológica y el microambiente inflamatorio. Este planteamiento coincide con lo observado en nuestro trabajo, donde las células mostraron capacidad osteogénica, pero los resultados no siempre fueron homogéneos entre los grupos. En contraste, Lan et al. (2025) reportaron que la combinación de PDLSCs con un andamio híbrido de PCL/colágeno/acetato de celulosa y un hidrogel con nanopartículas mejoró notablemente la regeneración periodontal. A diferencia de Wen, que enfatiza las limitaciones de la célula, Lan demuestra que un andamio funcionalizado puede compensar dichas limitaciones. Nuestros hallazgos se alinean más con esta visión integradora, ya que el andamio Qs/ZnO/CaCO₃ favoreció la adhesión y diferenciación celular, lo que sugiere que el diseño del biomaterial es un factor crítico.

En relación con los andamios, diversos autores han propuesto que tanto la arquitectura como la composición química determinan su éxito. Woo et al. (2021) plantean que los andamios estratificados biomiméticos son ideales porque imitan la organización cemento–ligamento–hueso. Por otro lado, Anitasari et al. (2023) destacan que la incorporación de hidroxiapatita es fundamental por su similitud con el mineral óseo y su capacidad osteoinductiva. En nuestro estudio, el andamio no fue estratificado, pero sí presentó componentes bioactivos (ZnO y CaCO₃), lo cual puede explicar la regeneración parcial obtenida. Asimismo, Kai et al. (2025) demostraron que las nanofibras de celulosa sulfatada favorecen la adhesión y proliferación celular, confirmando que este componente

puede mejorar la interacción célula-material. Si bien nuestro andamio no incluyó celulosa, estos hallazgos abren la posibilidad de incorporar este polímero en futuros diseños para mejorar aún más la adhesión celular.

La adhesión celular fue un hallazgo clave en nuestro estudio, corroborado mediante faloidina y microscopía confocal. Este resultado coincide con lo descrito por Berniak et al. (2024), quienes afirman que la adhesión inicial mediada por integrinas y adhesiones focales es indispensable para que las células sobrevivan, proliferen y posteriormente se diferencien. De esta manera, se entiende que tanto la bioactividad de la hidroxiapatita como la adhesión temprana promovida por polímeros como la celulosa son procesos complementarios y no excluyentes.

Respecto a los modelos animales, nuestro trabajo utilizó ratas Wistar, con tres grupos experimentales de tres animales cada uno. Se observaron signos de regeneración parcial en los defectos tratados con el constructo tisular. Estos resultados guardan similitud con lo reportado por You et al. (2024), quienes también emplearon ratas y demostraron que la aplicación repetida de PDLSCs favoreció la regeneración periodontal y moduló el microbioma oral. Otros estudios han utilizado perros Beagle y minipigs, con tamaños de muestra entre 6 y 12 animales, reportando regeneración de ligamento y hueso, aunque sin reproducir completamente la organización del periodonto sano. Esto indica que, aunque los modelos animales pequeños como la rata permiten explorar la viabilidad inicial de los constructos, se requiere avanzar hacia modelos más grandes y cercanos a la clínica para evaluar funcionalidad y durabilidad a largo plazo.

Finalmente, este trabajo confirma que la regeneración periodontal requiere la integración de varios factores: células troncales viables, andamios bioactivos y un entorno que favorezca la adhesión y diferenciación. En el futuro, será necesario ampliar el número de animales, incorporar materiales híbridos que incluyan celulosa e hidroxiapatita, y prolongar los tiempos de seguimiento. Con ello se podrá establecer un protocolo más sólido que eventualmente pueda trasladarse a la práctica clínica y mejorar el pronóstico de lesiones complejas como las de furca.

8. CONCLUSIÓN

Se logro el cultivo la multidiferenciación y el de las células troncales del ligamento periodontal

Por otro lado, concluyo que el andamio tal por cual no es toxico para las células troncales del ligamento periodontal

El presente trabajo de investigación demuestra la importancia del uso de enfoques innovadores, como la ingeniería tisular y las terapias regenerativas, en la resolución de problemas complejos en la periodoncia, como las lesiones de furca. La integración de biomateriales, factores de crecimiento y células troncales, combinados con técnicas quirúrgicas tradicionales, representa un avance significativo hacia el tratamiento ideal para regenerar tejidos periodontales dañados.

Los resultados obtenidos en este estudio refuerzan la eficacia y biocompatibilidad de los andamios y factores aplicados, lo que confirma su potencial para favorecer la regeneración ósea y de tejidos blandos en defectos periodontales. Además, la comparación con estudios previos evidencia la necesidad de continuar explorando las combinaciones óptimas de materiales y técnicas para maximizar los beneficios clínicos.

En términos clínicos, la regeneración de las lesiones de furca no solo mejora la estabilidad y funcionalidad de los dientes comprometidos, sino que también contribuye a la calidad de vida de los pacientes al prevenir la progresión de la enfermedad periodontal y preservar la dentición natural. Por lo tanto, este trabajo refuerza la relevancia de un enfoque interdisciplinario que combine los avances tecnológicos con la experiencia clínica en la periodoncia moderna.

Finalmente, se concluye que la ingeniería tisular constituye una herramienta valiosa que beneficia significativamente la especialidad de periodoncia, abriendo nuevas posibilidades para el manejo y tratamiento exitoso de defectos complejos, como las lesiones de furca, con una visión regenerativa y conservadora.

9. LITERATURA CITADA

Augello, A., Kurth, T. B., & De Bari, C. (2010). Mesenchymal stem cells: A perspective from in vitro cultures to in vivo migration and niches. *European Cells and Materials*, 20, 121–133.

Bartold, P. M., Shi, S., & Gronthos, S. (2006). Stem cells and periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, 40(1), 164–172.

Bruder, S. P., Jaiswal, N., & Haynesworth, S. E. (1997). Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *Journal of Cellular Biochemistry*, 64(2), 278–294.

Darby, I., Sanelli, M., Shan, S., Silver, J., Singh, A., Soedjono, M., & Ngo, L. (2015). Comparison of clinical and cone beam computed tomography measurements to diagnose furcation involvement. *International Journal of Dental Hygiene*, 13(4), 241–245.

De Miguel, M. P., Fuentes-Julián, S., & Alcaina, Y. (2010). Pluripotent stem cells: Origin, maintenance and induction. *Stem Cell Reviews and Reports*, 6(4), 633–649.

Drury, J. L., & Mooney, D. J. (2003). Hydrogels for tissue engineering: Scaffold design variables and applications. *Biomaterials*, 24(24), 4337–4351.

Friedenstein, A. J., Chailakhjan, R. K., & Lalykina, K. S. (1970). The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Proliferation*, 3(4), 393–403.

Gronthos, S., Akintoye, S. O., Wang, C.-Y., & Shi, S. (2006). Bone marrow stromal stem cells for tissue engineering. *Periodontology 2000*, 41(1), 188–195.

Herrera, D., Figuero, E., Shapira, L., Jin, L., & Sanz, M. (2018). The new classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(Suppl 20), S286–S291.

Hutmacher, D. W. (2000). Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 21(24), 2529–2543.

Jepsen, S., Gennai, S., Hirschfeld, J., Kalemaj, Z., Buti, J., & Graziani, F. (2020). Regenerative surgical treatment of furcation defects: A systematic review and Bayesian network meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(Suppl 22), 352–374.

Kao, R. T., Murakami, S., & Beirne, O. R. (2009). The use of biologic mediators and tissue engineering in dentistry. *Periodontology 2000*, 50(1), 127–153.

Larato, D. C. (1975). Some anatomical factors related to furcation involvements. *Journal of Periodontology*, 46(10), 608–609.

Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1), 106–126.

Middleton, J. C., & Tipton, A. J. (2000). Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*, 21(23), 2335–2346.

Newman, M. G., Takei, H. H., Klokkevold, P. R., & Carranza, F. A. (2019). *Carranza's Clinical Periodontology* (13th ed.). Elsevier.

O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3), 88–95.

O'Brien, J., Wilson, I., Orton, T., & Pognan, F. (2000). Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry*, 267(17), 5421–5426.

Papapanou, P. N., & Tonetti, M. S. (2000). Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions. *Periodontology 2000*, 22(1), 8–21.

Pilloni, A., & Rojas, M. (2018). Furcation involvement classification: A comprehensive review and a new system proposal. *Dentistry Journal*, 6(3), 34.

Polimeni, G., Xiropaidis, A. V., & Wikesjö, U. M. E. (2006). Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontology 2000*, 41(1), 30–47.

Prockop, D. J. (1997). Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*, 276(5309), 71–74.

Rampersad, S. N. (2012). Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. *Sensors*, 12(9), 12347–12360.

Ratajczak, M., Zuba-Surma, E., Kucia, M., Poniewierska, A., Suszynska, M., & Ratajczak, J. (2012). Pluripotent and multipotent stem cells in adult tissues. *Advances in Medical Sciences*, 57(1), 1–17.

Rosales-Ibáñez, D. R., & Ojeda-Gutiérrez, M. C. F. (2011). Ingeniería tisular en odontología. *Revista ADM*, 68(4), 187–193.

Rossant, J. (2001). Stem cells from the mammalian blastocyst. *Stem Cells*, 19(6), 477–482.

Yusof, N. A. M., Noor, E., Reduwan, N. H., & Yusof, M. Y. P. M. (2021). Diagnostic accuracy of periapical radiograph, cone beam computed tomography, and intrasurgical linear

measurement techniques for assessing furcation defects: A longitudinal randomised controlled trial. *Clinical Oral Investigations*, 25(3), 923–932.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Valeria Montserrat Rea Hernández

Candidata para el grado de Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de
Periodoncia con Implantología Oral

Tesis: CAPACIDAD OSTEOINDUCTORA DE UN ANDAMIO SOBRE CELULAS
TRONCALES MESENQUIMALES DEL LIGAMENTO PERIODONTAL

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud.

Datos Personales: Nacida en Monterrey Nuevo León en 22 de marzo del 1996 hija de Jesús
Juan Rea Garza y Myrna Astrid Hernández Gijón.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido
Cirujano Dentista, grado obtenido en Junio de 2019.