



---

---

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
Facultad de Estomatología  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON OPCIÓN  
TERMINAL EN REHABILITACIÓN ORAL**

**COMPARACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR DE FIBROBLASTOS  
GINGIVALES HUMANOS SOBRE TRES DIFERENTES TIPOS DE  
RESINA PARA IMPRESIÓN 3D DE RESTAURACIONES  
TEMPORALES IMPLANTO SOPORTADAS**

PRESENTA

**LE. Mónica Antonio Flores**

**Matrícula: 223450016**

DIRECTOR PROYECTO:

C.D.E.P.B. Enrique Pérez Martínez ID: 100188222

DIRECTOR DISCIPLINARIO:

MTRO. Gerardo Quiroz Petersen ID: 100330044

DIRECTORA METODOLÓGICA:

DC. Carolina Sámano Valencia ID: 100526470

DIRECTORA EXTERNA:

Kathia Jarquín Yáñez FACMED UNAM

Mayo 2025







**BUAP**

Oficio No. FESIEP/CIFE/064/2025

C. Mónica Antonio Flores

Estudiante de la Maestría en Estomatología con opción en Terminal en Rehabilitación Oral

Matrícula No.: 223450016

Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado

Facultad de Estomatología

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, en mi doble calidad de Secretaria de Investigación y Presidenta del Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; aprovecho para felicitarla por el avance significativo en su proceso académico. En atención a su solicitud, me permito notificarle que su tesis titulada:

"Comparación de la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos sobre tres diferentes tipos de resina para impresión 3D de restauraciones temporales sobre prótesis implanto soportadas."

ha recibido la aprobación oficial para su impresión.

Su trabajo ha sido registrado en el Libro de Registros No. 08, página 01, con el No. de Asignación 2023222, quedando debidamente documentado en esta Secretaría de Investigación. Esta tesis será presentada como parte del procedimiento para su examen profesional, necesario para obtener el grado de Maestría en Estomatología.

Próximos pasos:

1. Impresión de la tesis: Proceda con los trámites de impresión conforme a los lineamientos establecidos por la Facultad.
2. Revisión del documento: Asegúrese de que el texto cumpla con los estándares académicos y formales.
3. Coordinación del examen profesional: Comuníquese con el Responsable de la Etapa Terminal de la Maestría de su elección para programar su examen de grado y gestionar los trámites administrativos correspondientes

Le recordamos que el cumplimiento de los plazos y requisitos establecidos es fundamental para garantizar la fluidez del proceso.

Reconocimiento y mensaje final:

Este logro refleja su esfuerzo, dedicación y el impacto de su investigación en el ámbito de la Estomatología. Le felicitamos por este avance significativo y confiamos en que continuará demostrando su compromiso académico y profesional.

Para cualquier consulta o información adicional, no dude en comunicarse con nosotros. Estamos a su disposición para acompañarla en esta etapa crucial de su formación.

Sin otro particular, le reitero mi más atenta y distinguida consideración y le deseo éxito en la etapa final de esta carrera académica.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a viernes 30 de mayo del 2025.

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana  
Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología

\*Nota: Se anexa Formato de Impresión de Tesis - C. Mónica Antonio Flores - Maestría en Estomatología - Terminal en Rehabilitación Oral - S.I.E.P. - Facultad de Estomatología - B.U.A.P. (origina) - p.s.c.y a.

\*C.c.p. Archivo

\*MCO, FJMA/MEP, GNRCO/yaneth

Secretaría de Investigación y  
Estudios de Posgrado  
Facultad de  
Estomatología

31 poniente 1304, Col. Volcanes  
Puebla, Pue.  
C.P. 72410  
Tel. Of. 22\*22 29 55 00  
Ext. 5526

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
**FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA**  
**SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL**

Para obtener el Grado de: Maestría en Estomatología con opción en Terminal en Rehabilitación Oral

**No. Registro CIFE:** 2023222.      **Fecha de Registro ante CIFE:** martes 19 de septiembre del 2023.

**Título de la Tesis:** "Comparación de la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos sobre tres diferentes tipos de resina para impresión 3D de restauraciones temporales sobre prótesis implanto soportadas".

**Nombre del estudiante:** Mónica Antonio Flores.

**Matrícula:** 223450016.

**Domicilio:** 27 A Norte #1025, San Alejandro, Puebla Pue. CP 72090

**No. Cel:** 95\*12 48 75 60

**Fecha de ingreso a la Facultad:** lunes 09 de enero 2023

**Firma:** \_\_\_\_\_

**Director de Tesis:** CDEPB. Enrique Pérez Martínez.

**Grado académico:** Cirujano Dentista con especialidad en Prótesis Bucal.

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100188222

**Tel. Cel.:** 22\*24 26 76 28

**Firma:** \_\_\_\_\_

**Director Disciplinario:** Mtro. Gerardo Quiroz Petersen

**Grado académico:** Maestro en Rehabilitación Oral.

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100330044

**Tel. Cel.:** 22\*21 82 84 16

**Firma:** \_\_\_\_\_

**Director Metodológico:** DC. Carolina Sámano Valencia

**Grado académico:** Doctor en Ciencias Químico-Biológicas.

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100526470.

**Tel. Cel.:** 44\*48 19 1822

**Firma:** \_\_\_\_\_

**Lector:** Mtra. Vianey Lino Aguilar

**Grado académico:** Maestría en Ciencias Odontológicas en el área de Periodoncia e Implantología

**Adscripción:** Facultad de Estomatología.

**ID:** 100425988

**Tel. Cel.:** 22\*22 37 70 47

**Firma:** \_\_\_\_\_

**Nombre y firma de aprobación por parte del Responsable de la Maestría en Estomatología en Terminal en Rehabilitación Oral.**

MEI. Guillermo Franco Romero

**Firma:** \_\_\_\_\_

**La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado**

Facultad de Estomatología,

**Autoriza la impresión de la Tesis.**

**MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana**



**Fecha oficial de emisión:** miércoles 28 de mayo del 2025.

**Sello** \_\_\_\_\_



Constancia No. FESIEP/CIFE/151/2023

MC. Enrique Pérez Martínez  
Responsable del Proyecto de Investigación  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla  
PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, la Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; **HACE CONSTAR**, que, el Proyecto de Investigación (Colectivo):

"Comparación de la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos sobre tres diferentes tipos de resina para impresión 3D de provisionales para coronas y prótesis parcial fija".

Presentado por

No.	Cargos	Nombres	ID
1	Responsable del Proyecto de Investigación:	MC. Enrique Pérez Martínez	100188222
2	Director Metodológico:	DC. Carolina Sámano Valencia	100526470
3	Director Disciplinario:	Mtra. Gerardo Quiroz Petersen	100330044
4	Asesor Externo:	DC. Maura Cárdenas García Facultad de Medicina BUAP	100337388
5	Alumno de Maestría: Terminal en Rehabilitación Oral	C. Mónica Antonio flores	223450016

ha sido **ACEPTADO**, y quedara registrado en esta Secretaría de Posgrado, en el libro de registros C.I.F.E. No. 08, en la hoja No. 01 y con registro No. 2023222.

Para los fines legales que los interesados convengan, y sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., martes 19 de septiembre de 2023

MC. Farid Alfonso Dipp Velázquez  
Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología



\*C.c.p. Archivo  
\*MTR. FJMA/DR.FADV/Keneth

Secretaría de Investigación y  
Estudios de Posgrado  
Facultad de  
Estomatología

31 poniente 1304, Col. Volcanes  
Puebla, Pue.  
C.P. 72410  
Tel. Of. 22\*22 29 55 00  
Ext. 5526



Constancia No. FESIEP/CIFE/130/2025

CDEPB. Enrique Pérez Martínez  
Director y Responsable del Proyecto de Investigación  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla  
P R E S E N T E

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, en mi doble calidad de Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado y Presidenta del Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, me permito informarle sobre una actualización significativa respecto al Proyecto de Investigación (Colectivo) que Usted lidera.

i. Antecedentes del Proyecto de Investigación

- 🚩 Número de Asignación: 2023222.
- 🚩 Fecha de Registro: martes 19 de septiembre del 2023.
- 🚩 Libro de Registro: 08, página 01.
- 🚩 Comité ante el cual se registró: Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.).

Título original:

"Comparación de la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos sobre tres diferentes tipos de resina para impresión 3D de provisionales para coronas y prótesis parcial fija".

Integrantes originales del Proyecto de Investigación:

No.	Cargos	Nombres	ID - Matrículas
1	Director y Responsable del Proyecto de Investigación:	CDEPB. Enrique Pérez Martínez	100188222
2	Director Disciplinario:	Mtro. Gerardo Quiroz Petersen	100330044
3	Directora Metodológica:	DC. Carolina Sámano Valencia	100526470
4	Asesora Externa:	DC. Maura Cárdenas García Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (B.U.A.P.), Puebla, Puebla, México.	100337388
5	Estudiante de Maestría en Estomatología <u>Terminal en Rehabilitación Oral</u>	C. Mónica Antonio Flores	223450016



ii. Solicitud de Modificación y Aprobación:

El día lunes 28 de abril presente año, el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.) recibió formalmente su solicitud de actualización respecto a los cambios en el Título y la designación de la nueva Asesora Externa.

Tras un análisis detallado y conforme a los criterios establecidos, se ha aprobado la actualización solicitada.

iii. Datos Actualizados del Proyecto de Investigación

Título modificado:

"Comparación de la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos sobre tres diferentes tipos de resina para impresión 3D de restauraciones temporales sobre prótesis implanto soportadas".

Nueva composición del equipo de investigación:

No.	Cargos	Nombres	ID - Matrículas
1	Director y Responsable del Proyecto de Investigación:	CDEPB. Enrique Pérez Martínez	100188222
2	Director Disciplinario:	Mtro. Gerardo Quiroz Petersen	100330044
3	Directora Metodológica:	DC. Carolina Sámano Valencia	100526470
4	Asesora Externa:	DC. Katia Jarquín Yáñez Facultad de Medicina - Universidad Nacional Autónoma de México (F.M. - U.N.A.M.) - Ciudad de México, México.	100337388
5	Estudiante de Maestría en Estomatología <u>Terminal en Rehabilitación Oral</u>	C. Mónica Antonio Flores	223450016

En virtud de lo anterior, se deja constancia de las modificaciones aprobadas, mismas que surten efectos a partir de la presente comunicación.

Reiterando mi disposición para atender cualquier consulta adicional, me permito expresarle mi reconocimiento por su compromiso con la investigación en nuestra Facultad.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a martes 29 de abril de 2022

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana  
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado,  
Facultad de Estomatología




\*C.c.p. Archivo  
\*MCO. FJMA/MEP. GNRCQ/Yaneth

Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Estomatología  
31 poniente 1304, Col. Volcanes  
Puebla, Pue.  
C.P. 72410  
Tel. Of. 22\*22 29 55 00  
Ext. 5526

Página 2 de 2

# Carolina Samano Valencia

## Tesis Mónica

-  Ejercicio de tesina
-  Coincidencias
-  JSEI

---

### Detalles del documento

Identificador de la entrega  
trn:oid:::1:3140963637

Fecha de entrega  
29 ene 2025, 5:34 p.m. GMT-6

Fecha de descarga  
29 ene 2025, 5:47 p.m. GMT-6

Nombre de archivo  
TESSS\_ANTONIO\_FLORES\_MONICA.docx

Tamaño de archivo  
61.8 MB

65 Páginas

14,157 Palabras

76,494 Caracteres




## 13% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

### Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado

### Fuentes principales

- 10%  Fuentes de Internet
- 4%  Publicaciones
- 6%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

### Marcas de integridad

#### N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.



THE AMERICAN PROSTHODONTIC SOCIETY HEREBY PRESENTS THIS CERTIFICATE OF MERIT TO

**MONICA ANTONIO FLORES**

FOR CONTRIBUTION TO THE SCIENTIFIC PROGRAM  
OF THE SOCIETY'S 95<sup>TH</sup> ANNUAL MEETING AS A DIGITAL POSTER PRESENTER TITLED:

**CYTOTOXICITY OF 3D PRINTED RESIN MATERIALS FOR TEMPORARY IMPLANT SUPPORTED FIXED RESTORATIONS ON HUMAN GINGIVAL  
FIBROBLASTS (HGFS) CELLS**

TERRY LINDQUIST, DDS, DIGITAL POSTER PROGRAM CHAIR



**INCMNSZ**

La Unidad de Bioquímica «Dr. Guillermo Soberón Acevedo» del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición «Salvador Zubirán»

Extiende la presente constancia a:


## Mónica Antonio Flores

Por su asistencia al curso teórico-práctico «*Técnicas básicas de cultivos de líneas celulares de mamífero*» (10 horas curriculares).

M. En C. José Luis Ventura Gallegos  
Técnico Académico Titular «B»  
Instituto de Investigaciones Biomédicas  
(IIBO), UNAM

Dr. Alejandro Zentella Dehesa  
Jefe de la Unidad de Bioquímica  
IIBO-UNAM, INCMNSZ.

Ciudad de México a 27 de Mayo del 2023

 <p>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN "SALVADOR ZUBIRÁN"</p>	<p>27 MAY 2023</p>
<b>UNIDAD DE BIOQUÍMICA</b>	

## **ÍNDICE**

<b><u>1</u></b>	<b><u>INTRODUCCIÓN</u></b>	<b>15</b>
<b><u>2</u></b>	<b><u>PALABRAS CLAVE</u></b>	<b>16</b>
<b><u>3</u></b>	<b><u>ANTECEDENTES</u></b>	<b>17</b>
	ANTECEDENTES GENERALES	17
	ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	24
<b><u>4</u></b>	<b><u>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</u></b>	<b>27</b>
<b><u>5</u></b>	<b><u>JUSTIFICACIÓN</u></b>	<b>28</b>
<b><u>6</u></b>	<b><u>HIPÓTESIS</u></b>	<b>29</b>
	HIPÓTESIS CIENTÍFICA	29
	HIPÓTESIS NULA	29
<b><u>7</u></b>	<b><u>OBJETIVOS</u></b>	<b>29</b>
	OBJETIVO GENERAL	29
	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
<b><u>8</u></b>	<b><u>MATERIALES Y MÉTODOS</u></b>	<b>30</b>
	DISEÑO DEL ESTUDIO	30
	POBLACIÓN Y MUESTRA	30
	CRITERIOS DE SELECCIÓN	31
	VARIABLES (DEFINICIÓN CONCEPTUAL, OPERACIONAL, ESCALA Y CATEGORÍA)	32
	CONCORDANCIA Y FIABILIDAD	33
	UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL	33
	PROCEDIMIENTOS, TÉCNICAS Y FUENTES DE RECOLECCIÓN	34
<b><u>9</u></b>	<b><u>RESULTADOS</u></b>	<b>44</b>
	DIAGRAMA DE FLUJO	57
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	58

<b><u>10</u></b> <b>DISCUSIÓN</b>	<b>59</b>
<b><u>11</u></b> <b>CONCLUSIONES</b>	<b>62</b>
<b><u>12</u></b> <b>BIOÉTICA</b>	<b>63</b>
<b><u>13</u></b> <b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>65</b>
<b><u>14</u></b> <b>ANEXOS</b>	<b>69</b>

## 1 INTRODUCCIÓN

Dentro de los principales problemas odontológicos que se presentan en la práctica clínica se encuentra el edentulismo ya sea parcial o total en la cavidad oral, el cual afecta significativamente la armonía oclusal y estética del paciente así como el pronóstico e integridad de los órganos dentarios remanentes. Al realizar un plan de tratamiento en estos casos se deben de contemplar diferentes opciones para solucionar el problema, lo que resulta en un aumento significativo de las expectativas de los pacientes(1).

Tomando en cuenta lo anterior, al realizar tratamientos integrales se incluye: la rehabilitación de dientes con tejido remanente para la preparación de coronas, rehabilitación de implantes dentales e incluso prótesis parciales fijas, donde se observen ausencias de uno o más dientes. A lo largo de los años se han realizado avances en cuanto a la planeación, fabricación, elección de materiales y colocación de las restauraciones tanto temporales como definitivas por lo que actualmente si se realiza una restauración temporal impresa se pueden obtener muchos beneficios para el paciente y el estomatólogo tales como exactitud, ahorro de tiempo, practicidad, rapidez y estética (2).

Enfocándonos provisionales de coronas y prótesis parcial fija son definidos como restauraciones temporales utilizadas durante el proceso de fabricación de la restauración definitiva del tratamiento planeado y tienen como objetivo proteger la estructura dental preparada y la pulpa de estímulos térmicos, mecánicos y noxas biológicas así como participar en la estabilización de la posición del diente, restaurar estética y asegurar una función fonética y masticatoria. Por lo que durante ese periodo se decide utilizar biomateriales con indicaciones para un corto plazo de tiempo que va de un día a tres meses como máximo (3)

Dependiendo de la cantidad de dientes ausentes o el plan de tratamiento ya sea para dientes unitarios o prótesis parcial fija será el tipo de extensión de la restauración que en su defecto será sobre tejidos blandos o únicamente con apoyo

en tejido dental. Es aquí donde la biocompatibilidad de los materiales utilizados para la fabricación de los provisionales juega un papel importante, ya que al estar en contacto directo con la encía ya sea sana o posterior a un procedimiento quirúrgico como extracción dental o alargamiento coronario, aumentan las probabilidades de desarrollar reacciones adversas (4).

Con relación a esto es importante determinar componentes, características e indicaciones de los materiales de impresión 3D que se utilizan en la industria odontológica para así mejorar el pronóstico del tratamiento. En la actualidad no existen estudios que evalúen la compatibilidad con tejidos blandos de las resinas de impresión 3D de las casas comerciales utilizadas en este estudio, las cuales fueron seleccionadas ya que son las más utilizadas en el posgrado de rehabilitación Oral de la FEBUAP. La investigación se realizará mediante la generación de cultivos celulares *in-vitro* y el empleo de impresoras 3D para la fabricación de discos de resina de impresión 3D. Se prevé obtener resultados concisos esto por las condiciones en las que se desarrolla el presente estudio.

De modo que este estudio pretende dar a conocer resultados en los que se identifique la resina para impresión 3D con mejor biocompatibilidad y la de mejores resultados esto en cuanto a la disminución del potencial de generar reacciones adversas a nivel clínico y reacciones de citotoxicidad a nivel celular, por la interacción presente entre las superficies de resina para impresión 3D con los fibroblastos gingivales humanos. En la investigación se pretende obtener resultados que influyan en la toma de decisiones clínicas respecto al proceso de selección de materiales y fabricación de los mismos en pacientes que sean candidatos para la utilización de provisionales para coronas y prótesis parcial fija.

## **2 PALABRAS CLAVE**

Fibroblastos, tejidos blandos, resinas de impresión 3D, provisionales, citotoxicidad.

### 3 ANTECEDENTES

#### ANTECEDENTES GENERALES

#### FIBROBLASTOS

El tejido conjuntivo adulto abarca una gran familia de tejidos que cumplen diversas funciones, dentro de las que se encuentran dar forma y soporte al cuerpo y órganos, conectar y anclar sus componentes, intercambiar nutrientes y productos de desecho con otros tejidos, defender y proteger, y almacenar grasa en el tejido adiposo para amortiguar y regular la temperatura (5,6).

Histológicamente se puede clasificar como laxo o denso: según la densidad y proporción de los componentes fibrosos de la Matriz Extracelular (MEC) y puede estar distribuido de forma regular como por ejemplo en los tendones o de manera irregular como en la dermis (Tabla 1) (7,8).

Tabla 1. Clasificación del tejido conjuntivo propiamente dicho

<i>Tipo</i>	<i>Localizaciones principales</i>
<b>Tejido conjuntivo del adulto</b>	-En la mayoría de los tejidos y órganos; mucosas; directamente bajo el epitelio.
Laxo (areolar)	
Denso	-Dermis de la piel; cápsulas de órganos; submucosa de vísceras huecas.
<input type="checkbox"/> Irregular	
<input type="checkbox"/> Regular	-Tendones; ligamentos; aponeurosis; córnea.
<b>Formas de tejido conjuntivo especializado</b>	-Tejido subcutáneo; epiplón; mesenterios; mama; médula ósea.
Adiposo (graso)	-Túnica media de las grandes arterias; ligamentos elásticos (nucales y amarillos); pulmones.
Elástico	-Estroma de los órganos linfoides, médula ósea, hígado.
Reticular	
<b>Tejido conjuntivo embrionario</b>	
Mesenquimatoso	-Principalmente en el embrión y el feto; perivascular en el adulto. -Cordón umbilical (gelatina de Wharton).
Mucoso	

Fuente: Netter. Histología esencial. Burrell Bustos Ma., et al.(6).

Para un correcto funcionamiento de este tejido debe existir homeostasis entre las células que lo conforman como lo son los fibroblastos, mastocitos, macrófagos,

células plasmáticas, adipocitos, pericitos, de la matriz extracelular y de la sustancia fundamental amorfa en la cual se suspenden fibras de colágeno, elásticas y reticulares (9).

Normalmente los fibroblastos se encuentran inactivos en el tejido conectivo maduro y se suelen llamar fibrocitos, pero cuando existe una herida se activan e inician su proliferación y empiezan a sintetizar nuevas fibras y sustancia fundamental para la matriz extracelular para así realizar el remodelado tisular(10).

En cuanto a su descripción morfológica se describen como células ovoideas que poseen procesos filiformes con ramificaciones, tienen un núcleo elíptico y eucromático con 1 ó 2 núcleos visibles. Si bien dentro de su estudio microscópico muestran ciertas propiedades tintoriales de su citoplasma las cuales van cambiando dependiendo de su situación funcional, cuando se encuentran en un estado activo o inmaduro su citoplasma se ve relativamente bien pero basófilo y cuando están maduras tienen un citoplasma ligeramente acidófilo y difícilmente visible con un aspecto homogéneo, también se encuentra un aparato de Golgi prominente cerca del núcleo, numerosas vacuolas pequeñas y vesículas asociadas al aparato de Golgi, mitocondrias de forma ovalada y de bastón dispersas en el citoplasma, un retículo endoplasmático rugoso (RER) extenso en células con una activa secreción (7,9–11).

## **CULTIVOS CELULARES**

El cultivo celular hace referencia a células que se encuentran dispersas en un tejido las cuales se obtiene por disgregación ya sea química, mecánica o enzimática. Anteriormente estos procesos llevaban el nombre de cultivo tisular ya que los cultivos se realizaban por fragmentos de tejido, en los cuales sin ningún proceso de disgregación las células migraban y comenzaban a proliferar (12).

Esta técnica tiene ciertas ventajas dentro de las que se encuentra el control de las condiciones fisicoquímicas y fisiológicas, hablando de las fisicoquímicas se encuentran la temperatura, el pH, la presión de oxígeno (O<sub>2</sub>) y dióxido de carbono y por las fisiológicas nos referimos a la composición del medio de cultivo en

metabolitos, nutrientes, hormonas y de más sustancias que participen en su mantenimiento y crecimiento correcto (13,14).

Dentro de las desventajas de estos cultivos se encuentra tener a disposición todo el equipamiento necesario para evitar contaminación por microorganismos y controlar las condiciones adecuadas para la supervivencia de los mismos(6).

Estos cultivos celulares tienen ciertas características las cuales varían entre cultivos por disgregación o por migración en los que se produce un proceso de selección y aquí unas células proliferan más que otras, dentro de los tipos celulares se encuentra el fibroblasto el cual a nuestro interés es importante mencionar que tras una serie de subcultivos, lo que significa que, tras un número limitado de divisiones, van a sufrir un cambio que les provocará senescencia (muerte celular). A este grupo de células se les llama líneas celulares finitas, ya que dejarán de dividirse tras 25-40 divisiones en cultivo. Esta deficiencia en su capacidad de proliferación se puede deber al acortamiento de los telómeros de sus cromosomas. La línea celular utilizada en los cultivos para este estudio son fibroblastos gingivales (6).

Por otro lado, se encuentran las células infinitas que tienen la capacidad de crecer indefinidamente. A esto se le llama transformación lo cual se debe a una serie de alteraciones genéticas que son o de causa espontánea o inducida mediante agentes químicos, virus o radiaciones. Es importante saber que este fenómeno solo sucede en células de roedores, las que provienen de tumores humanos o animales y no en células humanas sanas (13).

## **EVALUACIÓN DE CITOTOXICIDAD IN VITRO DESCRITA POR LA NORMA ISO 10993-5:2009 (E)**

La prueba de citotoxicidad se encuentra dentro del grupo de pruebas que se encargan de la evaluación y cribado que utiliza células tisulares *in vitro* y así poder observar la reproducción, el crecimiento celular y efectos morfológicos de productos sanitarios. (4,15)

Si bien se considera la prueba de elección por su rapidez, alta sensibilidad y sencillez. La Organización Internacional de Estandarización en la ISO 10993-5 estableció tres tipos de pruebas de citotoxicidad las cuales son: por contacto directo,

contacto indirecto (en esta se incluyen el ensayo de superposición en agar y la difusión por filtro) y pruebas de extracción (16).

Dentro de estos métodos de detección establecidos en la ISO 10993-5:2009(E) para determinar la viabilidad celular, se describe a la prueba de extracto como una evaluación cualitativa y cuantitativa de la citotoxicidad, en el cual su principio base es la medición del rendimiento de la deshidrogenasa mitocondrial, conocida como ensayo 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolio bromuro (metil tiazolil tetrazolio; MTT) (17).

Por otro lado, está la prueba por contacto directo que hace una evaluación cualitativa y cuantitativa de la citotoxicidad, y se produce observando cambios morfológicos detecta cambios en el número de células y refleja directamente el impacto que tiene probar dispositivos médicos en las células (17).

Y bien, el último tipo de prueba es por contacto indirecto el cual si es por filtración molecular permite una evaluación cualitativa de la citotoxicidad la cual es detectada mediante la evaluación de la actividad de la monocapa de succinato dehidrogenasa por los productos sanitarios. Finalmente, si es por ensayo de superposición de agar se puede hacer una evaluación cualitativa, pero para evaluar productos sanitarios biológicos que pueden lixiviar sustancias tóxicas y se realiza en productos sanitarios o extractos que puedan difundirse en el agar para su evaluación (15).

Para determinar la citotoxicidad por medios de cultivos cualitativos que es la opción más apropiada para fines de cribado se examinan las células microscópicamente utilizando tinción citoquímica y se evalúan los cambios, como por ejemplo en la morfología general celular, la vacuolización, la lisis, la integridad de la membrana y el desprendimiento de la misma; estos cambios son registrados en un informe de prueba ya sea de forma numérica o descriptiva, por lo que en base a los siguientes cuadros se pueden calificar las muestras de ensayo (Tablas 2 y 3) (16,18).

Tabla 2. Clasificación de la morfología cualitativa de la citotoxicidad de los extractos.

<b>Grado</b>	<b>Reactividad</b>	<b>Condiciones de todas las células</b>
<b>0</b>	Ninguno	Gránulos intracitoplasmáticos discretos, sin lisis celular, sin reducción del crecimiento celular.

1	Leve	No más del 20 % de las células son redondas, poco adheridas y sin gránulos intracitoplasmáticos, o muestran cambios en la morfología; ocasionalmente hay células lisadas; sólo se observa una ligera inhibición del crecimiento.
2	Medio	No más del 50 % de las células son redondas, desprovistas de gránulos intracitoplasmáticos, sin lisis celular extensa; no más del 50 % de inhibición del crecimiento observable.
3	Moderado	No más del 70 % de las capas celulares contienen células redondeadas o están lisadas; las capas celulares no están completamente destruidas, pero se observa una inhibición del crecimiento superior al 50 %.
4	Grave	Destrucción casi completa o completa de las capas celulares.

Fuente: ISO 10993-5: 2009(E) (16).

Tabla 3. Grados de reactividad celular para la prueba de difusión en agar y filtro y la prueba de contacto directo.

Grado	Reactividad	Descripción de la zona de reactividad
0	Ninguno	No hay zona detectable alrededor o debajo de la muestra.
1	Leve	Algunas células malformadas o degeneradas bajo la muestra.
2	Medio	Zona limitada al área bajo la muestra.
3	Moderado	Zona que amplía el tamaño de la muestra hasta 1,0 cm.
4	Grave	Zona que se extiende más allá de 1,0 cm del espécimen.

Fuente: ISO 10993-5: 2009(E) (16).

### PROVISIONALES PARA CORONAS Y PRÓTESIS PARCIAL FIJA

Una restauración temporal está definida como una prótesis provisional ya sea fija o removible diseñada para mejorar la estética y función por un tiempo limitado la cual será sustituida por una prótesis dental definitiva. Así mismo se utiliza para ayudar a determinar la eficacia terapéutica de un plan de tratamiento específico (19).

Dentro de las características que tiene un provisional están el hecho de que permiten planear citas con tiempos de trabajo óptimos, visualizar los resultados estéticos, mantener una salud tisular deseable por un correcto sellado periférico de la restauración temporal con la preparación del sustrato y otorga soporte para una impresión definitiva de alta calidad (20).

Aunado a esto, se pueden clasificar en provisionales inmediatos o provisionales fabricados en laboratorio dental, y en cuanto en sus técnicas clínicas de elaboración se pueden obtener mediante: (20,21).

- a) Técnica con matriz de material de impresión alginato o masilla de silicona por adición: en esta técnica se carga con el material provisional la matriz y se lleva directo a boca o sobre un modelo de estudio, se recorta el provisional, pule y cementa sobre el diente.
- b) Técnica directa/indirecta: con esta técnica se lleva a laboratorio para la fabricación del provisional de forma análoga a base de acrílico auto o termo polimerizable y posteriormente durante el procedimiento clínico se realiza un rebase de dicha restauración temporal, esta técnica actualmente es la más utilizada tanto en provisionales para coronas y prótesis parcial fija sobre dientes así como para provisionales sobre implantes.
- c) Impresión con resina 3D: se refiere al diseño digital e impresión 3D con resina biocompatible indicada para restauraciones temporales de coronas y prótesis parcial fija.

### **RESINA DE IMPRESIÓN 3D**

En los últimos años, la odontología digital ha incrementado su auge y cada vez aparecen nuevos materiales y técnicas para su utilización, lo que permite observar un cambio y evolución constante, parte de las ventajas que tiene el flujo digital son la reducción de costos, tiempo de espera de los pacientes y menor número de citas (22).

Si bien la impresión 3D se ha convertido en una alternativa de los materiales fresados, clínicamente sus indicaciones están limitadas (23).

En particular el uso de las impresoras 3D con certificación para uso de resinas dentales se ha ido convirtiendo en una opción al alcance de todos, esto aunando el interés de empresas, odontólogos y fabricantes (24).

Para su proceso de fabricación, los objetos tridimensionales se pueden obtener de fabricación aditiva esto es tras la impresión capa por capa que se puede clasificar en 7 categorías (25,26).

- Estereolitografía (SLA)
- Deposición directa de energía (DLP)
- Fusión basada en polvo
- Extrusión de material
- Laminación
- Chorro de tinta
- Chorro de aglutinante

De las técnicas de impresión más utilizadas son la estereolitografía y la impresión 3D por DLP. En la primera, la plataforma de fabricación se sumerge en resina líquida la cual es polimerizada por un láser ultravioleta (UV), este láser a su vez dibuja una porción transversal del objeto 3D para seguir el proceso de formar capa por capa. Una vez que esa capa se ha formado, la plataforma comienza a descender en una distancia igual a la capa formada, este grosor permite que la resina que no ha sido obtenida cubra la capa anterior, es así como este proceso se repite varias veces hasta que da como resultado la construcción del objeto tridimensional impreso, en cuanto a la impresión por DLP ésta utiliza un proyector de luz digital como fuente de luz esto para solidificar la resina líquida expuesta y no un láser ultravioleta para formar capas sólidas apilables que posteriormente darán como resultado un objeto sólido (5,24,27–29).

Existe un gran número de nuevos materiales para fabricación aditiva y su uso a nivel dental, a continuación, en la Tabla 4 se muestran los componentes que tiene cada tipo de resina 3D para impresión de provisionales de coronas y prótesis parcial fija, así como las reacciones adversas descritas por las casas comerciales utilizadas en este estudio:

Tabla 4. Relación entre componentes y reacciones adversas para cada tipo de resina para guías quirúrgicas proporcionados por los fabricantes (30,31).

Casa comercial	Componentes peligrosos	Método de desinfección	Reacciones adversas descritas por el fabricante
Seed C&B LeafDental MR	No hay información proporcionada por la casa comercial.	Isopropanol 98% durante 3 min en baño de ultrasonidos	-Irritación ocular grave. -Podría causar irritación cutánea. -Podría causar irritación de las vías respiratorias. -Reacción alérgica en la piel
Nextdent C&B MFH MR	7,7,9(or 7,9,9)-trimethyl-4,13-dioxo-3,14-dioxa-5,12-diazahexadecane-1,16-diil bimetacrilato; etileno dimetacrilato; HEMA; TPO; E-BPA; dióxido de titanio; mequinol; 4-metoxifenol; Éter monometílico de hidroquinona	Alcohol isopropílico al 90% durante 5 minutos	-Irritación ocular grave. -Irritación de las vías respiratorias. -Irritación cutánea. -Reacción alérgica en la piel. -Tóxico para los organismos acuáticos.
iFUN Temp MR	No hay información proporcionada por la casa comercial.	Alcohol isopropílico al 70% durante 5 minutos	- Reacción alérgica en la piel. -Provoca irritación ocular grave. -Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Fuente: Elaboración propia.

## ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

En los últimos años se han realizado pocos estudios sobre la citotoxicidad que presentan los fibroblastos gingivales al contacto con resinas de impresión 3D que empero se han encontrado resultados que recomiendan seguir investigando y evaluando dichos compuestos lixiviables y su biocompatibilidad con los tejidos de la cavidad oral (32,33).

En un estudio realizado por Frasher I., et al. (3) en el 2022 evaluaron el efecto de resinas convencionales y resinas de impresión 3D para la fabricación de restauraciones provisionales sobre queratinocitos gingivales, en donde expusieron queratinocitos gingivales humanos (IHGKs) a los biomateriales antes mencionados y realizaron ensayos XTT a las 24 hrs, 48 hrs, 72 hrs o 144 hrs para cuantificar la respuesta proinflamatoria, donde se determinó la cantidad de proteína IL-6 y 8 entre los grupos, de lo estudiado concluyeron que en comparación con las restauraciones

convencionales, las restauraciones provisionales impresas en 3D podrían inducir efectos más negativos sobre la salud gingival y probablemente también pulpar, ya que la viabilidad y la respuesta proinflamatoria de los queratinocitos orales se ven afectadas más intensamente por estos materiales.

Por otro lado en 2023 Folwaczny M. et al, (34), prepararon muestras de cuatro materiales de resina dental para la impresión 3D de restauraciones provisionales (MFH, Nextdent MR; GC Temp, GC MR; Freeprint temp, Detax MR; 3Delta temp, Deltamed MR) y un material de obtención sustractiva (Grandio disc, Voco) y un material convencional para provisionales (Luxatemp, DMG), a estos materiales se expusieron células del ligamento peridontal (PDL-hTERT) para determinar la viabilidad celular, y se realizaron ensayos de XTT y se evaluó la expresión de citocinas proinflamatorias IL-6 y 8. Los autores concluyeron que el material Luxatemp y el material aditivo 3Delta temp afectan gravemente la viabilidad celular cuando están en contacto directo con las células PDL-hTERTs.

Gia-Tae et al, (35) en el 2022 realizaron un estudio en el cual imprimieron muestras usando fenilfosfinato de etilo (2,4,6-trimetilbenzoil) (TPO-L) como foto iniciador para la impresión 3D de resina para su aplicación en la producción de productos médicos, y evaluaron la citotoxicidad, la estabilidad del color, la precisión dimensional, el grado de conversión y las propiedades mecánicas-físicas, donde encontraron que el foto iniciador mostró excelente biocompatibilidad y estabilidad de color, de igual manera poseía una precisión dimensional aceptable para utilizarlo en la impresión 3D de resinas dentales.

Hunter et al, (29) utilizaron dos resinas 3D biocompatibles, Dental SG (DSG) MR y Dental LT (DLT) MR para hacer plataformas microfisiológicas 3DP de los cuales se examinó la toxicidad de estos compuestos lixiviables mediante un ensayo de maduración de oocitos de mamífero in vitro en la cual se encontró una grave toxicidad reproductiva inducida por la exposición in vitro a estas resinas de impresión 3D.

Aunado a esto y de manera más específica Bürgers R. et al. (36) en el 2022 realizaron pruebas sobre la biocompatibilidad de las resinas fresadas e impresas en 3D para guardas nocturnas, in vitro se evaluó la influencia del método de fabricación en la citotoxicidad de las resinas en células L929 y fibroblastos gingivales humanos, con ensayos de inmunofluorescencia y WST-8 para evaluar los efectos citotóxicos donde encontraron que la citotoxicidad se encontraba por debajo de un umbral crítico en las células GF1. Afirmaron que la composición química podría ser más crucial que el método de fabricación para la biocompatibilidad de las resinas dentales.

Park JH. et al, (37) en 2020 evaluaron la influencia de resinas para impresión 3D de tipo DLP de restauraciones temporales en fibroblastos gingivales, esto se hizo mediante un cultivo celular en cada especimen y posteriormente se observó la morfología de las células adheridas. Los autores concluyeron que la biocompatibilidad de las resinas para impresión 3D antes mencionadas es mejor que las resinas autopolimerizables y existe una mayor adhesión celular en muestras fabricadas mediante impresión 3D.

Si bien la resina de impresión es el objetivo de esta investigación, las soluciones utilizadas en la fase de lavado van de la mano con la biocompatibilidad del producto por lo que Hwangbo N. et al. (38) en el 2021 evaluaron el efecto del uso de diferentes soluciones y tiempos de lavado sobre la biocompatibilidad de restauraciones impresas con resina 3D utilizando restauraciones lavadas en una solución con alcohol isopropílico y éter monometílico de tripropilenglicol con diferentes tiempos (3, 5, 10, 15, 30, 60 y 90 min) evaluaron la viabilidad celular, citotoxicidad y el estado de los fibroblastos gingivales humanos, por lo que concluyeron que el aumento del tiempo de lavado afectó significativamente la biocompatibilidad y las propiedades mecánicas de las resinas dentales impresas en 3D.

Guerrero-Gironés J. et al. (24) en 2022, evaluaron y compararon la biocompatibilidad de nuevas resinas (Keysplint Soft MR, NexDent Ortho Rigid MR, Freeprint Splint MR y resinas convencionales) utilizadas para guardas dentales, utilizaron discos estandarizados (n=40), alizaron fibroblastos gingivales humanos a partir de tejidos gingivales y se aplicaron ensayos MTT para evaluar la actividad metabólica celular, generación de especies de reactivas de oxígeno (ROS) intracelulares y microscopía electrónica de barrido (SEM), con un análisis estadístico mediante ANOVA unidireccional y prueba post hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ) encontraron que con la prueba MTT Freeprint Splint reduce significativamente la actividad metabólica del hGF y en el análisis SEM mostró que casi ninguna célula se adhería a su superficie, finalmente se mostró que existe una biocompatibilidad similar entre resinas convencionales y las de impresión 3D, excepto Freeprint Splint demostró ser la más citotóxica para los hGF.

Por último en un estudio realizado por Oberoi G. et al. (32) en el 2021, evaluaron el impacto que tenía LAY-FOMM 40, LAY-FOMM 60 y ácido poliláctico biocompatible impreso en 3D por método de modelado por deposición fundida (FDM) sobre actividad murina L929, fibroblastos gingivales (GF) y fibroblastos de ligamento periodontal (PDLF) utilizando medios de cultivo indirecto, directo en monocapa y directo en esferoides con ensayo de toxicidad basado en resazurina, confirmado por tinción MTT y prueba vivo-muerto, se descubrió que estas resinas pueden reducir la actividad de las células L292 y células orales, los autores recomiendan una modificación del material en términos de biocompatibilidad.

#### **4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

En los procedimientos odontológicos que incluyen el uso de resinas para impresión 3D se busca que exista una biocompatibilidad aceptable para tener un resultado exitoso en el tratamiento, si bien es una tecnología reciente, ha demostrado ser una opción de biomaterial exitoso, esto respaldado con la exactitud que tiene en cuanto al sellado del provisional a la preparación de coronas o prótesis parcial fija sobre órganos dentarios o aditamentos para provisionalizar sobre implantes, la reducción

del tiempo de trabajo tanto de laboratorio como de clínica y la calidad del provisional siendo una restauración temporal.

A pesar de que se han realizado estudios experimentales respecto al uso de resinas dentales para impresión 3D, no se tiene establecido cual de las resinas a estudiar en la presente investigación sería la ideal para utilizar durante la fabricación de provisionales que cumpla con los requisitos de dicha restauración, con mínimos riesgos de provocar reacciones de citotoxicidad en tejido gingival adyacente y que pueda reemplazar el uso de resinas acrílicas autopolimerizables.

Por lo tanto se pretende saber si las resinas para impresión mencionadas anteriormente y que se encuentran en el mercado como material biocompatible tiene la misma reacción de citotoxicidad y si existe algún impacto económico dentro de los resultados.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existe diferencia en la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos entre tres diferentes resinas de impresión 3D de provisionales para coronas y prótesis parcial fija?

## **5 JUSTIFICACIÓN**

La colocación de provisionales unitarios o para prótesis parcial fija ya sea sobre dientes o aditamentos sobre implantes forma parte del proceso para una rehabilitación definitiva. Es en este periodo donde el tejido gingival se adapta al material que proporcionará el diseño y las condiciones necesarias para el éxito del tratamiento protésico restaurador, en el caso en el que el material cause reacciones adversas y se mantenga un proceso inflamatorio en la zona será muy difícil continuar con la rehabilitación por lo que es de importancia seleccionar materiales con características óptimas de biocompatibilidad.

Por lo que este estudio pretende determinar con base a los nuevos materiales, las características de las superficies de resinas para impresión 3D que tengan mejor compatibilidad, adaptación y menor número de reacciones adversas para optimizar el éxito del uso de estas. Esto influirá en la toma de decisiones clínicas respecto al proceso de utilización de resinas para provisionales en pacientes que lo requieran y seleccionar la resina de determinada casa comercial que tenga mayor biocompatibilidad con los tejidos duros y blandos de la cavidad oral.

## **6 HIPÓTESIS**

### **HIPÓTESIS CIENTÍFICA**

Existe diferencia significativa en la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos en superficies de tres diferentes resinas de impresión 3D de provisionales para coronas y prótesis parcial fija.

### **HIPÓTESIS NULA**

No existe diferencia significativa en la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos en superficies de tres diferentes resinas de impresión 3D de provisionales para coronas y prótesis parcial fija.

## **7 OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Comparar la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos sobre los tres diferentes tipos de resina de impresión 3D de provisionales para coronas y prótesis parcial fija.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar el grado de reactividad, proliferación celular y tamaño de células.
- Determinar la morfología cualitativa de la citotoxicidad de los extractos.
- Determinar en qué tipo de resina existe mayores cambios morfológicos celulares en fibroblastos humanos.

## **8 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **DISEÑO DEL ESTUDIO**

- Estudio In vitro
- Experimental
- Comparativo
- Prospectivo
- Longitudinal

### **POBLACIÓN Y MUESTRA**

Muestreo por conveniencia: 48 discos impresos con resina 3D de 1,5 mm de grosor x 20 mm de diámetro de las casas comerciales: Seed C&B Leaf Dental MR, Nextdent C&B MFH MR, iFUN Temp MR y 16 discos de acrílico autopolimerizable como parte del grupo control.

Marca comercial: NicTone MR acrílico autopolimerizable para provisionales de coronas y prótesis parcial fija (n=16).

Marca comercial: Seed C&B Leaf Dental MR resina para provisionales de coronas y prótesis parcial fija (n=16).

Marca comercial: Nextdent C&B MR resina para provisionales de coronas y prótesis parcial fija (n=16).

Marca comercial: iFUN Temp MR resina para provisionales de coronas y prótesis parcial fija (n=16).

Cultivos celulares con confluencia y crecimiento a determinar.

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Discos de resina para impresión 3D y resina bisacrílica:

- Que cumplan las dimensiones establecidas para el estudio.

Pacientes donadores:

- Pertenecientes al mismo grupo de edad, sanos, sin gingivitis o algún proceso infeccioso. Que hayan firmado el consentimiento informado.

Cultivos:

- No contaminados.
- Con las condiciones de incubación necesarias.

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Discos de resina fracturados.
- Cultivos que sean sometidos a temperaturas o contaminantes no deseadas.
- Pacientes que presenten algún padecimiento sistémico, local o que no firmen el consentimiento informado.

### **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

Discos de resina y cultivos que sufran daños durante el procedimiento.

## VARIABLES (DEFINICIÓN CONCEPTUAL, OPERACIONAL, ESCALA Y CATEGORÍA)

Tabla 5. Tabla de variables.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala y Categoría	Análisis estadístico
<b>Variable independiente</b>				
<b>Resinas para impresión 3D</b>	Material líquido fotosensible que se utiliza en la fabricación aditiva capa por capa de un objeto tridimensional exponiéndola a haces de luz LED UV	Se emplearán tres tipos de resinas para impresión 3D y se formarán grupos: <b>Grupo I:</b> Resina Leaf Dental MR (n=16) <b>Grupo II:</b> Resina Nexdent MR (n=16) <b>Grupo III:</b> Resina iFUN MR (n=16)	Cualitativa, Nominal policotómica	No aplica
<b>Acrílico autopolimerizable</b>	Material de provisionalización a base de bis-diacetato, ácido bencílico-fenil-barbitúrico y sílice tratada con silano.	Se empleará un grupo de control de resina bisacrílica para <b>Grupo IV:</b> Resina bisacrílica Protemo 4 MR (n=16)	Cualitativa, Nominal policotómica	No aplica
<b>Variables dependientes</b>				
<b>Tamaño de las células</b>	Área espacial que ocupa una célula	Análisis con regla métrica sobre platina de microscopio. Unidad de medida $\mu\text{m}^2$ .	Cuantitativa Continua Media y Desviación estandar	Estadística descriptiva, ANOVA y t de student en caso de distribución normal
<b>Proliferación celular</b>	Cantidad de células encontradas en una determinada área de las muestras	Prueba por contacto directo detectando cambios en el número de células.	Cuantitativa Continua Media y Desviación estandar	Estadística descriptiva, ANOVA y t de student en caso de distribución normal
<b>Grado de reactividad</b>	La repercusión del biomaterial en las células del cultivo para la prueba de difusión en agar y filtro y la prueba	Se calcularán los grados de reactividad celular para las pruebas de difusión de agar y filtro, prueba de contacto directo: Grado 0 Ninguno Grado 1 Leve Grado 2 Medio	Cualitativa Nominal policotómica	Estadística descriptiva, frecuencias y porcentajes. Chi cuadrada

	de contacto directo.	Grado 3 Moderado Grado 4 Severo		
<b>Morfología cualitativa de la citotoxicidad de los extractos</b>	La repercusión del biomaterial en las modificaciones celulares de los extractos.	Se realizará una clasificación de acuerdo a la morfología cualitativa de la toxicidad de los extractos: Grado 0 Ninguno Grado 1 Leve Grado 2 Medio Grado 3 Moderado Grado 4 Severo  Con fines de cribado se examinan las células microscópicamente utilizando tinción citoquímica y se evalúan los cambios, como lo son la morfología general celular, la vacuolización, la lisis, la integridad de la membrana y el desprendimiento.	Cualitativa Nominal policotómica	No aplica

## CONCORDANCIA Y FIABILIDAD

Durante el mes de abril se llevó a cabo un curso titulado "Técnicas básicas para el cultivo de líneas celulares de mamíferos" en las instalaciones del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán en la Ciudad de México. Durante el curso, se prestó especial atención a varias características de las células, como el tamaño de los fibroblastos, la forma de las células, la cantidad de células por campo y el grado de reactividad de las células. Estas características se compararon con las de un grupo control que no ha estado expuesto a los materiales, y dos personas con experiencia evaluaron y cuantificaron los resultados para su posterior comparación. Anexo (. )

## UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL

Los cultivos celulares y las pruebas de citotoxicidad y viabilidad celular se realizaron en el departamento de Biología Celular y Tisular del Laboratorio de Inmunoterapia e Ingeniería de Tejidos de la Facultad de Medicina UNAM y Laboratorio Nacional

de Citometría de Flujo UNAM LABNALCIT durante el mes de Octubre del 2023.

Figura (. .)

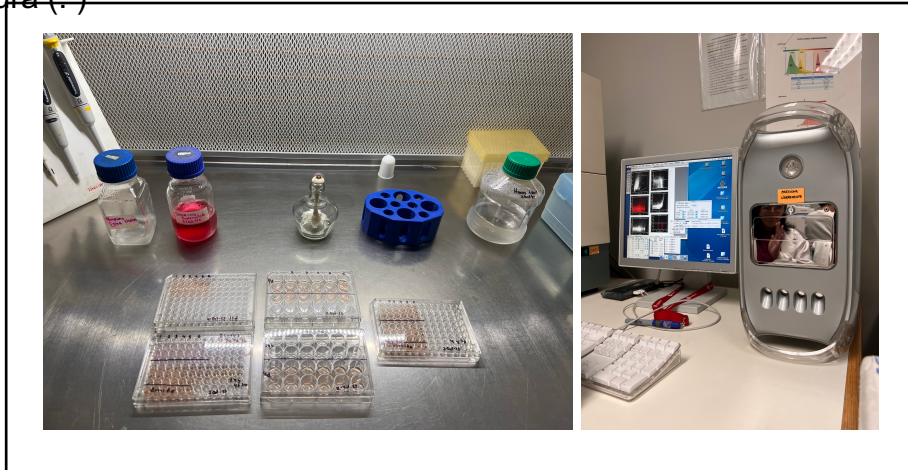


Figura 1. Laboratorio de Inmunoterapia e Ingeniería de Tejidos de la Facultad de Medicina UNAM y Laboratorio Nacional de Citometría de Flujo UNAM LABNALCIT.

## PROCEDIMIENTOS, TÉCNICAS Y FUENTES DE RECOLECCIÓN

Se adaptaron ciertos pasos de protocolo descritos anteriormente por (6,24,29,32,39) así como protocolos sugeridos por los fabricantes de los reactivos utilizados durante las pruebas.

### Preparación y cultivo de fibroblastos gingivales

1. Tras el proceso quirúrgico de gingivectomía y gingivoplastia y el consentimiento informado por escrito de los donantes sanos en un rango de edad de 18 a 30 años se recolectó el tejido gingival.
2. Se colocó inmediatamente en un medio de cultivo DMEM con una temperatura ambiente y con un sellado hermético, almacenado en condiciones deseables para su transportación en una hielera.

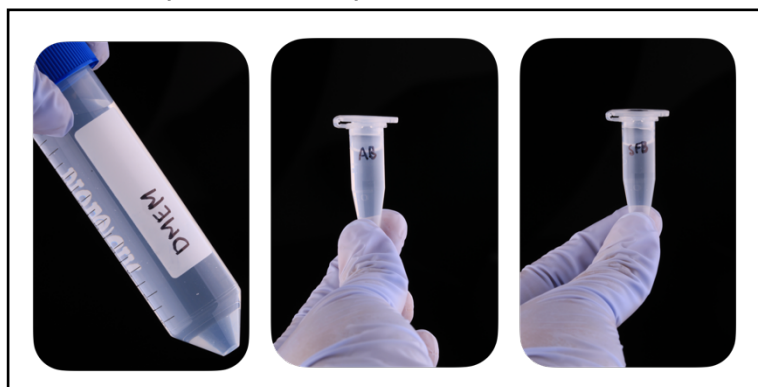


Figura 2. Obtención de medio, SFB al 10% y Antibiótico para cultivo celular de FGh's

3. Posteriormente la muestra se transportó al laboratorio dentro de las primeras 4 horas posteriores a la obtención del tejido.
4. Se lavaron los explantes con solución salina amortiguada (PBS) y se colocó en cajas de Petri de 60 mm.
5. Se aislaron y se suspendieron los fibroblastos en el medio de cultivo (DMEM) colocando las muestras en un tubo de falcón y se maceraron, obteniendo así el cultivo primario.
6. Esto se transportó a una caja Petri de 60 mm de diámetro.
7. En un área estéril, los cultivos de explantes se realizaron en medio esencial (DMEM) bajo 5% de CO<sub>2</sub>, a una temperatura de 37 °C y 95% de humedad atmosférica, suplementado con un 10% de suero fetal bovino, con 500 g/ml de gentamicina, 200 IU/ml penicilina -200g/ml estreptomycin y 25g/ml anfotericina.

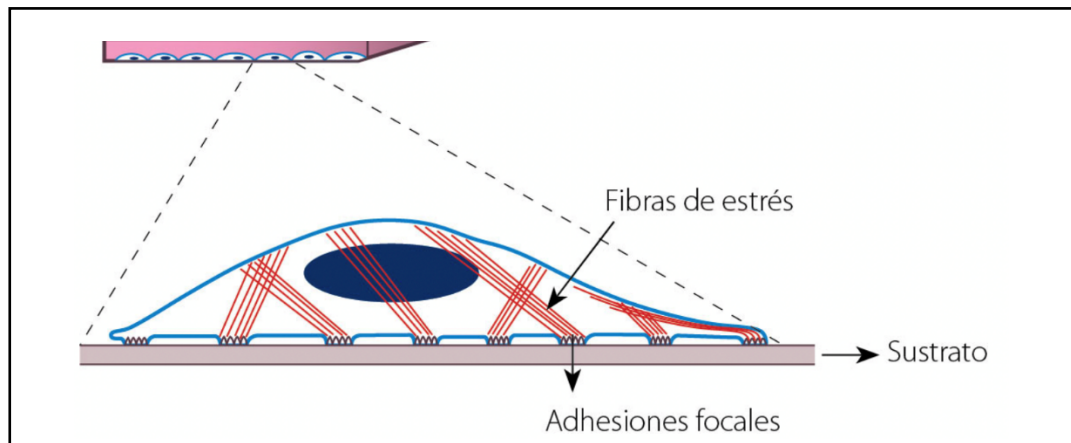


Figura 3. Adhesión de un fibroblasto al plástico del frasco de cultivo mediante el establecimiento de adhesiones focales.

Fuente: Técnicas de cultivo celular. Técnicas en histología y biología celular Montuenga Badía L

8. Para el mantenimiento del cultivo se cambió el medio, se despegó y subcultivaron las células.

9. Se lavó con PBS o medio de cultivo sin suero y se agregó un volumen de solución de tripsina la cual tenía que cubrir el área de cultivo, en este punto se esperó de 3-5 min a temperatura ambiente o 37°C. (incubadora de CO<sub>2</sub>).
10. El siguiente paso fue coleccionar lo tripsinizado y mezclar con medio de cultivo suplementado con suero (SFB) en una relación 1:1. En este punto también se mezcló el tripsinizado con medio de cultivo directamente en la superficie del cultivo en caja petri y así se recuperó el tubo cónico para centrifugar.
11. Se centrifugó de 3 a 5 minutos.
12. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular en el medio de cultivo suplementado y sembrar una parte conocida del total de células.

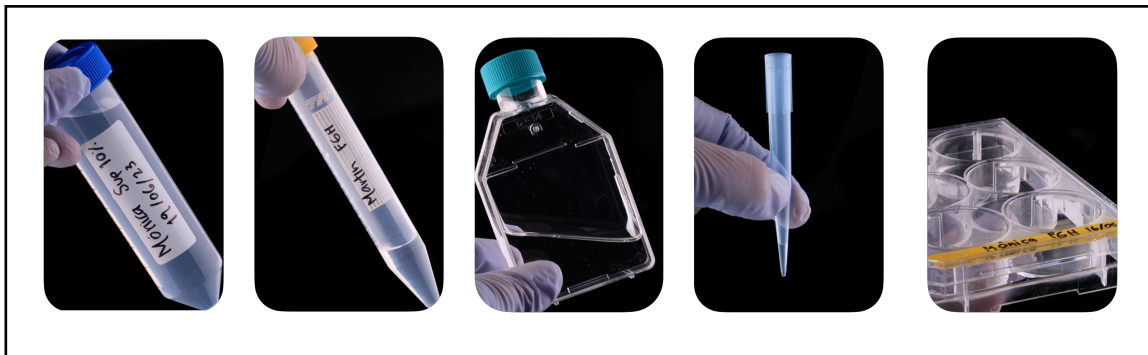


Figura 4. Flujo de trabajo para realizar medio de cultivo suplementado con SFB y antibiótico.

### **Confluencia y conteo celular**

Una vez obtenidos los explantes se realizó un cultivo primario de los FGHs, este cultivo se cuidó, cambio medio, y agregó medio suplementado para poder lograr una confluencia celular del 100% una vez logrado esto, se cambio a nuevas cajas petri para iniciar el cultivo secundario, como se observa en la Figura 5. se realizó un conteo cada semana, logrando obtener el numero de celulas necesarias para iniciar el conteo y determinar cuantas de ellas se sembrarían en cada pozo por prueba de viabilidad y citotoxicidad celular.

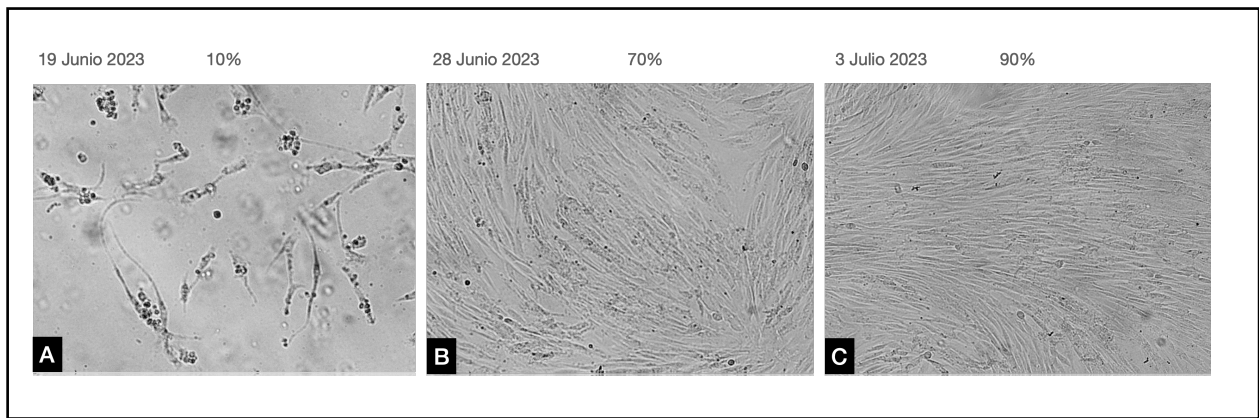


Figura 5. Estadios de cultivo primario de FG's.

Para el conteo celular:

1. Se aspiró el medio de cultivo.
2. Se agregaron 300 ul de solución fijadora y se dejaron fijando por 10min.
3. Se aspiró la solución fijadora y se lavó con agua corriente, se eliminó el exceso de agua por inversión y se secó en flujo laminar.
4. Se agregó 500ul de solución de cristal violeta y se agitó por 5 minutos.
5. Se recuperó la solución de cristal violeta y se lavó con agua corriente abundantemente.
6. Se observó en el microscopio la tinción en presencia de agua y se lavó otra vez abundantemente.
7. Se eliminaron excesos de agua por inversión y se secó en flujo laminar.
8. Se agregó 1ml de ácido acético al 10% y se agitó por 10 minutos.
9. Se agitó con pipeta, se tomaron 100ul o 200ul (si los controles están muy concentrados realizar una dilución 1:1 con ácido) y se agregaron a una placa de 96 pozos.
10. Finalmente se leyeron a 590nm en colorímetro o lector de ELISA las células presentes.
11. Se contabilizaron 4 cuadrantes con una suma de 122, 108, 115, 144 células en cada cuadrante y se realizó una multiplicación de  $125,2,10000 + 244450000$  4890000 5 millones por pozo 2000/162 que da como resultado 12 ul de medio en cada pozo por 30 ml de células por pozo.

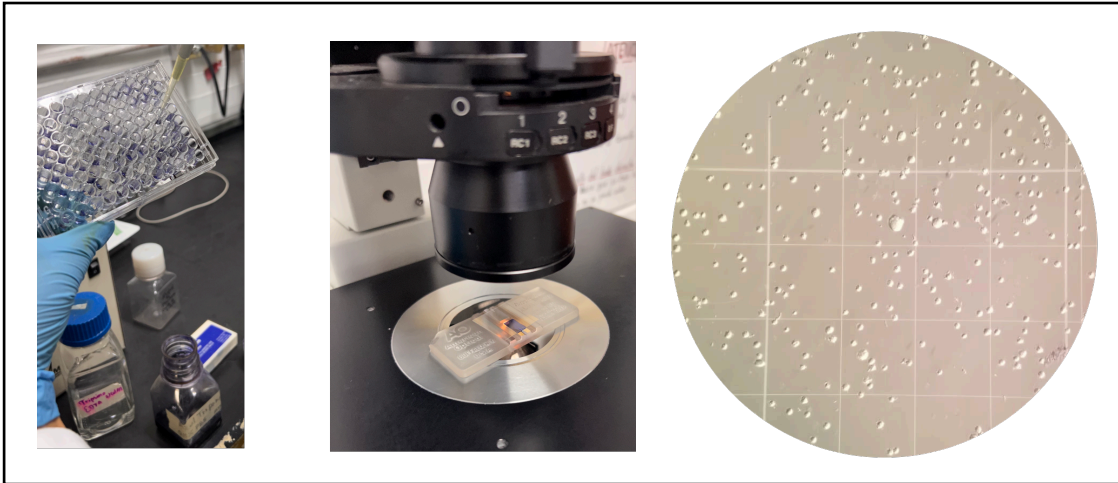


Figura 6. Conteo celular para determinar número de células a cultivar por pozo.

### Discos de resina impresos en impresora 3D Phrozen Mini 4K

1. Las muestras de resina para restauraciones provisionales de las distintas casas comerciales se diseñaron con 20 mm de diámetro por 1.5 mm de grosor en software Meshmixer e impresos en impresora phrozen Mini 4K durante el mes de agosto. Las muestras fabricadas con resina Nextdent C&B MFH MR se limpiarán durante 5 minutos en baño activado por ultrasonidos con isopropanol al 90%, mientras que las muestras de Seed C&B LeafDental MR se lavaron en recipiente con isopropanol 98% durante 3 min en baño de ultrasonidos, por otro lado iFUN Temp MR se limpiaron con alcohol isopropílico al 70% durante 5 minutos.

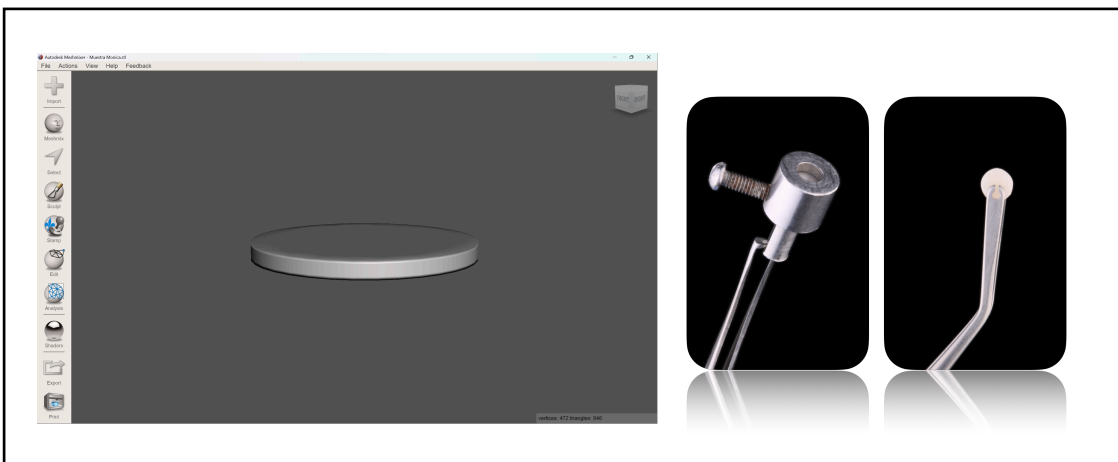


Figura 7. Diseño para impresión 3D y diseño para acrílico autopolimerizable.

## Pruebas piloto

Estas pruebas formaron parte del experimento inicial, las cuales se obtuvieron por análisis de los discos colocados en los cultivos celulares, tras las primeras 24 horas se observaron en microscopía invertida las muestras para identificar si las células cercanas a los discos estaban muertas o vivas y si había cierta proliferación celular.

En la Figura 6. se muestran los primeros tres grupos analizados para determinar si es viable el estudio. Una vez se cumplió el periodo se encontró que: si hay presencia de células apoptóticas pero también células vivas y prolongaciones citoplasmáticas cerca de los discos. Tras estos resultados se continuó el experimento sembrando los FGHS, colocando las muestras y agrupándolas de acuerdo con la prueba a realizar. Figura 9

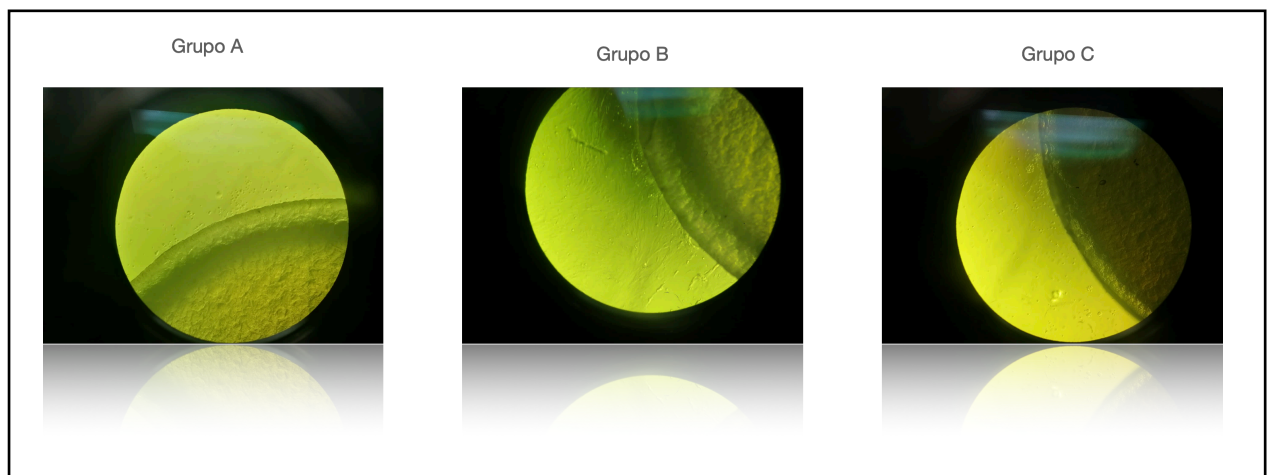


Figura 8. Prueba piloto de viabilidad celular.

## Pruebas de citotoxicidad

Se aplicaron 4 pruebas de viabilidad celular de las cuales en tres se expusieron fibroblastos gingivales humanos (FGHS); para la cuarta prueba se expusieron eritrocitos de bazo murino en lectores de citometría de flujo, a continuación se describirán los protocolos empleados.

### PRESTOBLUE (Resazurina)

Para esta prueba se utilizaron FGHs donados por el laboratorio de Ingeniería de tejidos del posgrado de la facultad de medicina de la UNAM. Figura 6 y 9

1. Se realizaron medios de cultivo indirecto, directo en monocapa y directo con ensayo de toxicidad basado en resazurina, confirmado por tinción XTT y prueba vivo-muerto.
2. Se colocaron los discos de resina en los cultivos celulares de cada grupo de prueba y se marcaron con cada periodo establecido para realizar el conteo celular.
3. Se incubaron los cultivos por 24 horas, 3, 5, 7 y 9 días a 37°C y 5%CO<sub>2</sub>.
4. Posteriormente se analizaron bajo microscopio óptico el efecto celular de los discos de resina a las 24 h, 3, 5, 7 y 9 días.
5. Finalmente se leyeron las cajas con las células metabolizadas en ELISA, para identificar los niveles de proliferación celular en cada grupo y realizar el analisis de resultados.

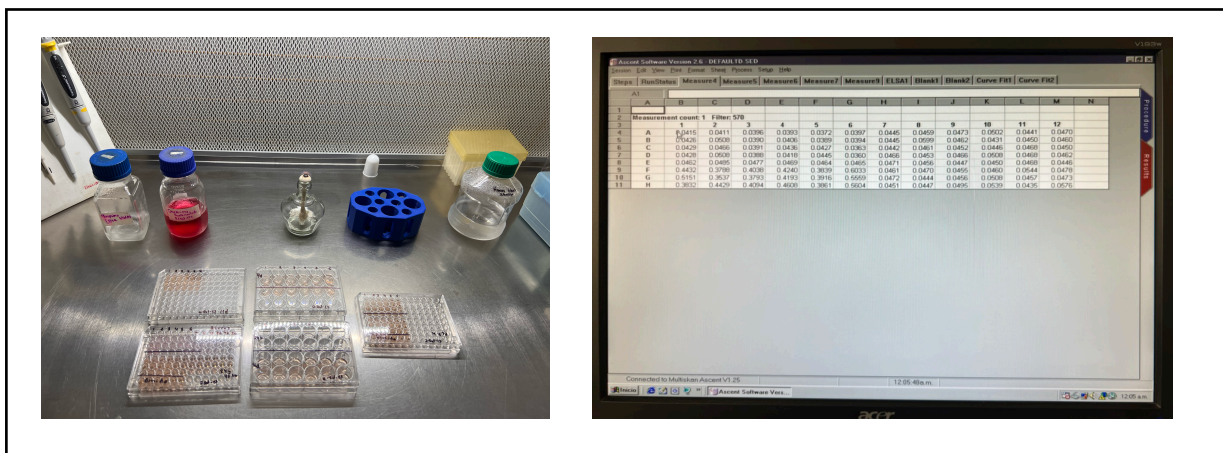


Figura 9. Distribución de muestras en cultivos celulares para pruebas de viabilidad celular y conteo ELISA para prueba PRESTO BLUE.

## VIVO-MUERTO

Para esta prueba se utilizaron cultivos de FGHs que se sembraron en pozos de la siguiente manera: (Figura 10)

1. Se colocó un cubre de 4 x 4 mm de dimensiones directo en cada pozo y encima de él se añadió un disco de cada muestra de las resinas a utilizar, para al final agregar 60 ul de cultivo celular en cada pozo.

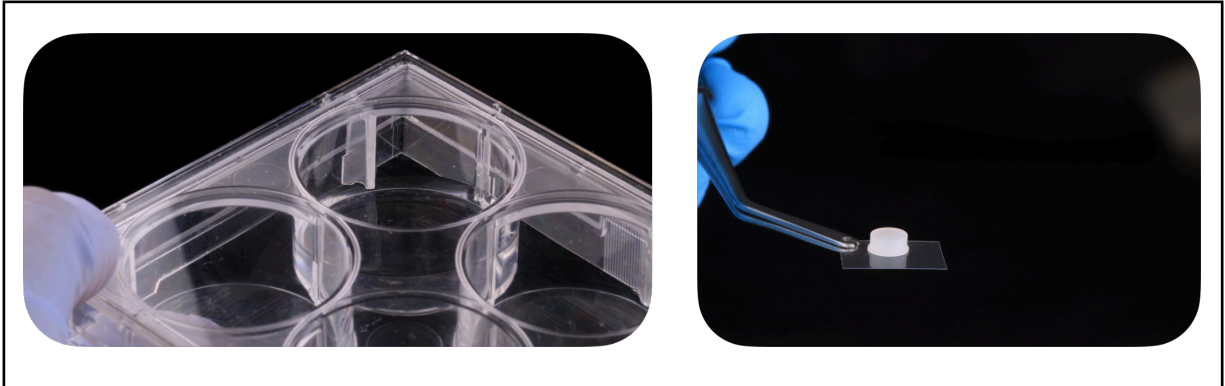


Figura 10. Colocación de muestras para prueba Vivo-Muerto en cubres a caja con 6 pozos.

2. Cada tercer día se cambió el medio de cultivo y se agregaba nuevo medio suplementado al 10% con suero fetal bovino.
3. Se incubaron los cultivos por 24 horas, 3, 5 y 7 días a 37°C y 5%CO<sub>2</sub>.
4. Una vez cumplido el periodo de incubación se fijaron las muestras con buffer de cacodilatos diluído con glutaraldehído al 25% concentración al 2.5%.
5. Posteriormente se analizó bajo microscopio óptico de fluorescencia el efecto celular de los discos de resina a las 24 h, 3, 5, 7 y 9 días y se obtuvieron imágenes de contraste donde se pudo observar la población celular viva como muerta.

## CITOMETRÍA DE FLUJO

Para esta prueba se seleccionaron tres murinos sanos de la cepa Balb-C con cuatro semanas de vida. Se tuvo un tiempo de trabajo de máximo 2 horas donde se realizó un proceso de eutanasia de estos, extracción de explante de bazo, maceración de este, obtención de leucocitos, centrifugado por cinco minutos a 1800 RPM. Se

obtuvo un pellet y se realizó un conteo celular de 54,375,000 células en 1 ml para 30 pozos, se realizó una regla de tres y se utilizó una media de solución de 18.5 ul en cada pozo más 81.5 ul de medio de cultivo, se transfirieron los cultivos a tubos de Eppendorf y se realizó un lavado con solución buffer de cacodilatos agregando Anexina V 100 ul a 5 ml de cultivo.

Se llevaron muestras al Laboratorio Nacional de Citometría de Flujo UNAM LABNALCIT.

1. Obtención de bazo de 3 ratones cepa Balb-C. Figura 11

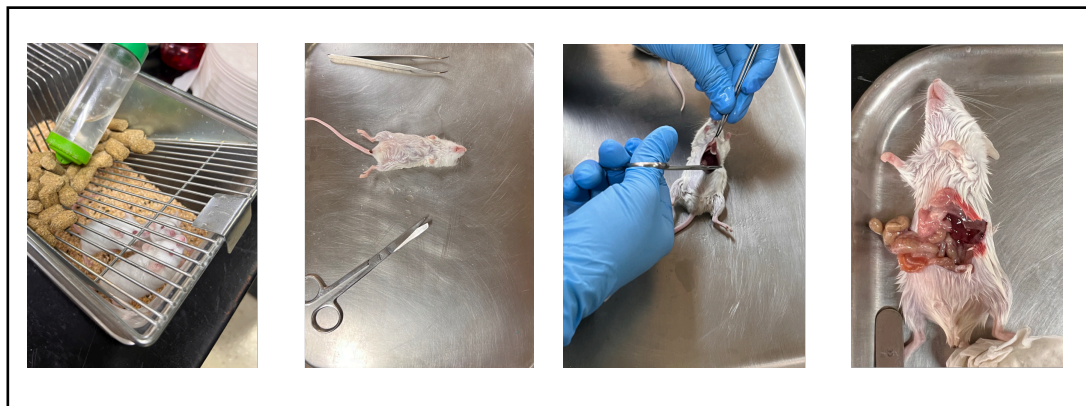


Figura 11.Explante de bazo murino de cepas Balb-C.

2. Se colocaron en tubos de falcón 50 ml con alcohol al 70% y se transporta a cuarto de cultivo.
3. En campana se dispuso de PBS, medio de cultivo, alcohol al 96%, jeringa, caja de 96 pozos con andamios.
4. Se lavaron los explantes con PBS una vez y con alcohol del 96% una vez entre cada una se agitó bien y se retiró el enjuague evitando que se perdieran los explantes.
5. En caja petri con 3 ml de medio 3 mallas y el embolo de la jeringa se colocaron los expedientes y se maceraron hasta que no se vio nada de tejido entre las mallas y todos los leucocitos se disgregaron en el medio una vez hecho esto en el tubo de falcón se transportó el medio con las

células segregadas por los estudiantes y estos expedientes se enjuagaron con 1 ml de medio se enjuagó bien y se obtuvo de la caja de petri se añadió al tubo de falcón junto con lo anterior se cerró bien el tubo y se llevó a centrifugar por 5 minutos a 1800 RPM.

6. Una vez finalizado el ciclo se obtuvo un pellet, se declinó el medio del pellet y se dejó solo en el tubo se le añadieron 2 ml de medio y se re suspendió hasta deshacer el pellet, nuevamente esto se centrifugó en el tubo a 1800 revoluciones por minuto por 5 minutos.
7. Se observó más limpio y este paso es el mismo que el anterior, cuando ya se obtuvo se agregó 3 ml y se re suspendió hasta homogeneizar en una caja petri de conteo celular se colocaron 10 ml de azul de tripano junto con 10 ml de célula esto se respondió 2 veces y se pasó a la placa de conteo, en el microscopio se realizó el conteo con 20 x, se contaron 8 cuadros y se obtuvieron: 15, 37, 19, 19, 18, 24, 20, 20 células respectivamente. Figura 12

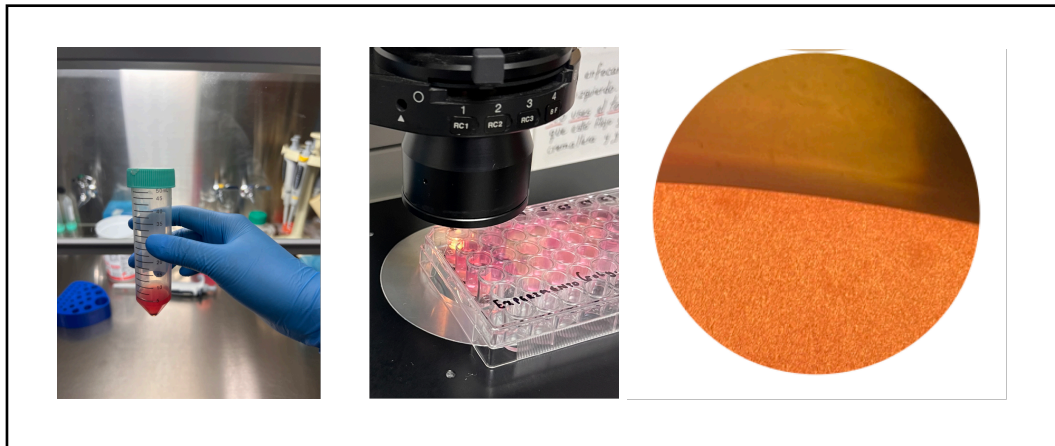


Figura. 12. Método de conteo de leucocitos obtenidos por maceración de bazo murino.

8. Ahora la forma de conteo fue una suma de 8 cuadros y se dividió entre los 8 que son y quedó de la siguiente manera  $178 / 8$  igual a  $21.75 * 2 = 43.5$  cuando tenemos muchas células se cuenta en "C" entre paréntesis 125000 se cierra paréntesis por lo que tenemos entonces ya llegó 54375000 células en 1 ml.

9. En los 30 pozos que se tenían se hace una regla de 3 de: 100 micro litros = 54375000, X es igual a 100000.
10. Se puso una media de solución de 185 micro litros en cada pozo +981.5 ml de medio de cultivo ya en placas con los andamios que son 3 por cada marca igual a 15 se agregaron proporciones con punta por pozo tocando los discos para sembrar las células hasta así hasta completar con la pipeta de 20 micro litros (18.5 micro litros).
11. Agrega el medio 982 micro litros con pipeta de 1000 en cada pozo con la misma punta sin tocar nada, una vez terminado se cerró para observar al microscopio, se dejó incubar durante 48 horas para realizar la prueba.

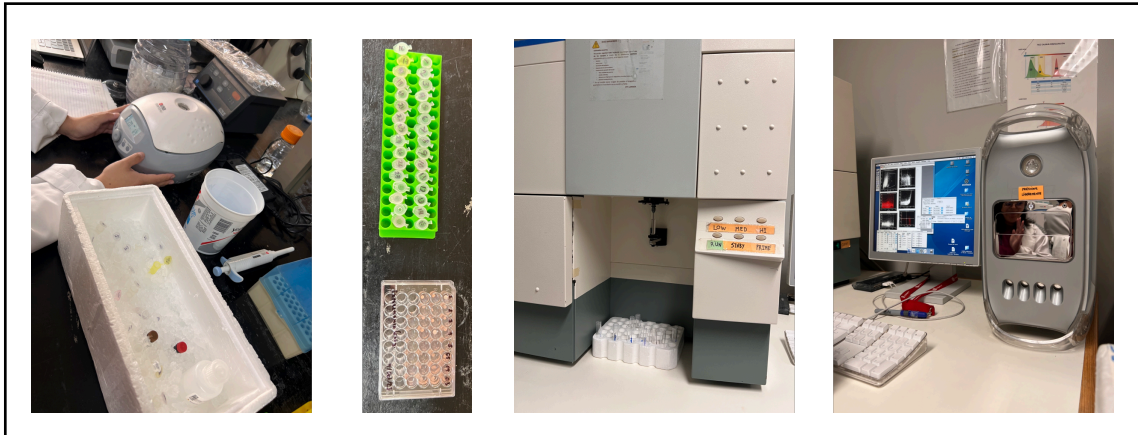


Figura 13. Flujo de trabajo para prueba de citometría de flujo.

## MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO

Se realizó la fijación de una muestra de cada grupo control por expertos en el área de microscopía electrónica de barrido y posteriormente dichas muestras se leyeron a un objeto de 10, 20, 50 u.

## 9 RESULTADOS

La anexina V es una de las proteínas de 35-36 kDa más estudiado de la familia de las anexinas. Se expresa en casi todas las células, se unen con alta afinidad a la fosfatidilserina, fosfolípido que en condiciones normales se localiza en el interior de la membrana plasmática y en células apoptóticas se expresa en la cara externa,

esta anexina es asociada a canales iónicos y entrada de  $Ca^{2+}$ . Por otro lado, el colorante 7-amino- actinomicina (7-AAD) es un marcador de ADN, para poder dar marca, se debe haber perdido la integridad de la membrana plasmática y nuclear. Por lo tanto, mediante esta doble marcación se pueden diferenciar por citometría de flujo: células viables (anexina V-/7-AAD-), células en apoptosis temprana (anexina V+/7-AAD-), células en apoptosis tardía (anexina V+/7-AAD+) y células necróticas (anexina V-/7-AAD+). Figura 14

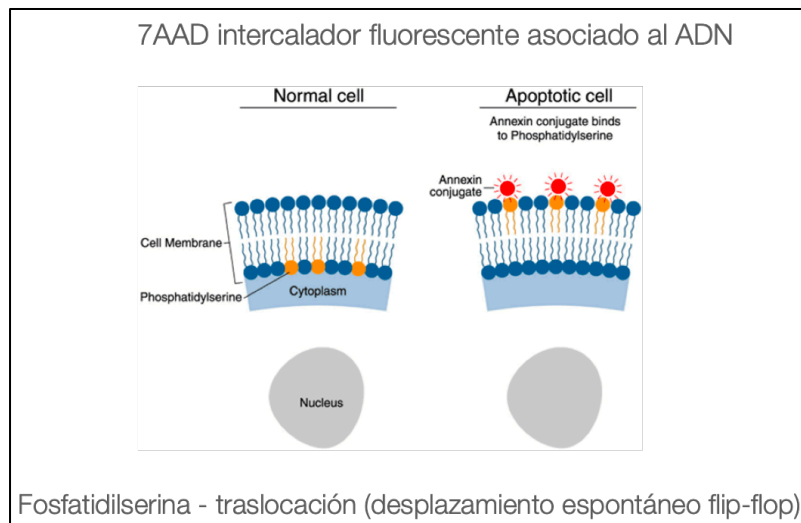


Figura 14. Mecanismo de acción de fosfatidilserina.





















Se realizó una comparativa de los resultados obtenidos en los grupos experimentales con el grupo control, teniendo que el número máximo equivalente al 100% de células viables es de 65.5% con un resultado negativo a Anexina V y el reactivo 7AAD. Como se puede observar en la Tabla 6, el grupo que obtuvo el mejor resultado fue el de las muestras Nic Tone con un 25.7% de células viables. Por otro lado el grupo control en el cuadrante de células presentes con apoptosis temprana presentó un porcentaje de 1.25% dando positivo al reactivo Anexina V y el grupo que tuvo un mayor número de células con apoptosis temprana fue el grupo de Leaf Dental con un 22.8% y el grupo experimental que presentó menor número de células con apoptosis temprana, con un 9.88% fue el grupo de NexDent.

En cuanto a las células en franca apoptosis confirmadas por reaccionar a Anexina V y 7AAD como positivo el grupo control presentó un 0.12% que comparado con el

grupo que tuvo mayor resultado de estas células con un 5.95% fue el grupo de UNIZ y el de menor número de células con franca apoptosis lo obtuvo el grupo de Next Dent con 5.21%.

Por último con el reactivo 7AAD positivo que demuestra la presencia de células con necrosis franca se observó que el grupo control tenía un 0.047% de estas células comprando los grupos experimentales, donde se observó que el grupo que presentó mayor número de células en este cuadrante fue el grupo de la resina para impresión 3D Next Dent con un 22.1% comparado con las demás resinas que la que obtuvo menor resultado de células en necrosis fue el grupo de la casa comercial UNIZ con un 10.6%.

Tabla 6. Resultados de citometría de flujo.

	Control	NicTone	NexDent	LeafDental	Uniz
Anexina V -, 7AAD- Viabiles	65.5 	25.7 	22.8 	22.9 	22.2 
Anexina V + Apoptosis temprana	1.25 	16.2 	9.88 	22.8 	22.6 
Anexina V +, 7AAD+ Franca apoptosis	0.12 	5.53 	5.21 	5.62 	5.95 
7AAD + Necrosis	0.047 	13.2 	22.1 	11 	10.6 

Cómo se puede observar en la Tabla 6 tenemos al grupo control el cual presenta una distribución muy similar con el grupo experimental Nic Tone, en cuanto a las células viables. Por otro lado el grupo de Next Dent presenta una mayor cantidad de células necróticas, en comparación con las células viables, células con apoptosis temprana y células con franca apoptosis. Esto quiere decir que es uno de los grupos que presenta menor proliferación celular y que presenta una mayor población de células en estadio de apoptosis en contacto directo con las muestras. Finalmente tenemos los grupos que son Leaf Dental y UNIZ. Estos grupos de una casa comercial de menor costo. Presentaron mejores resultados en cuanto a la presencia de células viables; en el Grupo Leaf Dental presentó un número significativo de células en apoptosis temprana con un 22.8% y un 5.62% de células con franca apoptosis. En cuanto al grupo de UNIZ, tenemos una distribución muy parecida de células viables de un 22.2%, aunado a esto las células en apoptosis temprana en

estas muestras presentan una distribución muy similar de células en apoptosis temprana con un 22.6%. En contraste con el resto presenta un 0.32% mayor de células en franca apoptosis que todas las demás. A su vez se comparó con las células necróticas que sólo obtuvo un 10.6%, comparado con el grupo NicTone que presentó el mayor número de células necróticas con 22.1%.

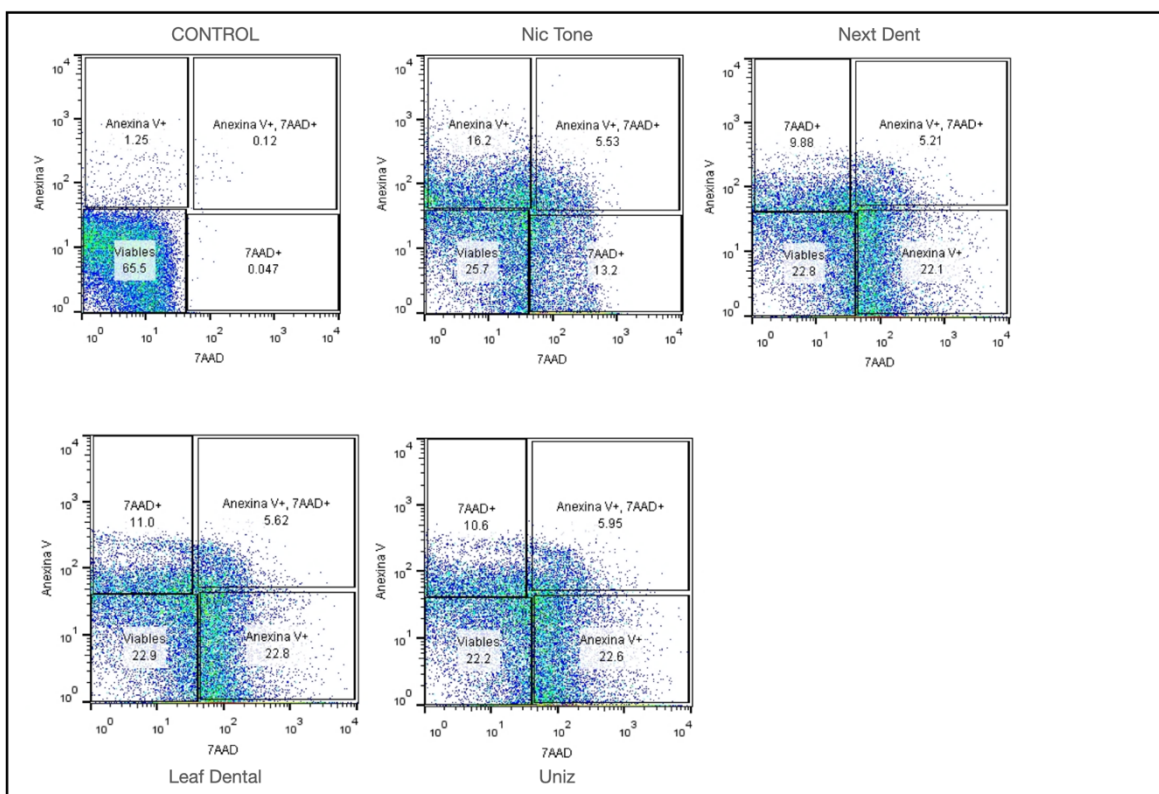


Figura 15. Diagrama de citometría de flujo de pruebas con leucocitos de vaso murino.

Los resultados descritos anteriormente se pueden observar de una forma gráfica en la Figura 15 donde se encuentran presentes los tres grupos experimentales y el grupo control este siendo el primero en la esquina superior izquierda. La presencia de colores azul y verde demuestra hacia donde es la distribución de las células presentes en la lectura de la exposición de los discos de impresión 3D y los discos de acrílico autopolimizable. Como se observa cada grupo presentan una distribución por cuadrantes donde el cuadrante inferior izquierdo representa la zona donde se encuentran las células viables, el cuadrante superior izquierdo representa el reactivo Anexina + con la presencia de células en apoptosis temprana, el

cuadrante superior derecho representa la reacción al reactivo Anexina + y AAAD + como células en apoptosis tardía y el último cuadrante que se observa en las esquinas inferior derecha representa la reacción al reactivo 7AAD + como presencia de células en estado de necrosis.

Se puede observar en la Figura 15 que el mayor porcentaje celular muestra células vivas que representan el 25.7, 22.8, 22.9 y 22.2% de los grupos Nic Tone, Next Dent, Leaf Dental y Uniz respectivamente.

Es de importancia mencionar que las células de bazo, son muy lábiles y mueren fácilmente durante la técnica si no se tiene la habilidad, razón por la cual, se corroboró el estudio cultivando células adherentes como WJ-MSC en contacto directo con las resinas, encontrando que al teñir las células con calceína AM y homodímero de etidio para discriminar células vivas de las muertas simultáneamente, esto sucede porque la calceína unida a AM (acetoximetilo) le permite atravesar la membrana plasmática y las esterasas intracelulares rompen el AM haciendo que las células se tiñan de verde, mientras que el homodímero de etidio se une a las ADN, indicando la pérdida de integridad de la membrana plasmática en las células muertas, tiñendo de rojo. Por lo tanto en la figura X se puede observar las células en forma fibroblástica de color verde con largas prolongaciones. Figura 16

Cómo podemos observar en la Figura 17 de los objetivos 100 X y 200 X se presentan células teñidas con calceína unida a acetoximetilo y se observa una morfología celular de núcleos redondeados definidos dentro de citoplasmas expandidos con la mayoría de las células con prolongaciones citoplasmáticas, las cuales se unen con otras células y forman un conglomerado que demuestra positivamente la proliferación celular de color verde, por otro lado se observan también puntos rojos, lo cual significa que son células en apoptosis que permanecen en el medio que se fijó con cacodilatos en su momento. En cuanto a la proliferación celular de FGH podemos informar que en comparativa con el grupo control, las muestras de resina para impresión 3D UNIZ muestra una mayor conglomeración,

dificultando la claridad de cada célula que se encuentra superpuesta demostrando una confluencia celular en aumento.

Por otro lado comparado con lo que fue el grupo experimental Next Dent y Leaf Dental presentan un crecimiento celular gradual, lento y disminuido, con mayor número de células en apoptosis presente para el grupo Next Dent y la presencia de espacios entre células en ambos grupos lo que demuestra que si existe proliferación pero en menor grado. Por lo que se puede inferir visualmente que los grupos como mayor confluencia celular son UNIZ y Next Dent seguidos del grupo de acrílico autopolimizable Nic Tone y el grupo Leaf Dental.

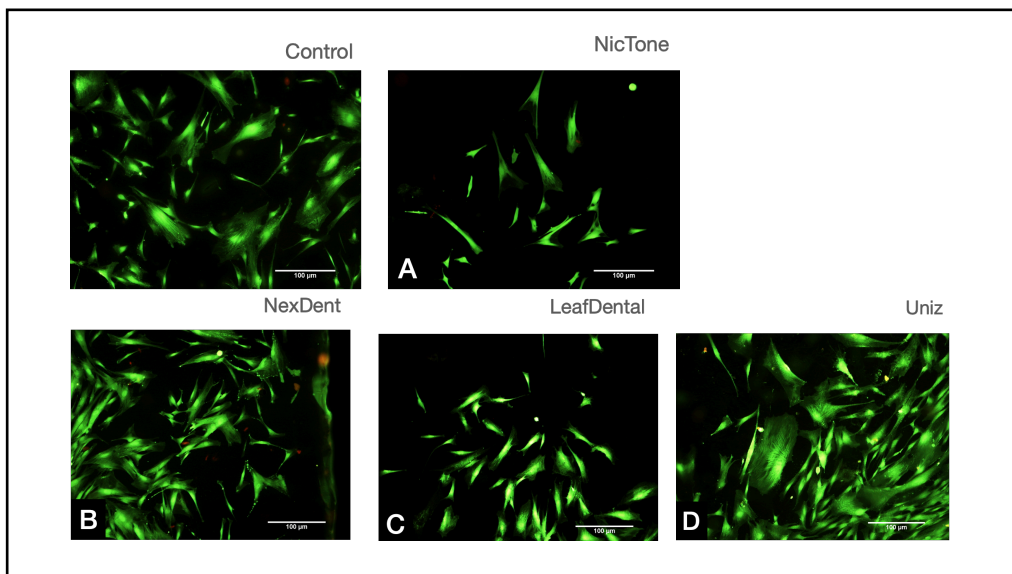


Figura 16. Imágenes de fotometría con microscopía invertida a 100 x.

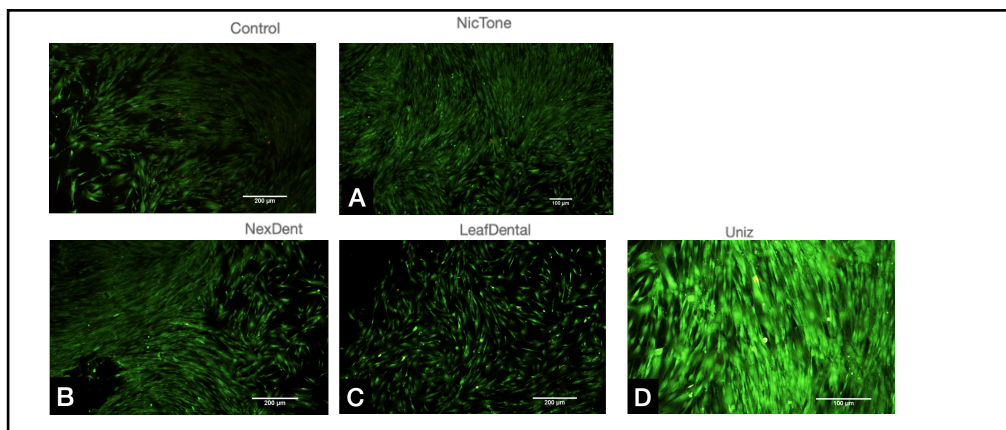


Figura 17. Imágenes de fotometría con microscopía invertida a 200 x.

En las imágenes obtenidas de la microscopía electrónica de barrido se observan los cambios morfológicos que han presentado las células expuestas a las muestras de cada grupo experimental, la adhesión a los discos de resina impresos en resina 3D así como cambios en las prolongaciones filopoidales citoplasmáticas y los núcleos.

En la Figura 18 A se observa una célula a un aumento de 10 X la cual se encuentra adherida a la superficie del disco de acrílico autopolimerizable Nic Tone, en una superficie lisa, pero sin células a su alrededor, lo cual significa que son células escasas aisladas en la zona, morfológicamente tiene una forma definida con un citoplasma reducido, presenta prolongaciones filopoidales las cuales no se unen a otras células en comparación con la imagen obtenida con un aumento de 20 X del mismo grupo (Figura 18 B). Observamos que la célula carece de prolongaciones citoplasmáticas y el cuerpo de la misma presenta una forma irregular confirmando dichos cambios en un aumento de 50 x se observan células dispersas en la superficie del disco, las cuales no se encuentran completamente adheridas en todo su cuerpo celular, sin embargo aún con dichos cambios las células han permanecido alrededor del disco y han proliferado sutilmente (Figura 18C).

Para el grupo de la resina para impresión 3D Next Dent se obtuvieron tres imágenes a diferentes objetivos, en la Figura 18 D a un aumento de 10 X se pueden observar FGHS alargados, con un citoplasma distribuido en un cuerpo como tal y prolongaciones del mismo que conecta con más células creando una confluencia celular estable, con un mayor número de células en su superficie y con mejor definición de sus adherencias al disco y entre ellas se observan núcleos ovalados y definidos, sin embargo en otra zona obtenida a un aumento de 20 x como se muestra en la figura 18 E las células se encuentran aisladas y sin actividad de adhesión a las superficies, en comparación con la anterior imagen se observa un cambio en la textura de las superficies del disco donde se observa mayor rugosidad en el segundo lo que provoca inestabilidad en las células para proliferar, para el mismo grupo se obtuvo una imagen a 50 x en la cual se observan resultados similares en una superficie irregular la ausencia de FGHS. (Figura 18 F)

Para el tercer grupo perteneciente a la resina de impresión 3D Leaf Dental se obtuvieron mejores resultados como podemos observar en en la primera imagen con un aumento de 10 x las células adheridas al disco presentan un citoplasma ancho con núcleos definidos y prolongaciones con adhesión a las superficies, un mayor número de células alrededor y por ende mayor proliferación celular lo cual nos indica una interacción estable entre las células y los discos utilizados en este grupo (Figura 18 G) , con un objeto a 20 X se obtuvieron dos imágenes de este grupo que representan el contraste de zonas con confluencia celular diferente entre sí ya que la figura presenta un menor número de células pero agrupadas y con un núcleo redondeado, las células presentes se encuentran conectadas entre si por las prolongaciones filopoidales que permiten esta conexión (Figura 18 H), en la otra imagen (Figura 18 I) a un aumento de 20 X del mismo grupo se observa particularmente la mejor imagene obtenida de SEM de los grupos a estudiar ya que las células presentes han confluido de una forma estable y en aumento, creando conexiones entre todas las células para adherirse a las superficies del disco, con una morfología definida, un núcleo ovalado sin daños y un citoplasma continuo y creando prolongaciones filopoidales numerosas y fijas a las muestras. Por último en la Figura 18 J con un aumento de 50 x del mismo grupo Leaf Dental observamos el contraste anteriormente mencionado pero en una misma imagen donde se aprecia la confluencia celular obtenida que va en aumento hacia otras zonas del disco, que inicia con un pequeño grupo de células creando pequeñas conexiones a extensiones de células proliferando en grupos más grandes con un aumento significativo de prolongaciones que permiten esta confluencia celular.

Finalmente para el último grupo experimental UNIZ solo se pudo obtener una imagen a un aumento de 10 x ya que los demas cortes sufrieron daños durante el proceso de fijación. En la Figura 18 K podemos observar como las células se encuentran en una superficie lisa lo que permite la extensión de los FGHS conectandose entre sí mediante uniones en sus citoplasmas en forma de husos que se extienden para crear una confluencia celular estable y en aumento, con núcleos definidos, redondeados y sanos.

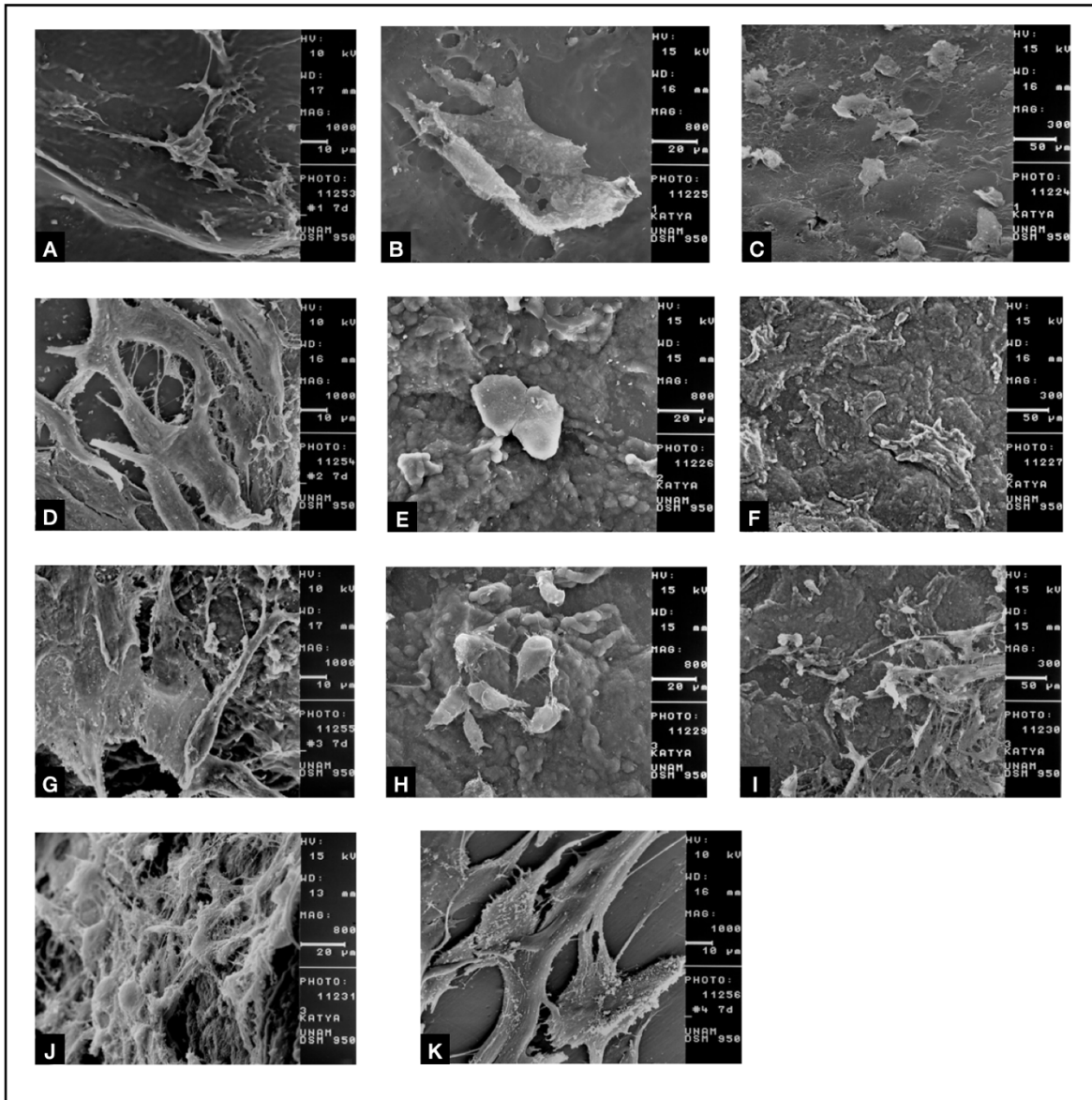


Figura 18. FGHS expuestos a especímenes de resinas evaluadas en SEM a 50X, 20X y 10X. Grupo experimental Nic Tone (A, B, C), grupo experimental Next Dent (D, E, F), grupo experimental Leaf Dental (G,H,I, J), grupo experimental UNIZ (K).

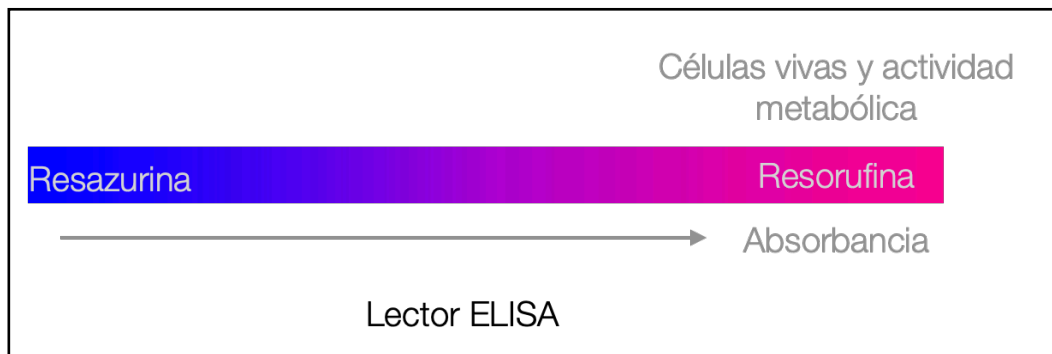


Figura 19. Mecanismo de acción de Resazurina, proteína utilizada en prueba PRESTOBLUE.

Mediante la prueba de citotoxicidad PrestoBlue, el mecanismo de acción de la proteína resazurina pasa por un cambio de tinción resultado de la actividad metabólica de las células vivas en cada pozo donde la muestra de cada resina para impresión 3D estuvo en contacto directo con el medio de cultivo y los fibroblastos gingivales humanos. El lector ELISA expone la actividad metabólica mediante el conteo de células que han proliferado, el cambio de color de azul a rosa se debe a un incremento en esta actividad por una mayor proliferación celular. (Figura 19)

Durante cada periodo establecido a evaluar en la presente investigación se realizó un conteo celular doble para verificar los grupos con mayor actividad metabólica junto con una curva de crecimiento la cual no fue expuesta a ningún espécimen de resina para impresión 3D, esto con el fin de comparar los resultados obtenidos de la actividad metabólica de los fibroblastos libre de contacto de discos de ningún grupo experimental y la actividad metabólica resultado de la exposición del espécimen al cultivo celular. Como podemos ver en la Tabla 7 y en la Tabla 8 estos fueron los únicos dos periodos en los cuales se agregaron 2 curvas de crecimiento con el fin de corroborar que no existiera contaminación cruzada durante su incubación o por el cambio de medio de cultivo, además de verificar que existiera un crecimiento celular continuo durante el periodo de evaluación establecido.

Tabla 7. Resultados lectura de ELISA para prueba PRESTOBLUE a las 24 hrs el día 3 de Octubre 2023.

Curva													
Measurement count: 1 Filter: 570													
	1 Nic Tone	2 NexDent	3 LeafDental	4 Uniz	5 WhipMix	6 Control	4	8	12	20	40	30	
							-	-	x	+	+	+	
A	0.3192	0.3273	0.3518	0.3479	0.3203	0.3897	0.3603	0.3488	0.3527	0.3833	0.3915	0.4386	
B	0.3352	0.3540	0.3559	0.3314	0.2763	0.3587	0.3534	0.4290	0.3634	0.3953	0.4105	0.4023	
C	0.3040	0.3390	0.3110	0.3567	0.3455	0.3852	0.3425	0.3219					

Curva													
Measurement count: 2 Filter: 570													
	1 Nic Tone	2 NexDent	3 LeafDental	4 Uniz	5 WhipMix	6 Control	4	8	12	20	40	30	
							-	-	x	+	+	+	
A	0.3188	0.3256	0.3507	0.3472	0.3195	0.3892	0.3589	0.3457	0.3515	0.3806	0.3909	0.4260	
B	0.3340	0.3524	0.3536	0.3287	0.2755	0.3574	0.3520	0.4144	0.3635	0.3960	0.4114	0.4030	
C	0.3005	0.3369	0.3094	0.3541	0.3451	0.3795	0.3403	0.3204					

Tabla 8. Resultados lectura de ELISA para prueba PRESTOBLUE a las 48 hrs, el día 4 de Octubre 2023.

Curva													
Measurement count: 1 Filter: 570													
	1 Nic Tone	2 NexDent	3 LeafDental	4 Uniz	5 WhipMix	6 Control	4	8	12	20	40	30	
							-	-	x	+	+	+	
A	0.3215	0.2857	0.3393	0.3429	0.3538	0.4278	0.3912	0.4099	0.3907	0.3930	0.3933	0.4105	
B	0.3435	0.2687	0.3271	0.3091	0.2833	0.3997	0.3701	0.4053	0.4111	0.4169	0.3967	0.5168	
C	0.3574	0.3704	0.3231	0.3524	0.3422	0.4340							

Curva													
Measurement count: 2 Filter: 570													
	1 Nic Tone	2 NexDent	3 LeafDental	4 Uniz	5 WhipMix	6 Control	4	8	12	20	40	30	
							-	-	x	+	+	+	
A	0.3191	0.2840	0.3359	0.3399	0.3504	0.4241	0.3886	0.4069	0.3876	0.3896	0.3899	0.4097	
B	0.3412	0.2654	0.3238	0.3072	0.2814	0.3971	0.3675	0.4028	0.4085	0.4146	0.3944	0.5137	
C	0.3552	0.3667	0.3186	0.3485	0.3394	0.4312							

Como se puede observar en la Tabla 9 no hubo una diferencia significativa en la confluencia celular ni en la actividad metabólica de los fibroblastos gingivales humanos en los diferentes grupos experimentales comparados con el grupo control. Se observó una diferencia mínima en esta actividad la cual se vio disminuida en el grupo Next Dent y en el grupo UNIZ. Estos resultados anteriormente descritos se pueden observar en la Tabla 10 a los 7 días con fecha de lectura el día 9 de Octubre del 2023.

Tabla 9. Resultados lectura de ELISA para prueba PRESTOBLUE a los 4 días, el día 6 de Octubre 2023.

Measurement count: 1 Filter: 570						
	1 Nic Tone	2 NexDent	3 LeafDental	4 Uniz	5WhipMix	6 Control
A	0.4374	0.4138	0.4419	0.3970	0.3811	0.5359
B	0.3647	0.3886	0.4026	0.4176	0.2554	0.4949
C	0.3730	0.0501	0.2970	0.3993	0.3158	0.5202

Measurement count: 2 Filter: 570						
	1 Nic Tone	2 NexDent	3 LeafDental	4 Uniz	5WhipMix	6 Control
A	0.4387	0.4150	0.4442	0.3976	0.3821	0.5361
B	0.3653	0.3891	0.4039	0.4184	0.2559	0.4968
C	0.3743	0.0503	0.2970	0.4008	0.3168	0.5268

Tabla 10. Resultados lectura de ELISA para prueba PRESTOBLUE a los 7 días, el día 9 de Octubre 2023.

Measurement count: 1 Filter: 570						
	1 Nic Tone	2 NexDent	3 LeafDental	4 Uniz	5WhipMix	6 Control
A	0.3634	0.4912	0.3991	0.3839	0.3160	0.5450
B	0.3735	0.4052	0.3262	0.4077	0.3298	0.5159
C	0.3525	0.4339	0.3587	0.4239	0.4005	0.5513
LECTURA DE BARRIDO	0.4230	0.3943	0.3757	0.4146	0.4320	0.5758

Measurement count: 2 Filter: 570						
	1 Nic Tone	2 NexDent	3 LeafDental	4 Uniz	5WhipMix	6 Control
A	0.3507	0.4688	0.3758	0.3680	0.3080	0.4369
B	0.3618	0.3986	0.3132	0.4009	0.3241	0.4816
C	0.3421	0.4264	0.3535	0.4190	0.3960	0.5213
LECTURA DE BARRIDO	0.4120	0.3861	0.3482	0.4067	0.4271	0.5677

En la última lectura ELISA que se realizó el día 12 de octubre del 2023 se puede observar que en la Tabla 11 que el grupo experimental Next Dent fue el que obtuvo los menores resultados en cuanto a actividad metabólica celular comparado con el grupo control y los demás grupos experimentales. Comprobado con una segunda lectura en la cual se arrojaron los mismos resultados, es por ello que la diferencia obtenida no fue significativa lo cual nos da como resultado después de las 5 lecturas realizadas en la prueba de viabilidad celular que no hay cambios notorios en los resultados obtenidos por las 3 resinas para impresión 3D Investigadas lo cual significa que los las prótesis fijas temporales implanto soportadas en contacto directo con tejido conectivo fabricadas con cualquiera de estos materiales para

impresión 3D tienen los mismos resultados en cuanto a la adherencia, viabilidad y citotoxicidad celular, por ende materiales innovadores utilizados de un menor costo como son las resinas de los grupos UNIZ y Leaf Dental son una opción viable para sustituir materiales análogos como es el grupo experimental de acrílico auto polimerizan Nic Tone y resinas para impresión 3D de gama alta como lo es la resina Next Dent dan los mismos resultados.

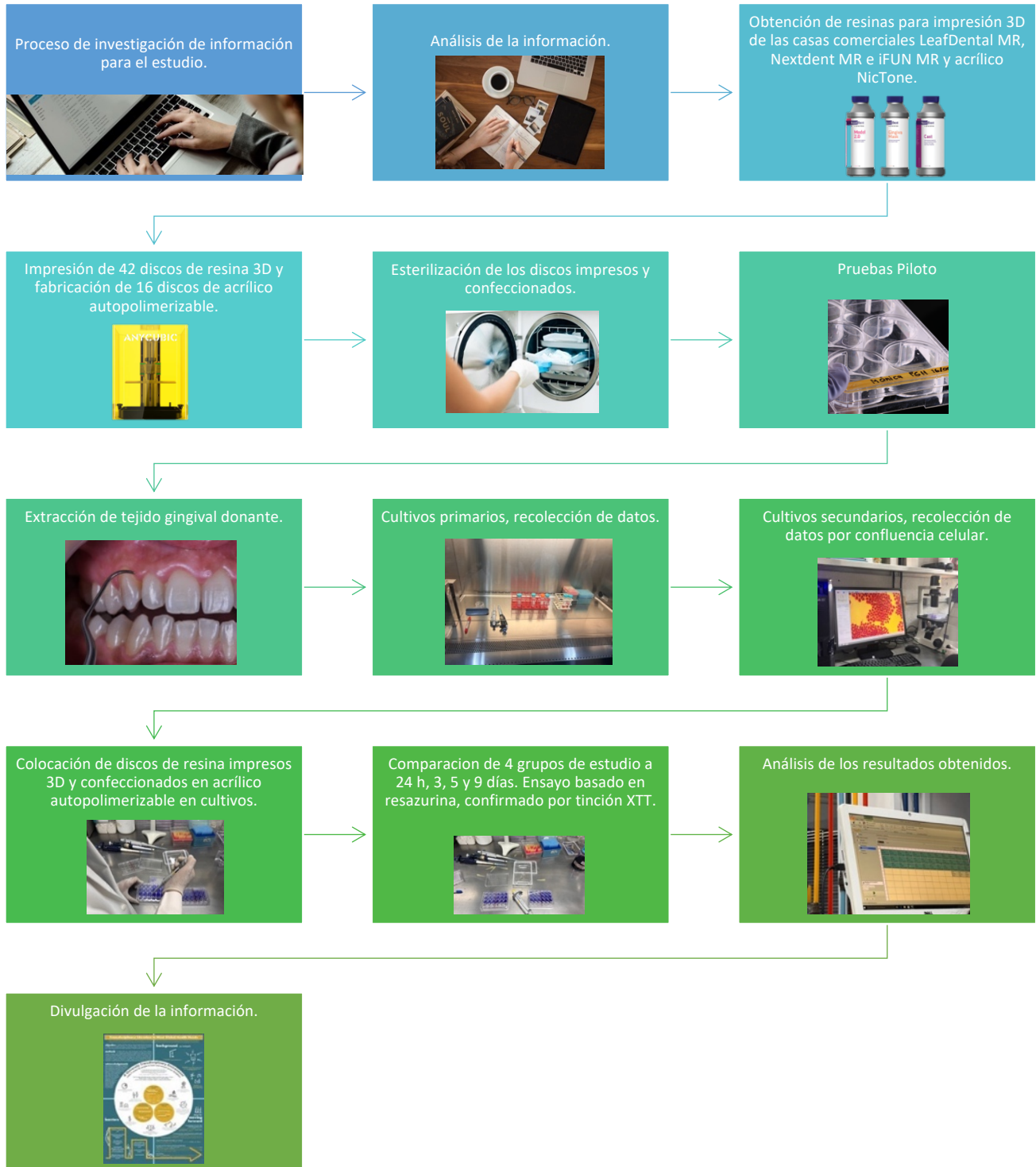
Tabla 11. Resultados lectura de ELISA para prueba PRESTOBLUE a los 10 días, el día 12 de Octubre 2023.

Measurement count: 1 Filter: 570						
	1 Nic Tone	2 NexDent	3 LeafDental	4 Uniz	5WhipMix	6 Control
A	0.4432	0.3788	0.4038	0.4240	0.3839	0.6033
B	0.5151	0.3537	0.3793	0.4193	0.3916	0.5559
C	0.3832	0.4429	0.4094	0.4608	0.3861	0.5604

Measurement count: 2 Filter: 570						
	1 Nic Tone	2 NexDent	3 LeafDental	4 Uniz	5WhipMix	6 Control
A	0.4442	0.3779	0.4042	0.4247	0.3834	0.6017
B	0.5153	0.3533	0.3799	0.4186	0.3920	0.5561
C	0.3833	0.4413	0.4099	0.4616	0.3865	0.5604

## DIAGRAMA DE FLUJO



## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

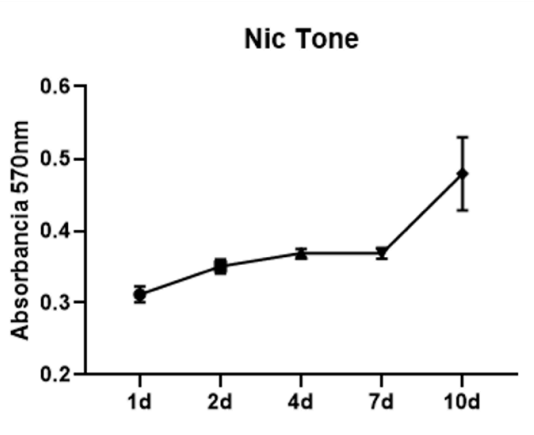
El análisis estadístico incluirá estadística descriptiva dependiente del tipo de variable: cualitativa o cuantitativa. Como la distribución fue normal en las variables cuantitativas se realizó un análisis de varianza (ANOVA) unidireccional seguido de una prueba de post hoc de Tukey para así obtener una comparativa múltiple, esto con el software BM SPSS Statistics versión 23 (IBM Corporation, Armonk, NY, Estados Unidos) y el programa GraphPad. El nivel de significación estadística se fijó en  $p < 0,05$ .

Como se puede observar en la Figura 20 y la gráfica uno, el grupo experimental de la resina para impresión 3D NicTone posterior a una prueba anova y post hoc de tukey se obtuvo que a los 10 días comparado al día 1, 2, 4 y 7 existió una diferencia significativa.

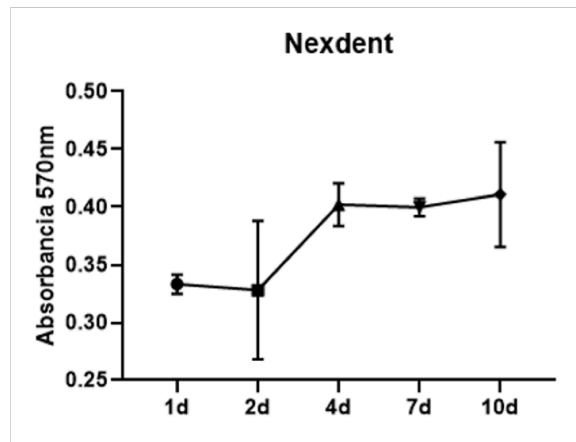
Por otro lado como se puede ver en la gráfica dos el grupo NexDent no demostró ninguna diferencia significativa durante el período experimental ni comparado con los otros grupos investigados.

Aunado a esto la gráfica número tres nos muestra que en grupo Leaf Dental a los 10 días comparado al 1, 2 y 4 días existió una diferencia significativa  $> a 0.05\%$  lo que significa que existió un aumento en la proliferación celular.

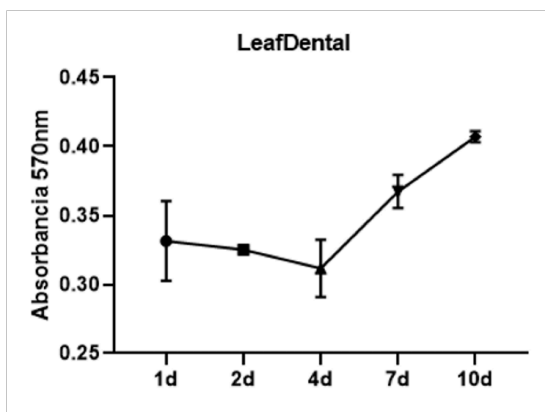
Finalmente en la gráfica número cuatro que es el grupo experimental de la resina para impresión 3D UNIZ se observó una diferencia significativa del día uno comparado a los días 4, 7 y 10 así como la presencia de una diferencia significativa  $> a 0.5\%$  del día 2 comparado a los días 4, 7 y 10.



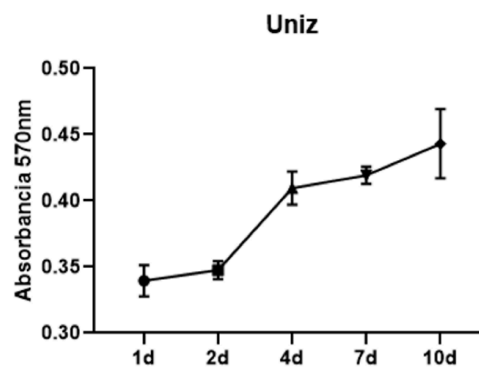
Gráfica 1. Resultado obtenido por prueba de ANOVA y comparativa múltiple post hoc de Tukey donde se observa una diferencia significativa únicamente a los diez días comparado con 1 día, 2 días, 4 días y 7 días.



Gráfica 2. Resultado obtenido por prueba de ANOVA y comparativa múltiple post hoc de Tukey donde no se observa una diferencia significativa.



Gráfica 3. Resultado obtenido por prueba de ANOVA y comparativa múltiple post hoc de Tukey donde se observa una diferencia significativa únicamente a los diez días comparado con 1 día, 2 días y 4 días.



Gráfica 4. Resultado obtenido por prueba de ANOVA y comparativa múltiple post hoc de Tukey donde se observa una diferencia significativa únicamente del día uno comparado a los 4, 7 y 10 días y del día dos comparado a los 4, 7 y 10 días.

Figura 20. Gráficas obtenidas de análisis estadístico con prueba ANOVA seguida de prueba Post Hoc Tukey.

## 10 DISCUSIÓN

En el 2022 Atria y colaboradores realizaron una investigación en la cual compararon resinas para impresión 3D con indicaciones de restauraciones temporales De las casas comerciales: Saremco , FormLabs, NextDent y una resina experimental para prótesis definitiva de la casa comercial Saremco. Las pruebas utilizadas para determinar la viabilidad celular de dichas resinas fueron ensayos de citotoxicidad microscopía electrónica de barrido e inmunohistoquímica donde se imprimieron los

especímenes según el flujo de trabajo recomendado por cada casa comercial. Como parte de los resultados obtenidos se demostró que no existía una diferencia significativa en cuanto a la proliferación celular y citotoxicidad de los diferentes materiales estudiados el material con mayores valores de probabilidad de supervivencia fueron los especímenes realizados con resina para prótesis fija permanente comparando dicho estudio con el presente estudio realizado podemos demostrar que las resinas para impresión 3D de restauraciones temporales tienen resultados similares en cuanto a estas pruebas de viabilidad celular.

Aunado a esto, en un estudio realizado por Folwaczny y colaboradores en el año 2023 se expusieron células del ligamento periodontal a muestras de resina para impresión 3D de restauraciones temporales fabricadas de la casa comercial NextDent GC details delta med un material substractivo Grandio disc de Voco y un material convencional de resina bisacrílica Luxa Temp, los cuales se estandarizaron en un tamaño de muestra y se fabricaron, según las instrucciones del fabricante se expusieron las células a los especímenes y al medio de cultivo por 1, 2,3, 6, 9 y 10 días. Para determinar la viabilidad celular se realizaron ensayos XTT más la expresión de citoquinas pro inflamatorias como la interleucina 6 y 8 utilizando el supernadante con la prueba de ELISA así mismo se realizó una inmunofluorescencia de estos resultados y una microscopía electrónica de barrido de los discos una vez terminado el proceso de cultivo. Realizaron una prueba estadística t de student y como resultado se obtuvo que comparado con los grupos de control la exposición de las muestras de resina inducían la disminución de la viabilidad celular en el caso del material Luxa Temp que fue una resina bistacrílica y los materiales aditivos Next Dent.

Asimismo en este estudio los cultivos con los especímenes de resina para impresión 3D demostraron cambios mínimos en las viabilidad celular lo cual no tuvo una significancia estadística y por ende comparando el presente estudio se demuestra que no hay una afectación significativa en la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos expuestos a discos impresos de resina 3D para restauraciones

temporales fabricados con resina de la casa comercial NextDent, Leaf Dental UNIZ y el acrílico auto polimerizable NicTone.

Por otro lado, en un estudio realizado por Park y cols. en el 2020 se compararon como grupo control un acrílico auto polimerizable y grupos experimentales de resinas para impresión 3D para modelos, guías quirúrgicas y para restauraciones temporales. Los grupos de resina autopolimerizables fueron Lang Dental, Alike y Milky blue así como TOKVSO CUREFAST y UniFast III. Posteriormente las muestras fueron tratadas en un análisis morfológico dónde se observó cada una en microscopía láser y microscopía electrónica de barrido como resultado se obtuvo en dichas pruebas que se presentaba una mejor adhesión celular a los materiales aditivos de impresión 3D comparado con los materiales convencionales de acrílico auto polimeriza posteriormente se confirmó con un análisis estadístico, la prueba de Kruskal Wallis, Shapiro Wilk y Kolmogorov-Smirnov, con estos resultados podemos comparar la presente investigación dónde obtuvimos en el grupo experimental de la casa comercial Nic Tone muestra resultados similares a los obtenidos en las resinas para impresión 3D.

Finalmente en otro estudio publicado por Frasheri y cols. en el 2022 se realizó un análisis de pruebas de viabilidad celular en materiales para impresión 3D de las casas comerciales Delta Med, Next Dent Detax GC comparados con resinas bisacrílicas Grandioso Disc de Voco y Luxa Temp, se utilizaron queratinocitos gingivales humanos expuestos al sobrenadante de e los materiales a estudiar y se realizó un ensayo de viabilidad celular XTT a las 24 48, 72 y 144 horas así como una prueba de respuesta pro inflamatoria a proteínas de interleucina 6 y 8 determinado por el sobrenadante que se leyó en ELISA se realizó una prueba estadística ANOVA de una vía y un análisis Post Hoc para comparar las diferencias en las viabilidad celular. De estas pruebas como resultado se obtuvo una disminución significativa en las viabilidad celular de las resinas para impresión 3D comparado con el grupo control donde no presentaba espécimen y comparado con las resinas bisacrílicas concluyeron que todos los materiales causan un efecto en la prueba pro inflamatoria de lectura de interleucina 6 y 8 por lo que determinaron que

los materiales aditivos pueden llegar a afectar la proliferación celular de diferentes formas ya sea por una obtención sustractiva o aditiva por lo que comparado con el presente estudio se demostró que todos los materiales producen una alteración de la viabilidad celular pero sin una diferencia significativa entre ellos ya sea de forma convencional o de impresión 3D.

Cabe mencionar que el único estudio que ha realizado pruebas de citometría de flujo respecto a materiales de impresión 3D en odontología fue realizado por Guerrero Gironés J., et al en el 2022. Las resinas estudiadas eran indicadas para realizar retenedores posterior a tratamiento de ortodoncia las cuales fueron expuestas a Anexina + y 7AAD + para determinar la presencia de células viables, apoptosis temprana y apoptosis franca así como necrosis.

## **11 CONCLUSIONES**

Al realizar rehabilitaciones integrales que involucran tanto prótesis fijas como removibles implanto soportada se vuelve una clave importante el uso de restauraciones temporales ya que proveen la estabilidad necesaria en el tiempo indicado para devolver la función y estética de los dientes ausentes o en su defecto dientes que ya han sido tratados previamente con restauraciones que han fracasado, estas restauraciones temporales permiten que cada paso del tratamiento puede ser completado con éxito antes de avanzar al siguiente paso para establecer una rehabilitación definitiva implantosoportada, parte de los beneficios que se tienen al realizar estas restauraciones temporales es la visualización de cómo va a establecerse la parte estética y la adaptación del tejido alrededor de las restauraciones permitiendo una higiene oral deseable para evitar el fracaso de las restauraciones como resultados de inflamación de los tejidos circundantes, pérdida de soporte o en su defecto el fracaso de las restauraciones. Para obtener una restauración definitiva de alta calidad es importante tener restauraciones temporales de igual o mayor calidad a lo esperado.

Con base a la investigación realizada con las 3 resinas para impresión 3D estudiadas se puede concluir que no hay una diferencia significativa entre los

materiales analizados tomando en cuenta que el primero fue un acrílico auto polimerizable análogo de la casa comercial NicTone una resina para impresión 3D de gama alta de la casa comercial Next Dent y 2 resinas de gama intermedia de la casa comercial Leaf Dental y UNIZ.

Estos resultados nos demuestran que la adaptación de los tejidos es muy similar y que la reacción citotóxica hacia el resinas estudiadas no difiere entre sí por lo que nos da la libertad de utilizar resinas de gama media para realizar restauraciones temporales de una alta calidad e incluirlas como parte del protocolo a realizar dentro de la práctica clínica diaria.

## **12 BIOÉTICA**

Dentro de los artículos establecido en la Ley general de salud de los Estados Unidos Mexicanos se establece en el título décimo cuarto, capítulo dos la donación de órganos, tejidos y células. Dentro de este capítulo se encuentra el artículo 320 que determina que toda persona dispone de su cuerpo para donarlo ya sea de manera parcial o total con los requisitos y fines descritos en el título décimo cuarto. A la par en el capítulo 321 se establece que la donación en materia de órganos, tejidos, células y cadáveres consiste en el consentimiento expreso o tácito de la persona donante para que en su defecto sea en vida o después de de su muerte su cuerpo o cualquier componente de éste sea utilizado.(40)

Si bien se habla de un consentimiento informado, la donación expresa se describe en el artículo 322, la cual especifica por escrito de manera amplia que la disposición total del cuerpo o limitada se podrá hacer a favor de determinadas personas o instituciones, donde se podrá expresar las circunstancias de modo, lugar, y tiempo así como cualquier otra que condicione la donación, esto descrito en el punto número 8 de la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012 (40,41).

El consentimiento a utilizar en este estudio consta de un escrito de acuerdo al artículo 323 de la Ley general de Salud y el punto numero 4.3 de la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012 ya que se utilizarán tejidos en vida de los donantes para la presente investigación. Se excluirán los consentimientos tácitos ya que de acuerdo al artículo 324 de la misma estos manifiestan negativa de los donantes a que su cuerpo o componentes sean utilizados(40,41).

Así mismo de acuerdo al artículo nmero 23 de la declaración de Helsinki el protocolo será enviado a un comité de bioética antes de realizar el estudio y una vez finalizado se realizará un reporte final el cual será presentado al comité con un resumen de los hallazgos y conclusiones y se desarrollará de acuerdo a las bases descritas en el artículo 100 de la misma declaración.(42)

Por lo descrito en los parrafos anteriores se utilizará un consentimiento informado escrito para la donación de tejidos gingivales de la cavidad oral de los donantes incluidos en la presente investigación. Dicho consentimiento se encuentra en el Anexo 1.

### 13 BIBLIOGRAFÍA

1. Azari A, Nikzad S. Computer-assisted implantology: historical background and potential outcomes—a review. *The International Journal of Medical Robotics and Computer Assisted Surgery*. 2008 Junio;4(2):95–104.
2. Kessler A, Reymus M, Hickel R, Kunzelmann KH. Three-body wear of 3D printed temporary materials. *Dental Materials*. 2019 Dec 1;35(12):1805–12.
3. Frasheri I, Aumer K, Keßler A, Miosge N, Folwaczny M. Effects of resin materials dedicated for additive manufacturing of temporary dental restorations on human gingival keratinocytes. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2022 Octubre 1;34(7):1105–12.
4. Park JH, Lee H, Kim JW, Kim JH. Cytocompatibility of 3D printed dental materials for temporary restorations on fibroblasts. *BMC Oral Health*. 2020 Dec 1;20(1):157.
5. Darby IA, Hewitson TD. Fibroblast Differentiation in Wound Healing and Fibrosis. Vol. 257, *International Review of Cytology*. 2007. p. 143–79.
6. Burrell Bustos Ma. Ángela, Vázquez Martínez Rafael, Malagón Poyato. Técnicas de cultivo celular -Técnicas en histología y biología celular. 2nd ed. Vol. Capítulo 13. España: Elsevier; 2014. 265–276 p.
7. William K. Ovalle, Patricj C. Nahirney. Netter. *Histología Esencial*. 3rd ed. Vol. Capítulo 3. España: Elsevier; 2021. 55–75 p.
8. Julio Sepúlveda Saavedra. *Atlas de Histología. Biología celular y tisular*. 2nd ed. Mc Graw Hill; 2014.
9. Gómez de Ferraris, Campos Muñoz. *Histología, Embriología e ingeniería tisular bucodental*. 4th ed. Panamericana; 2019.
10. Wojciech Pawlina. *Ross Histología Texto y Atlas*. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2016.
11. Simancas-Escorcía V, Díaz-Caballero A, Vergara-Hernández C. Aspectos morfológicos in vivo e in vitro de fibroblastos gingivales en pacientes con agrandamiento gingival. *Entramado*. 2020 May 28;16(2):276–84.

12. Baust JM, Buehring GC, Campbell L, Elmore E, Harbell JW, Nims RW, et al. Best practices in cell culture: an overview. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2017 Sep 14;53(8):669–72.
13. Coecke S, Balls M, Bowe G, Davis J, Gstraunthaler G, Hartung T, et al. Guidance on Good Cell Culture Practice. *Alternatives to Laboratory Animals.* 2005 Jun 9;33(3):261–87.
14. Oyeleye OO, Ogundeji ST, Ola SI, Omitogun OG. Basics of animal cell culture: Foundation for modern science. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews.* 2016 Oct 31;11(2):6–16.
15. LI W, ZHOU J, XU Y. Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. *Biomed Rep.* 2015 Sep;3(5):617–20.
16. International Organization for Standardization. Biological evaluation of medical devices- Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Switzerland; 2009 Nov.
17. Ríos Hernández M, Cepero Cañas J. Citotoxicidad in vitro: sistema para la evaluación de biomateriales y equipos médicos implantables en Cuba. . *Revista CENIC Ciencias Biológicas.* 2006;37(3):173–6.
18. Wulff J, Schweikl H, Rosentritt M. Cytotoxicity of printed resin-based splint materials. *J Dent.* 2022 May;120:104097.
19. The Glossary of Prosthodontic Terms. *J Prosthet Dent.* 2017 May;117(5):C1-e105.
20. Choudhury M, Nahar N, Yazdi S, Choudhury F, Sultana A. Fabrication of provisional restoration on freshly prepared tooth: indirect and direct technique. *Bangladesh Journal of Medical Science.* 2015 Jan 9;14(1):59–64.
21. Mizrahi B. Temporary restorations: the key to success. *Br Dent J.* 2019 May 1;226(10):761–8.
22. Williams DF. Specifications for Innovative, Enabling Biomaterials Based on the Principles of Biocompatibility Mechanisms. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019 Oct 9;7.
23. Kreß S, Schaller-Ammann R, Feiel J, Priedl J, Kasper C, Egger D. 3D Printing of Cell Culture Devices: Assessment and Prevention of the Cytotoxicity of Photopolymers for Stereolithography. *Materials.* 2020 Jul 6;13(13):3011.

24. Guerrero-Gironés J, López-García S, Pecci-Lloret MR, Pecci-Lloret MP, Rodríguez Lozano FJ, García-Bernal D. In vitro biocompatibility testing of 3D printing and conventional resins for occlusal devices. *J Dent.* 2022 Aug;123:104163.
25. Ngo TD, Kashani A, Imbalzano G, Nguyen KTQ, Hui D. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. Vol. 143, *Composites Part B: Engineering.* Elsevier Ltd; 2018. p. 172–96.
26. Revilla-León M, Özcan M. Additive Manufacturing Technologies Used for Processing Polymers: Current Status and Potential Application in Prosthetic Dentistry. Vol. 28, *Journal of Prosthodontics.* Blackwell Publishing Inc.; 2019. p. 146–58.
27. Atria PJ, Bordin D, Marti F, Nayak VV, Conejo J, Benalcázar Jalkh E, et al. 3D-printed resins for provisional dental restorations: Comparison of mechanical and biological properties. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry.* 2022 Jul 1;34(5):804–15.
28. Sa L, Kaiwu L, Shenggui C, Junzhong Y, Yongguang J, Lin W, et al. 3D printing dental composite resins with sustaining antibacterial ability. *J Mater Sci.* 2019 Feb 1;54(4):3309–18.
29. Rogers HB, Zhou LT, Kusuvara A, Zaniker E, Shafaie S, Owen BC, et al. Dental resins used in 3D printing technologies release ovo-toxic leachates. *Chemosphere.* 2021 May 1;270.
30. VertexDental. Nextdent [Internet]. 2022 [cited 2023 May 1]. Available from: [https://nextdent.com/downloads/IFU\\_NextDent\\_C&B\\_MFH\\_IBNCRM202001\\_1.pdf](https://nextdent.com/downloads/IFU_NextDent_C&B_MFH_IBNCRM202001_1.pdf)
31. iFUN. iFun [Internet]. 2022 [cited 2023 May 1]. Available from: <https://ifun3d.com/wp-content/uploads/2022/04/IF3164-Temporary-Crown-Resin-parameter.pdf>
32. Oberoi G, Nitsch S, Janjić K, Shokoohi-Tabrizi H, Moritz A, Moscato F, et al. The impact of 3D-printed LAY-FOMM 40 and LAY-FOMM 60 on L929 cells and human oral fibroblasts. *Clin Oral Investig.* 2021 Apr 20;25(4):1869–77.

33. Perea-Lowery L, Gibreel M, Vallittu PK, Lassila L V. 3d-printed vs. Heat-polymerizing and autopolymerizing denture base acrylic resins. *Materials*. 2021 Oct 1;14(19).
34. Folwaczny M, Ahantab R, Kessler A, Ern C, Frasher I. Cytotoxicity of 3D printed resin materials for temporary restorations on human periodontal ligament (PDL-hTERT) cells. *Dental Materials*. 2023 May 1;
35. Kim GT, Go H Bin, Yu JH, Yang SY, Kim KM, Choi SH, et al. Cytotoxicity, Colour Stability and Dimensional Accuracy of 3D Printing Resin with Three Different Photoinitiators. *Polymers (Basel)*. 2022 Mar 1;14(5).
36. Bürgers R, Schubert A, Müller J, Krohn S, Rödiger M, Leha A, et al. Cytotoxicity of 3D-printed, milled, and conventional oral splint resins to L929 cells and human gingival fibroblasts. *Clin Exp Dent Res*. 2022 Jun 15;8(3):650–7.
37. Park JH, Lee H, Kim JW, Kim JH. Cytocompatibility of 3D printed dental materials for temporary restorations on fibroblasts. *BMC Oral Health*. 2020 Dec 1;20(1):157.
38. Hwangbo NK, Nam NE, Choi JH, Kim JE. Effects of the washing time and washing solution on the biocompatibility and mechanical properties of 3d printed dental resin materials. *Polymers (Basel)*. 2021 Dec 1;13(24).
39. R. Ian Freshney, Mary G. Freshney. *Culture of epithelial cells*. 2nd ed. Wiley-Liss; 2002.
40. Secretaría de Servicios Parlamentarios. *Ley general de salud*. México;
41. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, [Internet]. 2013 [cited 2023 Jul 1]. Available from: [https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5284148&fecha=04/01/2013#gsc.tab=0](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5284148&fecha=04/01/2013#gsc.tab=0)
42. CONBIOETICA. Declaración de Helsinki Antecedentes y posición de la Comisión Nacional de Bioética.

## 14 ANEXOS

Anexo 1. Carta de consentimiento informado y consentimiento informado.



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE  
POSGRADO  
MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON OPCIÓN TERMINAL  
EN REHABILITACIÓN ORAL

### **CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA DONACIÓN DE TEJIDO PARA INVESTIGACIÓN EN ESTOMATOLOGÍA**

#### **Donación de tejido para uso en investigación científica.**

Por parte de la presente se le hace la invitación para donar el tejido gingival proveniente de su cirugía para de esta manera ser utilizado en futuras investigaciones en el área de estomatología.

Para poder decidir sobre su participación en la donación usted debe conocer y comprender cada apartado descrito en las siguientes líneas, a esto se le conoce como consentimiento informado. Antes de tomar cualquier decisión siéntase en completa libertad de preguntar cualquier inquietud sobre el proceso, de esta manera le ayudará a decidir al aclarar sus dudas. Una vez leída esta carta de consentimiento informado y aclaradas sus preguntas y de ser el caso que usted quiera donar, será entonces que se le pedirá firmar el formato de consentimiento informado del cual se le entregará una copia a usted, con firma y fecha de aceptación.

## **Justificación**

La donación del tejido gingival proveniente de la cirugía dental realizada no afecta y mucho menos pone en riesgo su salud así mismo no interfiere en el diagnóstico ni plan de tratamiento a realizar. Posteriormente se desechará de la siguiente manera: al final del proceso de cultivo celular se colocará en una bolsa amarilla la cual será recolectada por la empresa de tratamiento de residuos biológicos con la cual la institución tenga convenio.

## **Objetivo**

El objetivo de solicitar esta donación de tejido gingival es para realizar investigación dentro del laboratorio de Fisiología celular de la FMBUAP por tesista de la FEBUAP. A estos tejidos se le realizarán diversas pruebas de viabilidad celular con el objetivo de comparar la citotoxicidad de resinas de impresión 3D de tres casas comerciales Anycubic, FormLabs y KeyPrint.

## **Beneficios**

Dentro de los resultados e información obtenida de la presente investigación sobre estos tejidos se utilizará para evitar la manifestación de reacciones adversas por el uso de ciertas resinas de impresión 3D para la fabricación de guías quirúrgicas. Cabe mencionar que usted no recibirá un beneficio directo o inmediato, pero la información que se obtenga será de ayuda para el desarrollo y uso de nuevas tecnologías de impresión 3D en el área odontológica, por último los datos obtenidos de la investigación serán publicados y difundidos con fines científicos.

## **Procedimiento**

El procedimiento explicado por la estomatóloga no se verá afectado de ninguna manera.

Únicamente se realizará una recolección de datos, edad, género, estado de salud actual, antecedentes personales patológicos del tejido gingival que se obtendrá y

de ser necesario el diagnóstico. Por último el tejido obtenido será colocado en un medio de cultivo específico para posteriormente procesarlo.

## **Aclaraciones**

El decidir donar o no el tejido es completamente voluntario.

- No existirá ninguna consecuencia negativa en caso de no aceptar.
- La información obtenida será tratada con estricta confidencialidad por la investigadora por lo cual su nombre será reemplazado por un número de folio.
- No significa ningún gasto alguno derivado de la donación.
- El participar en esta investigación no significa la otorgación de servicio estomatológico gratuito o ningún tipo de apoyo gratuito para el tratamiento dental.**
- De usted considerar que no haya preguntas ni dudas sobre su participación en estudio, si así lo desea puede firmar la carta de **Consentimiento Informado** anexo a este documento.

**FAVOR DE CONSERVAR ESTAS HOJAS**



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE  
POSGRADO  
MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON OPCIÓN TERMINAL  
EN REHABILITACIÓN ORAL

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo,

\_\_\_\_\_

he leído y comprendo la información descrita anteriormente y mis dudas han sido resueltas de manera satisfactoria. Se me ha informado y entiendo que la información y resultados obtenidos en el estudio pueden ser publicados y difundidos con fines científicos. Convengo en donar el tejido gingival proveniente de mi cirugía para investigación en estomatología.

Recibí una copia firmada y fechada de este formato de consentimiento.

\_\_\_\_\_

Nombre y Firma del participante

Fecha

Domicilio:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Nombre y Firma del Testigo 1

Fecha

Relación

con

el

participante: \_\_\_\_\_

Teléfono \_\_\_\_\_

Domicilio:

---

---

---

Nombre y Firma del Testigo 2

Fecha

Relación

con

el

participante: \_\_\_\_\_

Teléfono \_\_\_\_\_

Domicilio:

---

---

**Este apartado deberá ser completado por el Investigador:**

He \_\_\_\_\_ explicado \_\_\_\_\_ al \_\_\_\_\_ Sr(a).

\_\_\_\_\_ la naturaleza y objetivos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda a lo que el/la Sr(a) ha contestado no tener dudas. Estoy consiente y acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

---

---

**Firma del investigador**

Fecha

Hoja para el investigador

Anexo 2. Tabla para recolección de resultados.

	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Grupo</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
Tamaño de células				
Grado de reactividad				
Proliferación celular				
Morfología cualitativa de la citotoxicidad de los extractos				