



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
ESPECIALIDAD EN ORTODONCIA**

TESIS

**EVALUACIÓN *IN VIVO* DE LA BIOCOMPATIBILIDAD E HISTOCOMPATIBILIDAD
DE LA ALEACIÓN TI-6AL-4V PARA APLICACIONES ORTODÓNTICAS EN UN
MODELO PORCINO.**

PRESENTA:

C.D. Stephanie Analy Jasso Flores

PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALISTA EN ORTODONCIA

Director de tesis

CDEO. MO Vidal Almanza Ávila

Co Director

MVZ. D. en C. Gerardo Ordaz Ochoa

Co Asesores

CDEO. MO Araceli Franco Soto

D. en C. Maria Guadalupe Carrión Garcidueñas

Morelia, Michoacán, Agosto de 2025



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

ESPECIALIDAD EN ORTODONCIA

TESIS

**EVALUACIÓN *IN VIVO* DE LA BIOCOMPATIBILIDAD E HISTOCOMPATIBILIDAD
DE LA ALEACIÓN TI-6AL-4V PARA APLICACIONES ORTODÓNTICAS EN UN
MODELO PORCINO.**

PRESENTA:

C.D. Stephanie Analy Jasso Flores

PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALISTA EN ORTODONCIA

Morelia, Michoacán, Agosto de 2025

AGRADECIMIENTOS

Quisiera comenzar agradeciendo a la persona más importante en esta etapa, mi esposo Gerardo Ordaz Ochoa cuyo amor, apoyo constante, claridad, experiencia, paciencia fueron importantes y fundamentales para poder realizar este trabajo. Me hacen falta palabras para agradecer todo su apoyo y amor. Gracias por tu confianza y motivación que me impulsan a crecer y seguir adelante y superar todo. Te amo.

A mi familia, especialmente a mis padres, Ma. De Lourdes Flores Cortes y Víctor Hugo Jasso Torres, les agradezco infinitamente, su amor incondicional y su apoyo continuo, gracias a ustedes pude continuar con ese camino. Gracias por cuidar a Estefan y estar para mí cada que lo necesito, los amo. A mis hermanos, Nayeli, Madi y Hugo, gracias por sus palabras de aliento, por su presencia y cariño, gracias por todo. A mis sobrinos que son un impulso en mi vida Sama, Ale, Mace, Ade y Josef. Los quiero mucho.

A mis suegros Ofelia Ochoa y Gerardo Ordaz, por su cariño, confianza gracias por todo su apoyo. Fueron fundamentales para la realización del experimento. A mi cuñado Jesus gracias por su ayuda, gracias granja el Paraíso.

De igual manera, valoro ampliamente el papel de mis asesores, quien me ha escuchado, aconsejado y guiado durante el proceso. Mi agradecimiento al Dr. Vidal Almanza por su apoyo, confianza y enseñanzas, su guía no solo me proporcionó claridad académica, sino también motivación en momentos de duda. Mi agradecimiento a la Dra. Araceli Franco por su apoyo, dedicación y paciencia infinita. No puedo expresar cuánto valoro su apoyo y orientación a lo largo de este viaje académico. A la Dra. María Guadalupe Carrión, mi agradecimiento por su inestimable orientación y apoyo.

Agradezco a la Universidad, y mis profesores, gracias por brindarme la oportunidad de crecer académica y profesionalmente. Agradezco a todos los colegas y colaboradores que participaron en esta investigación. Su ayuda en la recopilación de datos, revisión de mi trabajo y valiosos comentarios enriquecieron este proyecto.

Finalmente, agradezco a Arantzazu y Clarissa, gracias por su amistad. Gracias a las personas que me ayudaron, cuidaron y marcaron algo en mi vida, la Sra Rosy gracias por todo. Gracias a mis pacientes. Sin todos ustedes esto no hubiera sido posible. GRACIAS.

DEDICATORIA

A mi y amado hijo Gerardo Estefan Ordaz Jasso, estoy agradecida con Dios por que llegaste a mi vida eres una bendición y el regalo más hermoso. Tus ojitos, tu voz, tu sonrisa, todo tu, son la inspiracion detrás de cada logro en mi vida. Gracias por existir y ser la personita que más amo. Esto y todo lo bueno en mi vida es para ti mi amor.

A mi amigo, amor, confidente y padre de mi hijo, tu amor, apoyo, confianza son importantes en cada paso. Esta tesis y la especialidad no hubieran sido posible sin tu colaboración, paciencia y comprensión. Gracias por ser mi fortaleza y mi motor para no darme por bencida. Eres un hombre excepcional el mejor ejemplo para gordis. Te amo, este logro es nuestro.

ÍNDICE

	Pág.
Índice general	i
Índice de figuras	iii
Índice de tablas	iv
Resumen	v
Abstract	vi
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
3. Generalidades	5
3.1. Biocompatibilidad de materiales dentales	7
3.2. Pruebas de biocompatibilidad	8
3.2.1. Pruebas de biocompatibilidad <i>in vitro</i>	11
3.2.2. Pruebas de biocompatibilidad <i>in vivo</i>	12
3.2.3. Pruebas clínicas de biocompatibilidad	13
3.3. Toxicidad de materiales dentales	15
3.3.1. Pruebas de toxicidad	16
3.4. Efectos de la toxicidad sobre la salud	17
3.5. Valores umbrales en biocompatibilidad	18
3.6. Aleaciones utilizadas en ortodoncia	20
3.6.1. Acero inoxidable	23
3.6.2. Cobalto (Co)-cromo (Cr)	24
3.6.3. Níquel (Ni)-titanio (Ti)	25
3.6.4. Beta-titanio	27
3.6.5. Ti6Al4V	28
4. Planteamiento de problema	30
5. Justificación	32
6. Objetivo general	34
6.1. Objetivos particulares	34
7. Hipótesis	35

8. Materiales y métodos	36
8.1. Dispositivos	36
8.2. Aplicación intraoral de fragmentos de las aleaciones	37
8.2.1. Procedimiento experimental	37
8.3. Toma de muetsras y análisis sanguíneo	40
8.4. Toma de muetsras y análisis histopatológico	41
8.5. Análisis estadístico	43
9. Resultados	44
9.1. Indicadores hematológicos	44
9.2. Citocinas proinflamatorias y proteína C reactiva	47
9.3. Histopatología	50
10. Discusión	53
11. Conclusiones	56
11.1. Consideraciones generales del estudio y recomendaciones para futuros trabajos	57
12. Referencias bibliográficas	58

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Descripción general de las etapas involucradas en el proceso de validación de biomateriales de reciente desarrollo, desde el laboratorio hasta la práctica clínica	10
Figura 2. A) Dispositivo de acero inoxidable. B) Dispositivo de aleación Ti6Al4-V	36
Figura 3. Descripción general de los pasos de la colocación de los fragmenos en los incisivos inferiores de cada cerdo	39
Figura 4. Dinamica temporal de leucocitos totales y forlula leucocitaria en cerdos expuestos a fragmentos metálicos bucales	45
Figura 5. Evolución temporal del hematocrito y la hemoglobina en cerdos expuestos a fragmentos metálicos bucales	46
Figura 6. Evolución temporal de los niveles séricos de interleucina-6 (IL-6) en cerdos expuestos a fragmentos metálicos orales y sometidos a procedimientos quirúrgicos bucales	48
Figura 7. Evolución temporal de los niveles séricos de FNT- α en cerdos expuestos a fragmentos metálicos orales y sometidos a procedimientos quirúrgicos bucales	49
Figura 8. Evolución temporal de los niveles séricos de FNT- α en cerdos expuestos a fragmentos metálicos orales y sometidos a procedimientos quirúrgicos bucales	50
Figura 9. Cortes histológicos (tinción con hematoxilina y eosina, H&E) de mucosa bucal de cerdos a los días 0 y 7	51

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Comparación de Aleaciones Metálicas para Aplicaciones Ortodónticas	21
Tabla 2. Indicadores hematológicos y fórmula leucocitaria diferencial en cerdos expuestos a fragmentos metálicos bucales	44
Tabla 3. Niveles séricos de citocinas proinflamatorias (IL-6, FNT- α) y proteína C reactiva en cerdos expuestos a fragmentos metálicos bucales	47

RESUMEN

Las aleaciones metálicas han sido fundamentales en la evolución de la ortodoncia, destacando por su resistencia mecánica, durabilidad y biocompatibilidad. La aleación Ti-6Al-4V se considera una opción viable por baja reactividad biológica y buena tolerancia en tejidos blandos. Sin embargo, su comportamiento en contacto directo con la mucosa oral aún requiere validación experimental. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar *in vivo* la biocompatibilidad e histocompatibilidad de la aleación Ti-6Al-4V, utilizada en aplicaciones ortodónticas, mediante un modelo porcino. Para ello, se utilizaron 20 cerdos divididos en cuatro grupos: 1) control negativo, cerdos sin colocación de aleación ni biopsia de mucosa bucal; 2) control positivo-1, cerdos sin colocación de aleación, pero con biopsia de mucosa bucal; 3) control positivo-2, cerdos con colocación de aleación (acero inoxidable) y toma de biopsia de mucosa bucal y; 4) grupo experimental, cerdos con colocación de aleación (Ti-6Al-4V) y toma de biopsia de mucosa bucal. Se comparó la respuesta biológica local y sistémica inoxidable. Para ello, se realizaron evaluaciones y toma de muestras sanguíneas a las 0, 12, 24 y 168 horas posteriores de iniciada la evaluación (consolidación de los fragmentos de aleación). El análisis incluyó biomarcadores hematológicos (leucocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, hematocrito y hemoglobina), inmunológicos (IL-6, TNF- α y proteína C reactiva) e histopatológicos (al inicio y termino de la evaluación) de los tejidos adyacentes al fragmento. Los resultados demostraron que la aleación Ti-6Al-4V generó una respuesta inflamatoria transitoria de menor grado comparada con el acero inoxidable, con menor infiltrado inflamatorio, preservación de la arquitectura epitelial y recuperación tisular adecuada. Estos hallazgos respaldan la aceptable biocompatibilidad de la aleación Ti-6Al-4V, demostrando su potencial como material seguro y eficaz para su uso en dispositivos ortodónticos de contacto con mucosa bucal. El estudio también resalta la relevancia del cerdo como modelo preclínico experimental para la validación de biomateriales en aplicaciones odontológicas.

Palabras clave: Ti-6Al-4V, biocompatibilidad, histocompatibilidad, ortodoncia, modelo porcino, citocinas, mucosa oral.

ABSTRACT

Metal alloys have been fundamental in the evolution of orthodontics due to their mechanical strength, durability, and biocompatibility. The Ti-6Al-4V alloy is considered a viable option due to its low biological reactivity and good tolerance in soft tissues. However, its behavior in direct contact with oral mucosa still requires experimental validation. Therefore, the objective of this study was to evaluate the in vivo biocompatibility and histocompatibility of the Ti-6Al-4V alloy, used in orthodontic applications, through a porcine model. Twenty pigs were assigned to four groups: 1) negative control – pigs without alloy placement or oral mucosa biopsy; 2) positive control 1 – pigs with oral mucosa biopsy but without alloy placement; 3) positive control 2 – pigs with placement of stainless steel alloy and mucosal biopsy; and 4) experimental group – pigs with Ti-6Al-4V alloy placement and mucosal biopsy. Local and systemic biological responses were compared. Blood samples and clinical evaluations were performed at 0, 12, 24, and 168 hours after alloy fragment placement. The analysis included hematological biomarkers (leukocytes, neutrophils, lymphocytes, monocytes, hematocrit, and hemoglobin), immunological markers (IL-6, TNF- α , and C-reactive protein), and histopathological evaluations (at the beginning and end of the study) of tissues adjacent to the alloy fragment. The results showed that Ti-6Al-4V elicited a transient inflammatory response of lower magnitude compared to stainless steel, with reduced inflammatory infiltrate, preservation of epithelial architecture, and appropriate tissue recovery. These findings support the acceptable biocompatibility of Ti-6Al-4V alloy, demonstrating its potential as a safe and effective material for use in orthodontic devices in contact with oral mucosa. The study also highlights the relevance of the pig as a preclinical model for validating biomaterials in dental applications.

Keywords: Ti-6Al-4V, biocompatibility, histocompatibility, orthodontics, porcine model, cytokines, oral mucosa.

1. INTRODUCCIÓN

La aplicación de biomateriales en odontología, especialmente en ortodoncia, ha evolucionado hacia materiales que no solo tengan características mecánicas apropiadas, sino que también aseguran compatibilidad biológica con los tejidos con los que interactúan (Ríos et al., 2014). Bajo dicho contexto, las aleaciones de titanio, en particular la Ti-6Al-4V, se han establecido como una de las alternativas más destacadas en odontología y cirugía maxilofacial, debido a características favorables como los son su resistencia mecánica, resistencia a la corrosión y biocompatibilidad (Mitra et al., 2021). La biocompatibilidad no es una característica inherente al material, sino una relación entre el biomaterial y el ambiente biológico donde se ubica. La biocompatibilidad se define como la capacidad de un material para cumplir su función con una respuesta apropiada del huésped en una aplicación específica (Willis et al., 2021). Por lo tanto, un material biocompatible para un tejido puede no serlo en otro, por tal motivo, se requiere una evaluación rigurosa en el contexto en el cual será implementado (Ríos et al., 2014).

La aleación Ti-6Al-4V, formada por un 90% de titanio, un 6% de aluminio y un 4% de vanadio, ha sido ampliamente utilizada por su elevada relación entre resistencia y peso, su resistencia al agotamiento y su comportamiento biológico aceptable. Sin embargo, varias investigaciones han indicado que, bajo determinadas circunstancias, la liberación de iones de aluminio (Al) y vanadio (V) puede provocar reacciones inflamatorias o incluso genotóxicas (Emonson et al., 2024; Heins et al., 2025; Kunert et al., 2022). Investigaciones recientes han demostrado que la exposición a Ti-6Al-4V de fibroblastos gingivales humanos provoca una respuesta citotóxica dosis-dependiente, aunque dicha respuesta es inferior a la de otras aleaciones metálicas, como el acero inoxidable (Willis et al., 2021). Así mismo, la superficie de dicha aleación (Ti-6Al-4V) puede ser modificada mediante tratamientos físicos o químicos como el grabado ácido o la formación de nanotubos de TiO_2 , con el objetivo de mejorar su biocompatibilidad con diversos tejidos (Byeon et al., 2023).

En el ámbito ortodóntico, aparatos como minitornillos, anclajes temporales y placas se exponen a condiciones mecánicas y biológicas particulares que requieren una valoración minuciosa de la reacción de los tejidos. Las investigaciones *in vitro* han demostrado una elevada viabilidad celular (>90%) al interactuar con esta aleación, en cambio, las investigaciones *in vivo* todavía muestran resultados fluctuantes, en función de la superficie de exposición de la aleación, el lugar anatómico y el modelo animal utilizado (Finke et al., 2018; Liang et al., 2019; Thirvikraman et al., 2014).

Para valorar la biocompatibilidad e histocompatibilidad de materiales novedosos que puedan ser destinados al uso ortodóntico, los modelos animales desempeñan un rol esencial. En este grupo, el modelo porcino se distingue por su parecido anatómico, histológico e inmunológico con el humano, particularmente en términos de densidad ósea, estructura trabecular y estructura de tejido gingival (Buser et al., 1999; De Souza Costa et al., 2014). La utilización de cerdos como modelo de experimentación ha facilitado la reproducción con gran precisión de las condiciones clínicas y fisiológicas de la cavidad oral humana, lo que justifica su elección en investigaciones de evaluación preclínica de biomateriales (Nokhbatolfoghahaei et al., 2019; Ríos et al., 2014).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la presente investigación tiene como objetivo evaluar de manera integral la biocompatibilidad e histocompatibilidad de la aleación Ti-6Al-4V mediante la colocación de fragmentos de dicha aleación en un modelo porcino. A través de análisis histopatológicos, inmunológicos y clínicos, se pretende determinar el comportamiento tisular ante la presencia del biomaterial, así como la reacción inflamatoria.

2. ANTECEDENTES

La búsqueda de biomateriales apropiados para usos médicos ha sido una prioridad en la ciencia de los materiales en las últimas décadas, especialmente en el ámbito dental, donde los materiales utilizados deben satisfacer al mismo tiempo requerimientos mecánicos, químicos y biológicos (De Souza Costa et al., 2014). La aleación Ti-6Al-4V, formada por titanio (Ti), aluminio (Al) y vanadio (V), se ha convertido en uno de los materiales de mayor uso debido a su relación de resistencia-peso, estabilidad química y aceptable biocompatibilidad en usos ortopédicos y dentales (da Costa Valente et al., 2021; Dias et al., 2021).

Esta aleación pertenece a la categoría de materiales $\alpha+\beta$, y su eficacia biológica se ha atribuido a la creación de una capa pasiva de óxido de titanio (TiO₂), que es esencial para su resistencia a la corrosión y para la integración de los tejidos (Cvijović-Alagić et al., 2014; Dias Corpa Tardelli et al., 2020). Sin embargo, se ha registrado que, bajo ciertas condiciones, elementos que componen dicha aleación, como el vanadio (V) y el aluminio (Al) pueden liberarse en forma de iones, provocando reacciones citotóxicas o inflamatorias a nivel local o sistémico (Mirza et al., 2017; Moretti et al., 2012). Por estos motivos, se ha desarrollado un creciente interés en la evaluación comparativa entre la aleación Ti-6Al-4V y otras alternativas basadas en elementos no tóxicos como el niobio (Nb), el tantalio (Ta) o el zirconio (Zr), que han demostrado generar capas pasivas más estables y un perfil citotóxico más favorable (Bandyopadhyay et al., 2023).

Desde el punto de vista experimental, la biocompatibilidad suele ser evaluada a través de procedimientos *in vitro* con líneas celulares como fibroblastos gingivales, osteoblastos o monocitos, mientras que la histocompatibilidad se analiza mediante colocación del material de interés, en modelos animales que facilitan la evaluación de la respuesta inflamatoria, la integración y la reabsorción óseas peri-implante (Byeon et al., 2023; Ríos et al., 2014; Willis et al., 2021). En este contexto, el modelo porcino presenta ciertas ventajas, dado que sus semejanzas anatómicas y fisiológicas son equiparables a las de los humanos, y la reacción inmunológica ante biomateriales es parecida. Además, posibilita la instalación de aparatos a escala

humana en lugares anatómicos similares, lo que simplifica la evaluación funcional y estructural en circunstancias similares a las humanas (Buser et al., 1999; Thirvikraman et al., 2014).

Diversas investigaciones han reportado que la superficie del Ti-6Al-4V puede ser alterada mediante técnicas como la oxidación por plasma, grabado ácido, creación de nanotubos de TiO₂ o injertos bioactivos, lo que potencia la hidrofobicidad, la osteoinducción y la adhesión celular (Bandyopadhyay et al., 2023; da Costa Valente et al., 2021; Mitra et al., 2021). Estas alteraciones han sido evaluadas tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*, demostrando avances notables en la integración de los huesos y reducción de la inflamación (Claros et al., 2016; Moon et al., 2017; Moon et al., 2012).

Además, la creación de nuevas aleaciones como Ti-13Nb-13Zr, Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr y otras β ha facilitado comparaciones que resaltan tanto el módulo elástico más bajo como la estabilidad electroquímica superior de estas opciones, aunque con restricciones en cuanto a disponibilidad, producción y experiencia clínica acumulada (Bandyopadhyay et al., 2023; Dias Corpa Tardelli et al., 2020). Investigaciones recientes han empezado a incorporar la respuesta inmunológica del huésped como un nuevo criterio para valorar la biocompatibilidad de los materiales, indicando que el perfil de liberación iónica del Ti-6Al-4V podría afectar la polarización macrofágica y la integración ósea (Emonson et al., 2024; Kunert et al., 2022).

3. GENERALIDADES

La aleación de titanio Ti-6Al-4V, es una aleación $\alpha+\beta$ desarrollada originalmente para aplicaciones aeroespaciales, pero actualmente ocupa un lugar destacado en implantología médica y odontológica debido a su elevada resistencia específica, biocompatibilidad aceptable y resistencia a la corrosión en medios biológicos (da Costa Valente et al., 2021; Mahlooji et al., 2019). Su estructura bifásica le permite combinar su maleabilidad con un comportamiento mecánico robusto, exhibiendo un módulo de elasticidad en torno a los 113–118 GPa, valor menor que el de aceros quirúrgicos o aleaciones de cobalto-cromo, pero aún superior al del hueso humano (10–30 GPa) (Alipour et al., 2022).

El comportamiento superficial del Ti-6Al-4V ha sido objeto de numerosos estudios debido a su influencia directa en la respuesta celular. La formación espontánea de una capa de óxido de titanio (TiO_2) sobre la superficie de la aleación otorga resistencia a la corrosión y facilita la adsorción de proteínas y adhesión celular (Liang et al., 2019). Sin embargo, esta capa puede ser modificada o degradada bajo condiciones de pH ácido o estrés mecánico, facilitando la liberación de iones metálicos, principalmente aluminio (Al) y vanadio (V), que han sido asociados con efectos citotóxicos e inflamatorios ((Kunert et al., 2022; Willis et al., 2021).

Las aplicaciones clínicas del Ti-6Al-4V incluyen desde prótesis ortopédicas hasta implantes dentales, tornillos óseos y minitornillos ortodónticos. Su versatilidad deriva no solo de sus propiedades mecánicas, sino también de su compatibilidad con técnicas de manufactura avanzadas como el mecanizado convencional y la manufactura aditiva por fusión láser o haz de electrones (Paul et al., 2024). La implementación de tratamientos superficiales como el grabado ácido, la oxidación por plasma, la anodización y la formación de nanotubos de TiO_2 ha permitido mejorar su rugosidad, energía superficial, actividad osteoblástica y capacidad de integración con el tejido óseo (Claros et al., 2016; Moon et al., 2017).

No obstante, uno de los principales cuestionamientos actuales es la biocompatibilidad a largo plazo del Ti-6Al-4V. Estudios recientes han demostrado que los iones liberados por esta aleación pueden inducir efectos negativos en células gingivales, hepáticas y renales, especialmente en condiciones de baja alcalinidad o presencia de estrés oxidativo, como ocurre en procesos inflamatorios crónicos o infecciones periimplantarias (Delgado-Ruiz and Romanos, 2018; Emonson et al., 2024).

En respuesta a estas limitaciones, se ha propuesto el uso de aleaciones β de titanio sin aluminio ni vanadio, tales como Ti-13Nb-13Zr o Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr, las cuales presentan menor módulo de elasticidad y mejor comportamiento electroquímico (Dias Corpa Tardelli et al., 2020). Estas nuevas aleaciones generan óxidos más estables como Nb_2O_5 , Ta_2O_5 y ZrO_2 , que ofrecen mayor protección frente a la corrosión en comparación con la capa de TiO_2 modificada por óxidos de aluminio (Al) y vanadio (V) presentes en el Ti-6Al-4V (Cordeiro et al., 2017; Mohammed et al., 2015).

3.1. Biocompatibilidad de materiales dentales.

La biocompatibilidad es una característica esencial en los biomateriales utilizados en odontología, ya que estos están destinados a interactuar directamente con tejidos vivos durante períodos prolongados (Ríos et al., 2014). Esta interacción implica una evaluación rigurosa de posibles efectos citotóxicos, inmunológicos e inflamatorios. En términos generales, se entiende por biocompatibilidad la capacidad de un material para inducir una respuesta biológica apropiada en el contexto de su aplicación clínica específica, sin causar daño local o sistémico (Bandyopadhyay et al., 2023).

Los materiales dentales se encuentran en contacto con una amplia variedad de tejidos, entre ellos mucosa, encía, hueso alveolar y pulpa dental, así como con fluidos biológicos como saliva y sangre (Willis et al., 2021). Por ello, se han desarrollado diversas metodologías para evaluar su biocompatibilidad, tanto *in vitro* como *in vivo*. Las pruebas *in vitro* permiten evaluar citotoxicidad, genotoxicidad, mutagenicidad y efectos sobre la adhesión y proliferación celular, utilizando cultivos de fibroblastos gingivales, osteoblastos, monocitos, entre otros (Finke et al., 2018; Kunert et al., 2022).

La normativa internacional ISO 10993 establece los lineamientos para la evaluación biológica de dispositivos médicos, incluida la evaluación de materiales dentales. Esta norma sugiere un enfoque escalonado, comenzando con pruebas celulares *in vitro* (MTT, LDH, SRB, azul tripano), seguido de estudios en modelos animales, y finalmente pruebas clínicas controladas (ISO, 2009; Finke et al., 2018). Complementariamente, la norma ISO 7405 especifica los métodos para la evaluación preclínica de materiales dentales, siendo ambas normas esenciales para la aprobación regulatoria de nuevos materiales (Murray et al., 2007).

Uno de los modelos más accesibles y de bajo costo en pruebas preliminares de citotoxicidad es el uso de *Artemia salina*. Esta técnica, que consiste en evaluar la viabilidad de larvas en presencia de extractos de materiales dentales, ha mostrado correlación aceptable con métodos convencionales de cultivo celular y es

especialmente útil en contextos de tamizaje inicial (Okumu et al., 2021; Ríos et al., 2014).

La biocompatibilidad de la aleación Ti-6Al-4V ha sido evaluada mediante estos enfoques, mostrando una respuesta favorable en diversos tipos celulares, aunque con advertencias sobre la liberación iónica de aluminio (Al) y vanadio (V) (Byeon et al., 2023). Dichos iones pueden interferir con la proliferación celular, causar apoptosis o inducir estrés oxidativo, por lo que la evaluación de este material debe considerar tanto su forma bruta como su estado superficial post tratamientos de modificación (Emonson et al., 2024).

En ortodoncia, el uso de dispositivos fabricados con Ti-6Al-4V ha demostrado buena viabilidad celular (>90%) en ensayos con fibroblastos y osteoblastos humanos, sin superar los umbrales de citotoxicidad definidos por la norma ISO 10993-5 (Finke et al., 2018; Willis et al., 2021). Sin embargo, estudios más recientes abogan por un enfoque más amplio que también considere los efectos sobre la expresión génica, la respuesta inflamatoria y la integración ósea en modelos animales y humanos (Bandyopadhyay et al., 2023; Kunert et al., 2022). Este enfoque es crucial para garantizar la seguridad y eficacia clínica en la aplicación de estos biomateriales en tratamientos ortodónticos y restaurativos.

3.2. Pruebas de biocompatibilidad

Las pruebas de biocompatibilidad constituyen una herramienta fundamental en la evaluación preclínica de los biomateriales dentales, particularmente cuando se busca garantizar su uso seguro en aplicaciones clínicas. Estas pruebas permiten identificar potenciales efectos tóxicos, inflamatorios o degenerativos que un material pueda inducir en tejidos vivos, y se estructuran conforme a los lineamientos internacionales establecidos por organismos como la ISO (ISO, 2009) y la FDA (International Organization for Standardization y Food and Drug Administration) (Shahi et al., 2019). La norma ISO 10993 proporciona un marco integral para la evaluación biológica de dispositivos médicos, definiendo una serie de ensayos en función del tipo de material, duración del contacto con los tejidos y vía de exposición.

En el caso de materiales dentales, la norma ISO 7405 complementa estos lineamientos al especificar los métodos de prueba aplicables al entorno bucal (ISO, 2018).

Las pruebas de biocompatibilidad se clasifican comúnmente en tres niveles principales (Figura 1); *in vitro*, *in vivo* y clínicas (Paqué and Özcan, 2024). Las pruebas *in vitro* constituyen el primer escalón en la evaluación de nuevos materiales. En ellas se utilizan cultivos celulares (fibroblastos gingivales, osteoblastos o líneas celulares tumorales) expuestos a extractos del biomaterial o por contacto directo, evaluando parámetros como viabilidad celular, proliferación, apoptosis, morfología o expresión génica. Estas pruebas permiten una evaluación rápida, reproducible y de bajo costo, y responden a las recomendaciones de las tres R: reemplazo, reducción y refinamiento del uso de animales en investigación (Alipour et al., 2022; Thirvikraman et al., 2014).

Los ensayos *in vivo* en modelos animales como roedores, conejos o cerdos permiten evaluar la interacción del biomaterial con tejidos complejos, incluyendo procesos de inflamación, integración ósea, reabsorción o fibrosis. Estos estudios son esenciales antes de realizar ensayos en humanos y se encuentran regulados por los principios éticos de la Declaración de Helsinki y las pautas del International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS, 2012).

Respecto a los ensayos clínicos, los cuales se realizan con pacientes humanos, permiten valorar no solo la respuesta tisular directa, sino también el desempeño funcional del dispositivo en su contexto clínico real. Este tipo de evaluación es indispensable para obtener la aprobación de las agencias reguladoras y para garantizar la seguridad a largo plazo del material (Paqué and Özcan, 2024).

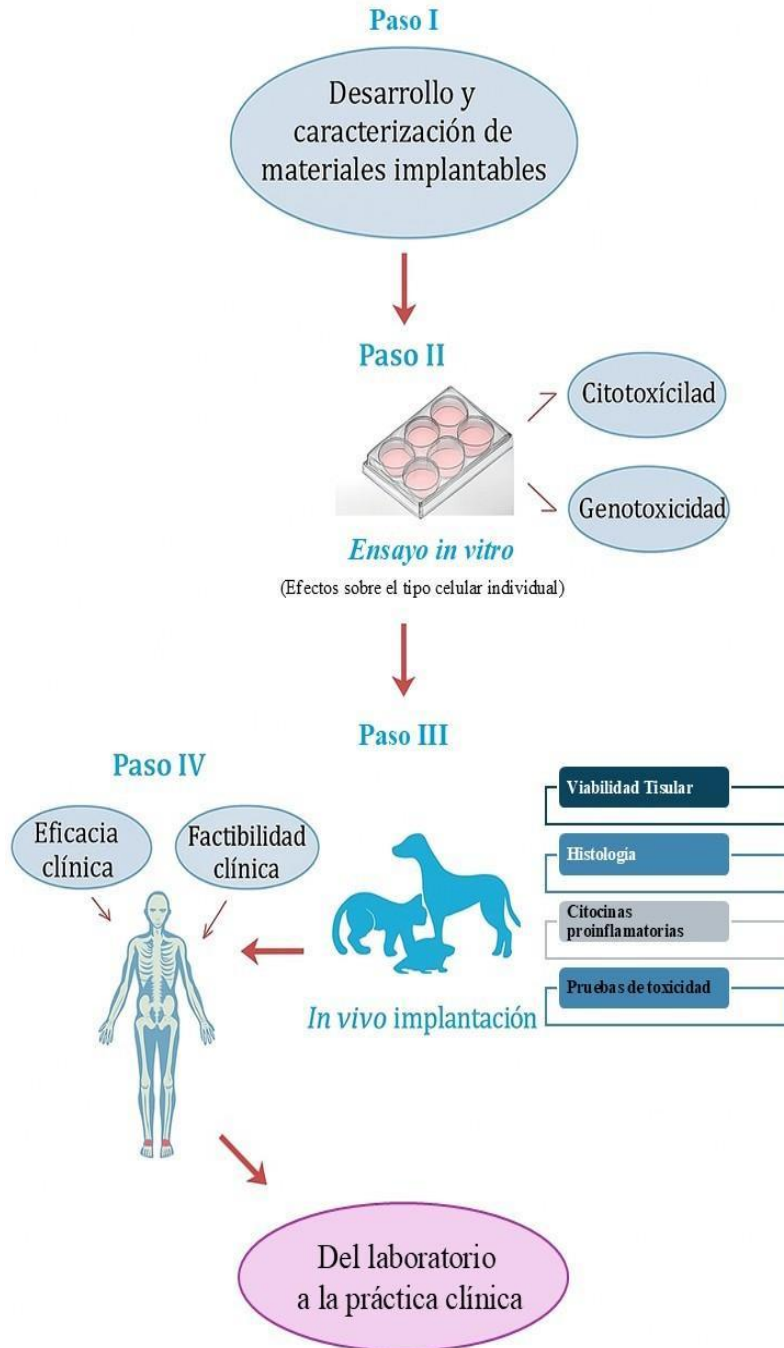


Figura 1. Descripción general de las etapas involucradas en el proceso de validación de biomateriales de reciente desarrollo, desde el laboratorio hasta la práctica clínica. Modificado de Thrivikraman et al. (2014)

En el caso de la aleación Ti-6Al-4V, numerosos estudios han empleado una combinación de pruebas para evaluar su biocompatibilidad. Por ejemplo, se ha observado que la aleación no induce efectos citotóxicos significativos en cultivos de fibroblastos gingivales, manteniendo una viabilidad celular superior al 90% en el ensayo de MTT conforme a ISO 10993-5 (Finke et al., 2018; Willis et al., 2021). Asimismo, pruebas *in vivo* en modelos porcinos han permitido corroborar una respuesta inflamatoria leve y una buena integración ósea, dependiendo de las modificaciones superficiales aplicadas al fragmento (Gritsch et al., 2013).

3.2.1. Pruebas de biocompatibilidad *in vitro*

Las pruebas *in vitro* representan el primer nivel de evaluación de biocompatibilidad para los materiales dentales, y constituyen una herramienta crucial en la identificación temprana de efectos citotóxicos, genotóxicos y proinflamatorios (Finke et al., 2018; Thiruvikraman et al., 2014). Estas pruebas permiten reducir el uso de modelos animales al adherirse a los principios de las tres “R” antes mencionados, establecidos para investigación biomédica ética (Ríos et al., 2014). Entre las metodologías más empleadas destacan los ensayos de viabilidad y proliferación celular, como el MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio), el ensayo de sulforhodamina B (SRB), el ensayo de lactato deshidrogenasa (LDH) y el ensayo de azul tripán. Estos procedimientos permiten detectar cambios morfológicos y funcionales en cultivos de fibroblastos gingivales, osteoblastos, linfocitos y otras líneas celulares relevantes (Finke et al., 2018; Kunert et al., 2022; Ríos et al., 2014).

Particularmente, la aleación Ti-6Al-4V ha sido evaluada mediante estas técnicas en líneas celulares humanas como fibroblastos gingivales y osteoblastos tipo SAOS-2, mostrando una viabilidad celular mayor al 90% después de 24 y 48 horas de exposición, lo cual cumple con el umbral de biocompatibilidad aceptable definido por la norma ISO 10993-5 (Willis et al., 2021). Además, estudios recientes han incorporado pruebas complementarias como citometría de flujo, ELISA, y análisis de expresión génica mediante RT-qPCR o Western blot, lo cual permite explorar mecanismos de toxicidad relacionados con estrés oxidativo, apoptosis,

autofagia o inflamación inducida (Bandyopadhyay et al., 2023; Emonson et al., 2024). Estas aproximaciones han sido útiles para demostrar que la liberación de iones de aluminio (Al) y vanadio (V) desde Ti-6Al-4V puede alterar la expresión de citoquinas inflamatorias como IL-6, TNF- α o IL-1 β en cultivos celulares sensibles.

Un método alternativo para pruebas preliminares de citotoxicidad es el bioensayo con *Artemia salina*, el cual no requiere cultivo celular y se basa en la sensibilidad de larvas de camarón a sustancias tóxicas disueltas en el medio (Okumu et al., 2021). Se ha propuesto como método de tamizaje debido a su bajo costo, rapidez y buena correlación con los resultados obtenidos en cultivos celulares, especialmente en fases iniciales de investigación de materiales (Ríos et al., 2014). Los resultados obtenidos en este tipo de ensayos han confirmado que el Ti-6Al-4V es uno de los materiales con menor citotoxicidad relativa dentro del grupo de biomateriales dentales evaluados. En contraste, materiales como el eugenolato han mostrado citotoxicidad del 100%, mientras que acrílicos, siliconas y resinas presentan toxicidad intermedia, dependiendo de su grado de curado y composición residual (Ríos et al., 2014).

3.2.2 Pruebas de biocompatibilidad *in vivo*

Las pruebas de biocompatibilidad *in vivo* son un componente esencial en la evaluación preclínica de biomateriales, ya que permiten observar de manera directa la interacción de la aleación con los tejidos vivos, su integración estructural y la respuesta inflamatoria local o sistémica que puedan inducir (Ríos et al., 2014). Estas pruebas se ejecutan bajo condiciones controladas en modelos animales, y sus resultados son fundamentales para la autorización ética y clínica del uso humano de los materiales (ISO 10993) (ISO, 2009). La norma ISO 10993, en su conjunto de partes, establece la metodología para realizar estudios *in vivo*, definiendo el tipo de modelo animal, el sitio de implantación, los tiempos de evaluación y los parámetros histopatológicos a considerar, como inflamación, fibrosis, necrosis, vascularización y regeneración tisular (ISO, 2009).

El modelo porcino ha ganado relevancia en estudios ortodónticos y ortopédicos debido a su similitud anatómica y fisiológica con el ser humano (Buser et al., 1999; Thrivikraman et al., 2014). En estudios con la aleación Ti-6Al-4V, los análisis histológicos postimplante han mostrado que, tras períodos de 4 a 12 semanas, se forma una matriz ósea nueva en el entorno inmediato del implante, caracterizada por osteoblastos activos, fibras colágenas organizadas y osteocitos en lagunas calcificadas (Yolun et al., 2021). Estos signos son indicativos de una buena osteointegración. Sin embargo, también se han documentado zonas de cápsula fibrosa y presencia de células inflamatorias cuando no se realizan tratamientos superficiales adecuados sobre el metal (Moon et al., 2017).

Los métodos utilizados para la caracterización de la biocompatibilidad incluyen técnicas histológicas como tinciones de hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson, análisis histomorfométrico y microscopía electrónica. Estas herramientas permiten observar con detalle la organización celular, el grosor de la interfase hueso-implante y la existencia de posibles focos de necrosis, fibrosis o infiltrado celular (Ríos et al., 2014; Yolun et al., 2021).

Un aspecto crucial de estos ensayos es la identificación de reacciones adversas como la formación de cápsulas fibrosas densas, presencia de macrófagos multinucleados, degradación de la aleación o pérdida ósea perilesional. Estos hallazgos son evaluados cuantitativamente mediante escalas de puntuación que permiten comparar materiales y técnicas de superficie bajo criterios reproducibles (Bandyopadhyay et al., 2023; Heins et al., 2025). Por tanto, las pruebas *in vivo* no solo permiten validar la seguridad de un biomaterial, sino también optimizar variables como la rugosidad superficial, la topografía y el tratamiento de superficie de la aleación.

3.2.3. Pruebas clínicas de biocompatibilidad

Las pruebas clínicas de biocompatibilidad representan el último y más crítico nivel en la evaluación de materiales odontológicos. Estas pruebas implican la aplicación directa del biomaterial en humanos, bajo condiciones clínicas reales, y

permiten valorar su comportamiento a largo plazo en cuanto a integración tisular, estabilidad funcional y aparición de reacciones adversas. Dado que estos materiales interactúan con tejidos vivos (tejido gingival, mucosa, hueso alveolar, saliva y sangre), es imprescindible confirmar su seguridad antes de su uso rutinario en pacientes (Ríos et al., 2014).

El diseño de estudios clínicos de biocompatibilidad debe seguir directrices éticas internacionales como la Declaración de Helsinki (1964) y la normativa local de cada país. En este contexto, los ensayos clínicos deben estar precedidos por fases preclínicas sólidas (*in vitro* e *in vivo*), que justifiquen su aplicación en humanos. Además, deben contar con seguimiento longitudinal y estar estandarizados conforme a las recomendaciones de la norma ISO 10993-1, la cual indica cómo evaluar los efectos de la aleación sobre los tejidos circundantes en el entorno clínico (ISO, 2023).

Diversos estudios clínicos han evaluado el desempeño de la aleación Ti-6Al-4V en dispositivos ortodónticos e implantes (Byeon et al., 2023; Gritsch et al., 2013; Moon et al., 2012). Su biocompatibilidad se ha confirmado clínicamente mediante el seguimiento de pacientes portadores, donde no se han reportado casos significativos de alergia, necrosis o rechazo a largo plazo. No obstante, existen reportes que sugieren que la liberación de iones de aluminio (Al) y vanadio (V) puede estar relacionada con inflamación localizada en pacientes susceptibles o con exposición prolongada, especialmente en presencia de condiciones predisponentes como enfermedad periodontal activa o acidosis local (Bandyopadhyay et al., 2023; Kunert et al., 2022).

Asimismo, la literatura ha documentado el uso exitoso de implantes fabricados con Ti-6Al-4V en cirugía ortognática, implantes orales y rehabilitación de prótesis, observándose tasas de éxito superiores al 95% a cinco años en términos de osteointegración, ausencia de movilidad, y estética clínica aceptable (Liang et al., 2019; Paul et al., 2024). La estabilidad del implante se ha evaluado mediante resonancia magnética cuantitativa, torque de inserción y pruebas de carga funcional, todas las cuales han arrojado resultados positivos en estudios

multicéntricos. Adicionalmente, estudios clínicos han demostrado que las modificaciones de superficie del Ti-6Al-4V, como la anodización o el recubrimiento con hidroxiapatita, incrementan significativamente la tasa de integración ósea y reducen el riesgo de periimplantitis, especialmente en pacientes con comorbilidades como diabetes mellitus tipo 2 o tabaquismo (Byeon et al., 2023; Claros et al., 2016).

3.3. Toxicidad de materiales dentales

La toxicidad es una propiedad crítica que debe ser evaluada rigurosamente en cualquier biomaterial destinado a interactuar con tejidos vivos, particularmente en odontología, donde los materiales están en contacto prolongado con estructuras sensibles como mucosa oral, tejidos gingivales, pulpa dental y hueso alveolar (Willis et al., 2021). La toxicidad puede expresarse como citotoxicidad, genotoxicidad, neurotoxicidad, hepatotoxicidad, entre otras, y está relacionada con la liberación de compuestos químicos o partículas que afectan la viabilidad celular, inducen inflamación o alteran funciones fisiológicas clave (Shahi et al., 2019).

En el caso de la aleación Ti-6Al-4V, la toxicidad se ha asociado con la liberación de iones metálicos como el aluminio (Al) y el vanadio (V), los cuales pueden disolverse desde la superficie de la aleación en condiciones desfavorables, como acidez salival, inflamación crónica o abrasión mecánica (Challa et al., 2013; Chandar et al., 2017). Estos iones han demostrado efectos inhibitorios sobre la proliferación celular, alteración en la expresión de citoquinas inflamatorias y producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), contribuyendo al estrés oxidativo y potencial daño mitocondrial (Willis et al., 2021).

Los efectos tóxicos también se manifiestan por el ingreso intracelular de partículas de desgaste, las cuales pueden inducir apoptosis o alteraciones en la integridad de la membrana celular. Estudios *in vitro* han demostrado que fibroblastos gingivales expuestos a micro y nanopartículas de Ti-6Al-4V presentan reducción significativa en su viabilidad y capacidad de proliferación, lo cual ha sido vinculado a mecanismos de fagocitosis y alteración del potencial mitocondrial (Evans, 1994; Jiang et al., 2020).

Desde una perspectiva regulatoria, las pruebas de toxicidad deben estar alineadas con lo establecido por la norma ISO 10993-5, que define los niveles aceptables de citotoxicidad mediante métodos colorimétricos (MTT, LDH, SRB), ensayos de lisis celular y estudios de expresión génica. Un biomaterial se considera tóxico si induce una reducción superior al 30% en la viabilidad celular respecto al control (ISO, 2009; Ríos et al., 2014).

3.3.1. Pruebas de toxicidad

Las pruebas de toxicidad son fundamentales para determinar si un biomaterial induce efectos adversos sobre células, tejidos u organismos completos. En odontología, estas pruebas permiten establecer la seguridad de los materiales que estarán en contacto directo y prolongado con estructuras orales. Para ello, existen metodologías *in vitro*, *in vivo* y de tamizaje preliminar, que en conjunto ofrecen una evaluación integral del potencial tóxico de un biomaterial (Shahi et al., 2019). Uno de los métodos más ampliamente utilizados es el ensayo de viabilidad celular mediante pruebas colorimétricas, como el MTT, SRB (sulforhodamina B), ensayo de lactato deshidrogenasa (LDH) y azul tripán, los cuales permiten evaluar el metabolismo celular y la integridad de membranas tras la exposición al material (ISO, 2009; Ríos et al., 2014). Estas pruebas son sensibles, rápidas y reproducibles, y constituyen el primer paso obligatorio en la evaluación de materiales odontológicos.

En estudios comparativos realizados por Ríos et al. (2014), se evaluó la toxicidad de cinco materiales odontológicos, (titanio tipo IV, silicona, acrílico, resina y eugenolato) observándose que el eugenolato mostró toxicidad del 100% para *Artemia salina*, mientras que el titanio mostró 0%, confirmando su alta biocompatibilidad relativa.

Las pruebas de toxicidad también incluyen análisis moleculares como ELISA, Western blot, citometría de flujo y estudios de expresión génica para detectar mecanismos específicos como apoptosis, necrosis, inflamación o disrupción mitocondrial. Estos enfoques permiten caracterizar de manera más precisa los

efectos celulares y tisulares inducidos por los materiales (Emonson et al., 2024; Kunert et al., 2022).

3.4. Efectos de la toxicidad sobre la salud

Los materiales odontológicos están en constante interacción con tejidos vivos, (como mucosa oral, encía, hueso alveolar y pulpa dental) y fluidos biológicos, por lo que la toxicidad de estos compuestos representa una preocupación clínica relevante. Los efectos adversos pueden manifestarse a nivel local (inflamación, necrosis, fibrosis) o sistémico (acumulación de iones en órganos, toxicidad hepática, inmunotoxicidad), dependiendo de la dosis, tiempo de exposición, vía de entrada y susceptibilidad individual (Ríos et al., 2014; Willis et al., 2021).

En el caso de la aleación Ti-6Al-4V, los principales riesgos toxicológicos están relacionados con la liberación iónica de aluminio (Al) y vanadio (V), elementos que pueden desprenderse en la aleación en ambientes con pH ácido o bajo condiciones de estrés mecánico y corrosión. Estos iones se han asociado con efectos citotóxicos sobre fibroblastos gingivales y osteoblastos, así como con alteraciones en la actividad mitocondrial, inhibición de la respiración celular y generación de ROS (Byeon et al., 2023; Chandar et al., 2017; Kunert et al., 2022). Estudios *in vitro* han demostrado que concentraciones elevadas de vanadio (V) y aluminio (Al) pueden inducir apoptosis, estrés oxidativo y activación de vías inflamatorias, incluyendo la sobreexpresión de citoquinas como TNF- α , IL-1 β e IL-6, lo cual compromete la regeneración tisular y puede favorecer procesos de periimplantitis o rechazo crónico de la aleación (Bandyopadhyay et al., 2023; Emonson et al., 2024).

A nivel sistémico, se ha reportado que los iones metálicos liberados por dispositivos implantables pueden ser transportados por vía sanguínea y acumularse en órganos como hígado, riñones y cerebro, especialmente en casos de exposición prolongada o pacientes con deterioro de la función renal (Willis et al., 2021). En estos órganos, los metales pueden desencadenar procesos de inflamación crónica, fibrosis hepática, disfunción renal e incluso alteraciones neuroconductuales, lo cual

ha sido documentado tanto en modelos animales como en estudios de autopsia humana. Además, se ha planteado la posibilidad de que la liberación prolongada de ciertos iones metálicos tenga efectos genotóxicos y mutagénicos, aunque la evidencia es todavía limitada y requiere mayor investigación clínica y molecular. Algunos componentes metálicos presentes en aleaciones dentales han demostrado generar roturas de doble cadena de ADN o interferir con la mitosis en cultivos celulares (Moharamzadeh et al., 2009; Shehata et al., 2013).

A nivel clínico, los efectos adversos de los materiales dentales tóxicos pueden manifestarse como reacciones alérgicas de tipo IV, dermatitis de contacto, lesiones cáusticas, úlceras crónicas o fibrosis perilesional. Por ejemplo, el uso de eugenolatos ha sido vinculado con necrosis tisular, hipoglucemia, alteraciones hepáticas e incluso falla orgánica múltiple en casos extremos de exposición sistémica (Maldonado et al., 2008). Por lo tanto, la vigilancia toxicológica de biomateriales no debe limitarse a pruebas *in vitro*, sino incluir estudios clínicos de largo plazo y análisis postcomercialización, considerando factores individuales como enfermedades sistémicas, medicamentos concomitantes y hábitos como el tabaquismo o la bruxomanía, que pueden alterar el microambiente oral y facilitar la liberación de iones.

3.5. Valores umbrales en biocompatibilidad

La definición de valores umbrales en biocompatibilidad permite establecer límites cuantitativos por debajo de los cuales un material puede considerarse seguro para su uso clínico. Estos valores umbrales son esenciales tanto en pruebas *in vitro* como *in vivo*, y se sustentan en normativas internacionales como la ISO 10993-5 y ISO 7405, que establecen criterios estandarizados para la aceptación o rechazo de biomateriales odontológicos según su nivel de citotoxicidad y respuesta biológica global (ISO, 2009, 2018).

Como ya fue descrito, en pruebas *in vitro*, un material se considera citotóxico si produce una reducción de viabilidad celular superior al 30% respecto al control negativo, según el criterio definido por ISO 10993-5. Esta norma establece que, en

ensayos como el MTT, SRB, LDH o azul tripán, si más del 70% de las células sobreviven a la exposición con el material, se considera que la citotoxicidad está dentro de los márgenes aceptables. Respecto al ensayo de viabilidad con (*Artemia salina*) como una herramienta preliminar de tamizaje. En este modelo, se considera que un material es tóxico si induce una mortalidad igual o mayor al 30% de las larvas en un período de 24 a 48 horas (Sarmiento et al., 2014).

En pruebas con cultivos celulares, los umbrales de concentración también son críticos. Por ejemplo, concentraciones de vanadio (V) por encima de 10^{-6} M han mostrado inducir apoptosis y estrés oxidativo en fibroblastos y osteoblastos humanos. Asimismo, niveles de aluminio (Al) superiores a 10^{-5} M pueden afectar la viabilidad celular y modificar la expresión de genes proinflamatorios (Emonson et al., 2024).

La evaluación de materiales como el Ti-6Al-4V debe contemplar no solo la viabilidad celular, sino también indicadores funcionales como la morfología mitocondrial, la integridad de membrana y la capacidad de proliferación celular. Estudios que utilizan citometría de flujo y ELISA para detectar marcadores de apoptosis o estrés oxidativo también han propuesto umbrales basados en la expresión relativa de genes como *Bax*, *Bcl-2*, *Caspasa-3* o *IL-6*, donde una sobreexpresión 2 veces superior al control puede indicar un riesgo potencial (Kunert et al., 2022).

Estos valores umbrales no son absolutos, ya que pueden variar de acuerdo con el tipo de célula, el tiempo de exposición, la forma física del material (iones vs. partículas) y las condiciones del medio de cultivo. No obstante, permiten estandarizar la evaluación comparativa entre materiales y establecer criterios regulatorios confiables. Por lo tanto, el establecimiento de valores umbrales en biocompatibilidad (tanto de viabilidad celular como de toxicidad aguda) permite sustentar decisiones clínicas, regulatorias e investigativas.

3.6. Aleaciones utilizadas en ortodoncia

El desarrollo de aleaciones metálicas ha sido determinante para el avance de la ortodoncia moderna, permitiendo el diseño de dispositivos más eficientes, duraderos y biocompatibles. Las aleaciones utilizadas en ortodoncia deben cumplir criterios específicos como alta resistencia mecánica, elasticidad controlada, resistencia a la corrosión, facilidad de conformado y, sobre todo, biocompatibilidad con los tejidos orales (Emonson et al., 2024; Willis et al., 2021). No obstante, cada tipo de aleación presenta ventajas particulares en cuanto a propiedades mecánicas y comportamiento clínico, así como limitaciones relacionadas con su respuesta biológica, capacidad de adaptación o potencial citotóxico (Tabla 1), lo que hace necesario un análisis comparativo cuidadoso para su adecuada selección según la aplicación clínica prevista.

Tabla 1. Comparación de Aleaciones Metálicas para Aplicaciones Ortodónticas

Aleación	Ventajas	Desventajas	Referencias
Acero inoxidable	• Alta resistencia mecánica. • Bajo costo. • Buena soldabilidad.	• Liberación de iones metálicos (Ni, Cr) • Riesgo de reacciones alérgicas. • Menor biocompatibilidad.	Geetha et al. (2009); Hanawa (2002); Saini (2015)
Co-Cr (Cobalto-Cromo)	• Buena resistencia a la corrosión. • Buena biocompatibilidad. • Alta dureza.	• Difícil maquinabilidad. • Alto costo. • Rigidez elevada.	Hanawa (2002)
Ni-Ti (Níquel-Titanio)	• Elasticidad y efecto memoria de forma. • Buena biocompatibilidad.	• Liberación potencial de níquel. • Comportamiento mecánico complejo.	Hallab et al. (2001); Kim et al. (2015)
Beta-Titanio	• Buena conformabilidad, sin contenido de níquel. • Adecuado para fuerzas ligeras.	• Costo elevado. • Menor disponibilidad comercial.	Elias et al. (2008)
Ti-6Al-4V	• Alta resistencia mecánica. • Buena biocompatibilidad. • Baja liberación iónica.	• Costo relativamente alto. • Maquinabilidad limitada en algunos contextos.	Dias et al. (2020); Geetha et al. (2009); Moon et al. (2012)

Entre las aleaciones más utilizadas en ortodoncia clínica se encuentran el acero inoxidable (SS), el níquel-titanio (NiTi), el cobalto-cromo (Co-Cr), las aleaciones de beta-titanio (β -Ti) y otras aleaciones ricas en titanio como el Ti-6Al-4V. Estas aleaciones se emplean en la fabricación de brackets, arcos, minitornillos para anclaje temporal, bandas, tubos molares y otros aditamentos ortodónticos que deben resistir fuerzas continuas sin comprometer su integridad estructural ni provocar reacciones adversas (Ríos et al., 2014).

El acero inoxidable, una de las primeras aleaciones adoptadas en ortodoncia, destaca por su bajo costo y buena resistencia mecánica, aunque su contenido de níquel puede representar un riesgo en pacientes alérgicos. Por su parte, las aleaciones NiTi han revolucionado la mecánica ortodóntica gracias a sus propiedades de elasticidad y efecto memoria de forma, facilitando la aplicación de fuerzas ligeras y constantes durante periodos prolongados (Bandyopadhyay et al., 2023). Las aleaciones de Co-Cr ofrecen resistencia a la corrosión y estabilidad dimensional, mientras que las aleaciones β -Ti y el Ti-6Al-4V proporcionan una relación adecuada entre biocompatibilidad, módulo de elasticidad y capacidad de soldadura, lo cual las hace ideales para aplicaciones en contacto directo con hueso y mucosa (Heins et al., 2025; Kunert et al., 2022).

Cada aleación presenta un perfil único de propiedades físicas, químicas y biológicas. Por ejemplo, el Ti-6Al-4V, aunque ampliamente utilizado, ha generado preocupaciones respecto a la liberación de iones de aluminio (Al) y vanadio (V) bajo condiciones fisiológicas adversas. No obstante, estudios recientes han demostrado que estas aleaciones, cuando son tratadas superficialmente mediante anodización, arenado o recubrimientos bioactivos, presentan buen comportamiento en cuanto a osteointegración, resistencia a la corrosión y respuesta inmune (Byeon et al., 2023; Paul et al., 2024). En términos de biocompatibilidad, cada una de estas aleaciones debe cumplir con lo estipulado por las normativas ISO 10993, particularmente en lo concerniente a la evaluación de citotoxicidad, sensibilización, irritación, toxicidad sistémica y genotoxicidad. La selección del material debe basarse en el equilibrio entre sus propiedades mecánicas y su seguridad clínica a largo plazo, considerando

tanto factores intrínsecos del material como las condiciones del entorno bucal (ISO, 2009, 2023)

3.6.1. Acero inoxidable

El acero inoxidable (Stainless Steel, SS) ha sido una de las primeras aleaciones metálicas empleadas ampliamente en ortodoncia debido a su adecuada combinación de resistencia mecánica, bajo costo y facilidad de manipulación. Esta aleación, compuesta, de manera general, por hierro (Fe), cromo (Cr) (16-18%), níquel (Ni) (8-12%) y pequeñas cantidades de molibdeno (Mo) o manganeso (Mn), ha demostrado un comportamiento aceptable en términos de biocompatibilidad, aunque no está exenta de limitaciones clínicas (Ríos et al., 2014).

En ortodoncia, el acero inoxidable es utilizado en la fabricación de brackets, arcos, bandas, tubos y diversos dispositivos auxiliares. Su principal ventaja radica en su alta resistencia a la tracción (superior a 1500 MPa), bajo módulo de elasticidad (~200 GPa) y estabilidad dimensional incluso bajo deformaciones constantes, lo cual permite la aplicación de fuerzas ortodónticas controladas durante tratamientos prolongados (Willis et al., 2021). No obstante, una de las principales preocupaciones con el uso del acero inoxidable es la liberación de iones metálicos, especialmente níquel (Ni) y cromo (Cr), los cuales pueden generar reacciones inflamatorias locales, sensibilización inmunológica y, en algunos casos, alergias de tipo IV. La liberación iónica se ve favorecida por condiciones de acidez salival, fricción mecánica o alteraciones en la pasivación superficial del material (Bandyopadhyay et al., 2023; Brantley et al., 2016).

Estudios *in vitro* han evidenciado que el acero inoxidable puede inducir una leve citotoxicidad en cultivos de fibroblastos gingivales y células epiteliales orales, aunque dentro de rangos aceptables establecidos por la norma ISO 10993-5 (Ríos et al., 2014). Sin embargo, su comportamiento citotóxico se agrava en presencia de partículas de desgaste o cuando se utiliza en condiciones de corrosión galvánica junto a otras aleaciones metálicas (Pelka et al., 2000). Desde una perspectiva clínica, la exposición crónica a iones de níquel (Ni) ha sido asociada con dermatitis

perioral, úlceras crónicas, y en casos extremos, reacciones sistémicas en pacientes sensibilizados. Debido a ello, se recomienda precaución en el uso de acero inoxidable en pacientes con antecedentes alérgicos conocidos al níquel (Ni), siendo preferibles aleaciones libres de níquel como el beta-titanio o aleaciones especiales de cobalto-cromo (Vaicelyte et al., 2020).

A pesar de estas limitaciones, la aleación de acero inoxidable sigue siendo uno de los materiales más utilizados en ortodoncia fija y removible, particularmente en regiones donde el costo es un factor determinante. Su disponibilidad, facilidad de soldadura, compatibilidad con múltiples técnicas de unión y buena respuesta clínica general, la mantienen vigente como una opción válida dentro del arsenal ortodóntico.

3.6.2. Cobalto (Co) - cromo (Cr)

Las aleaciones de cobalto-cromo (Co-Cr) han sido ampliamente utilizadas en ortodoncia y prótesis dental por su resistencia mecánica, estabilidad frente a la corrosión y aceptable biocompatibilidad. Estas aleaciones, compuestas principalmente por cobalto (Co) y cromo (Cr), pueden incluir otros elementos como molibdeno (Mo), níquel (Ni), hierro (Fe) y manganeso (Mn), dependiendo de la aplicación clínica específica (Vaicelyte et al., 2020). El uso de Co-Cr en ortodoncia se ha consolidado en la fabricación de arcos, brackets, estructuras de anclaje y componentes removibles. Su rigidez (módulo elástico de aproximadamente 220–240 GPa) y alta resistencia a la tracción permiten aplicar fuerzas controladas sin deformaciones plásticas, lo que es ideal para aplicaciones prolongadas en la cavidad oral (Vaicelyte et al., 2020; Woźniak-Budych et al., 2023).

En cuanto a la biocompatibilidad, el Co-Cr forma naturalmente una capa de óxido de cromo sobre su superficie, la cual actúa como barrera pasiva contra la corrosión y limita la liberación de iones metálicos al medio bucal. Esta propiedad le confiere una resistencia superior frente a medios ácidos y microbianos, en comparación con otras aleaciones como Ni-Cr (Ramírez-Ledesma et al., 2020; Tuna et al., 2020). Sin embargo, no está exento de riesgos toxicológicos. Diversos

estudios han demostrado que, bajo condiciones de desgaste mecánico, presencia de biofilms, o pH salival ácido, puede haber liberación de iones de Co y Cr, con potencial de generar reacciones adversas locales o sistémicas (Kassapidou et al., 2020; Kim et al., 2015). Particularmente preocupante es el cromo hexavalente (Cr VI), considerado carcinógeno por la IARC, aunque en condiciones fisiológicas se reduce rápidamente a su forma trivalente (Cr III), de menor toxicidad.

Clínicamente, se han reportado casos de hipersensibilidad a Co-Cr, especialmente en pacientes con predisposición alérgica o exposición prolongada a prótesis metálicas. Se han documentado dermatitis de contacto, estomatitis, dolor oral persistente e incluso lesiones dermatológicas extraorales asociadas a la liberación iónica en individuos sensibilizados (Arafa, 2016; Olms et al., 2019). A pesar de estos riesgos, los ensayos de citotoxicidad han mostrado que la mayoría de las aleaciones Co-Cr actuales se encuentran dentro de los límites aceptables de viabilidad celular ($\geq 70\%$) establecidos por la norma ISO 10993-5, tanto en fibroblastos L929 como en células epiteliales humanas BEAS-2B, e incluso con menor efecto citotóxico que Ti6Al4V en algunos estudios comparativos (Kassapidou et al., 2020).

Por último, la evolución regulatoria en la Unión Europea ha catalogado recientemente al cobalto como una sustancia CMR (carcinogénica, mutagénica y tóxica para la reproducción), por lo que se están proponiendo restricciones para su uso en dispositivos médicos invasivos que contengan más del 0.1% de Co (UE-MDR 2017/745; CLP ATP14, 2020).

3.6.3. Níquel (Ni) - titanio (Ti)

La aleación níquel-titanio (NiTi), también conocida comercialmente como Nitinol, ha revolucionado la práctica ortodóntica desde su introducción en los años 70 por su capacidad única de presentar efecto memoria de forma y superelasticidad. Estas propiedades permiten a los dispositivos de NiTi recuperar su forma original tras deformaciones significativas, generando fuerzas ligeras y continuas ideales para el movimiento ortodóntico controlado (Brantley et al., 2016).

Desde el punto de vista metalúrgico, el NiTi se basa en una composición casi equiatómica, que le permite sufrir transformaciones de fase reversibles entre austenita (a alta temperatura) y martensita (a baja temperatura), con la posibilidad de pasar por una fase intermedia conocida como R-fase. Esta transformación permite que los arcos ortodónticos de NiTi exhiban propiedades de recuperación elástica (springback) superiores a otras aleaciones convencionales (Kayser et al., 2002).

Las ventajas clínicas del NiTi incluyen su bajo módulo elástico (~41–75 GPa), la capacidad de mantener fuerzas constantes durante activación y desactivación, y la reducción en el número de cambios de alambre durante el tratamiento. Además, la capacidad termoelástica de algunos productos permite diseñar arcos que responden a la temperatura corporal para activar el efecto memoria, mejorando la eficiencia del tratamiento (Mohammadi et al., 2014). En cuanto a la biocompatibilidad, aunque el NiTi ha sido considerado generalmente seguro, su alto contenido de níquel (~50%) ha generado preocupaciones. Se ha demostrado que en condiciones desfavorables, (como pH ácido o exposición prolongada) puede liberarse Ni^{2+} , lo cual está asociado con citotoxicidad, genotoxicidad, y reacciones alérgicas en individuos susceptibles (Liu et al., 2019; Ríos et al., 2014).

Estudios *in vitro* han mostrado que fibroblastos humanos expuestos a superficies de NiTi presentan reducción significativa en la proliferación celular, especialmente cuando no se aplican tratamientos superficiales como nitruración o recubrimiento con TiN (Bandyopadhyay et al., 2023). No obstante, linfocitos humanos no mostraron genotoxicidad ni citotoxicidad significativa, lo cual sugiere una respuesta dependiente del tipo celular. La resistencia a la corrosión del NiTi, aunque generalmente alta, ha sido reportada como inferior a la del titanio puro o del Ti6Al4V, especialmente en soluciones salinas simuladas como Hank's o NaCl al 0.9% a 37 °C. Sin embargo, supera al acero inoxidable y CoCr en la mayoría de las pruebas de exposición prolongada, gracias a la formación espontánea de capas pasivas de óxidos en su superficie (Bandyopadhyay et al., 2023; Emonson et al., 2024).

3.6.4. Beta-titanio

Las aleaciones beta-titanio (β -Ti) representan una generación avanzada de materiales utilizados en ortodoncia, desarrolladas con el propósito de superar las limitaciones asociadas a otras aleaciones metálicas como el acero inoxidable, el NiTi y el Ti-6Al-4V. Estas aleaciones están compuestas por titanio en combinación con elementos no tóxicos y biocompatibles como niobio (Nb), tántalo (Ta), zirconio (Zr), estaño (Sn) y molibdeno (Mo), los cuales estabilizan la fase beta del titanio, caracterizada por su estructura cúbica centrada en el cuerpo (BCC) (Yolun et al., 2021).

En el ámbito ortodóntico, la aleación beta-titanio más conocida es el TMA® (Titanium-Molybdenum Alloy), inicialmente diseñada para aplicaciones aeroespaciales pero adaptada clínicamente por su combinación de propiedades físicas y biológicas. Esta aleación presenta un módulo elástico intermedio (~70–100 GPa) entre el acero inoxidable y el NiTi, alta capacidad de conformado, y una excepcional soldabilidad, siendo la única aleación ortodóntica metálica que permite soldadura directa, facilitando la confección de aparatos clínicos personalizados (Alizadeh et al., 2024).

Desde el punto de vista de la biocompatibilidad, las aleaciones β -Ti se distinguen por estar libres de elementos potencialmente tóxicos como el aluminio (Al) y el vanadio (V), los cuales están presentes en otras aleaciones como el Ti-6Al-4V (Willis et al., 2021). Diversos estudios han demostrado que combinaciones como Ti-35Nb-5Ta-7Zr o Ti-13Nb-13Zr presentan adecuada compatibilidad celular, promoviendo la proliferación de osteoblastos y evitando reacciones inflamatorias o alergias conocidas con otras aleaciones (Yolun et al., 2021). Además, estas aleaciones muestran resistencia superior a la corrosión en medios simulados fisiológicos (soluciones de Hank, SBF, NaCl 0.9%) gracias a la formación de películas pasivas compuestas por óxidos estables como Nb₂O₅, Ta₂O₅ y ZrO₂, las cuales son más efectivas que la TiO₂ modificada por óxidos de Al y V en Ti-6Al-4V (Emonson et al., 2024; Paul et al., 2024). Esto se traduce en una menor liberación

de iones al medio biológico, lo que refuerza su potencial clínico a largo plazo (Heins et al., 2025).

Desde una perspectiva clínica, los alambres de β -Ti ofrecen una combinación de fuerza controlada, recuperación elástica, y adaptabilidad en ambientes orales dinámicos, siendo recomendados para casos que requieren movimientos ortodónticos precisos o donde se evita el uso de NiTi por sensibilidad al níquel (Ríos et al., 2014). También han sido evaluados favorablemente en minitornillos ortodónticos y brackets fabricados con tecnología CAD/CAM y manufactura aditiva (Heins et al., 2025). A pesar de sus múltiples ventajas, las aleaciones beta-titanio aún presentan desafíos técnicos, como su costo relativamente alto, complejidad metalúrgica y la necesidad de tratamientos térmicos específicos para optimizar sus propiedades mecánicas. No obstante, se perfilan como materiales de elección futura debido a su balance óptimo entre resistencia, ductilidad, biocompatibilidad y estabilidad electroquímica (Willis et al., 2021; Yolun et al., 2021).

3.6.5. Ti-6Al-4V

La aleación Ti-6Al-4V, compuesta por titanio (Ti), aluminio (Al) y vanadio (V), es una de las más utilizadas en aplicaciones biomédicas, incluyendo la ortodoncia e implantología, debido a su relación entre resistencia mecánica, densidad reducida y resistencia a la corrosión (Emonson et al., 2024; Willis et al., 2021). Su alta relación resistencia-peso, estabilidad estructural y buen desempeño en condiciones fisiológicas la convierten en una opción preferida para dispositivos implantables como minitornillos ortodónticos, tornillos de anclaje y estructuras de soporte de carga (Alizadeh et al., 2024; Byeon et al., 2023).

Desde el punto de vista mecánico, la aleación Ti-6Al-4V presenta una resistencia a la tracción superior a 800 MPa y un módulo de elasticidad de aproximadamente 110 GPa, lo que le permite resistir cargas cíclicas y mantener su forma sin deformación permanente (Paul et al., 2024). No obstante, este módulo elevado puede favorecer el fenómeno de stress shielding en implantes óseos,

disminuyendo la estimulación mecánica sobre el hueso circundante y afectando la osificación (Heins et al., 2025; Ríos et al., 2014).

En términos de biocompatibilidad, el Ti-6Al-4V ha sido extensamente evaluado, y aunque se considera generalmente seguro en su forma masiva, diversos estudios han reportado citotoxicidad y genotoxicidad asociadas a la liberación de iones metálicos, particularmente de vanadio (V^{5+}) y aluminio (Al^{3+}), cuando la aleación se somete a condiciones adversas como ambientes ácidos, estrés mecánico o desgaste (Willis et al., 2021). Por ejemplo, se ha demostrado que el pH salival reducido puede acelerar la corrosión de Ti-6Al-4V, promoviendo la liberación iónica y aumentando la concentración de metales en el entorno tisular. Esta exposición ha sido vinculada con alteraciones mitocondriales, inflamación celular, activación de osteoclastos y potenciales efectos neurotóxicos y nefrotóxicos, especialmente con exposiciones prolongadas (Alizadeh et al., 2024; Yolun et al., 2021).

En un estudio sistemático, Willis et al. (2021) concluyeron que partículas submicrométricas de Ti-6Al-4V pueden ser fagocitadas por fibroblastos y células óseas, induciendo osteólisis y sobreexpresión de RANKL, lo cual promueve la diferenciación de osteoclastos y contribuye a la pérdida ósea periimplantaria. Otros estudios han documentado que estos efectos son dependientes de la forma y tamaño de las partículas, así como de la vía de exposición (Byeon et al., 2023).

Sin embargo, múltiples estrategias han sido desarrolladas para mitigar estos efectos, como tratamientos superficiales mediante anodización, texturizado láser, recubrimientos cerámicos bioactivos y técnicas de pasivación química. Estos métodos han demostrado mejorar la respuesta celular y reducir significativamente la liberación de iones metálicos, además de incrementar la resistencia a la corrosión y la adhesión celular (Emonson et al., 2024). A pesar de los cuestionamientos sobre su toxicidad potencial, el Ti-6Al-4V sigue siendo considerado un material confiable y clínicamente validado, especialmente cuando se utiliza en aplicaciones donde el contacto con tejidos blandos y fluidos biológicos es limitado o controlado (Willis et al., 2021).

4. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

La creciente demanda de biomateriales odontológicos que presenten alta biocompatibilidad, estabilidad mecánica, resistencia a la corrosión y durabilidad en el entorno oral ha motivado la adopción de aleaciones como el Ti-6Al-4V en ortodoncia. Esta aleación, compuesta por titanio con adiciones de aluminio (6%) y vanadio (4%), ha demostrado cumplir con los requerimientos clínicos fundamentales en términos de resistencia mecánica y facilidad de manufactura aditiva. Sin embargo, persisten preocupaciones respecto a su biocompatibilidad, principalmente debido a la potencial liberación de iones de aluminio (Al) y vanadio (V), elementos que han sido relacionados con efectos tóxicos en diversos estudios tanto *in vitro* como *in vivo*.

En particular, el vanadio (V) ha sido asociado con la inducción de estrés oxidativo, alteración de la función mitocondrial, y promoción de procesos inflamatorios mediante activación de citoquinas como IL-6 y TNF- α . Por su parte, el aluminio (Al) ha sido implicado en disfunciones neurológicas, genotoxicidad y reducción de la viabilidad celular en concentraciones elevadas. Aunque estas concentraciones no se alcanzan fácilmente en condiciones normales de uso clínico, los fenómenos de corrosión acelerada, fricción y desequilibrio del pH salival pueden incrementar significativamente la lixiviación de iones, poniendo en duda la seguridad de estos materiales en el entorno oral dinámico.

Si bien muchos estudios han demostrado una citocompatibilidad aceptable del Ti-6Al-4V en condiciones controladas, existe una gran variabilidad metodológica en los modelos utilizados para su evaluación, lo que limita la extrapolación directa de los resultados a escenarios clínicos reales. Las pruebas *in vitro*, si bien son esenciales en la fase preliminar de desarrollo, no reflejan completamente la complejidad del entorno biológico, incluyendo la interacción con saliva, microbiota, fuerzas mecánicas y respuesta inmunológica del hospedador. En este contexto, los modelos animales, especialmente en especies con similitud anatómica y fisiológica con el humano, se vuelven fundamentales para determinar con mayor precisión la biocompatibilidad e histocompatibilidad de los biomateriales propuestos. El modelo

porcino se ha propuesto como una alternativa válida debido a sus similitudes en estructura ósea, espesor de mucosa oral, y respuesta tisular, además de ser recomendado por normativas internacionales como la ISO 10993 para ensayos preclínicos.

Frente a este panorama, surge la necesidad de realizar una evaluación sistemática y rigurosa de la aleación Ti-6Al-4V, no solo a través de pruebas estandarizadas de citotoxicidad y viabilidad celular, sino también mediante ensayos *in vivo* e histológicos en un modelo animal representativo. Esta evaluación integral permitirá establecer criterios de seguridad aplicables a su uso en ortodoncia, especialmente en dispositivos de contacto prolongado o implantables.

En consecuencia, el problema central de esta investigación puede formularse de la siguiente manera: ¿La aleación Ti-6Al-4V presenta un perfil adecuado de biocompatibilidad e histocompatibilidad para su uso en aplicaciones ortodónticas, considerando su comportamiento en un modelo porcino *in vivo*? Responder a esta pregunta permitirá contribuir al desarrollo y validación de biomateriales más seguros, con implicaciones directas en la calidad del tratamiento ortodóntico, la bioseguridad del paciente y la regulación biomédica de dispositivos dentales.

5. JUSTIFICACIÓN

La validación biológica de materiales utilizados en dispositivos médicos y dentales es un requisito esencial para garantizar su seguridad y eficacia clínica. La aleación Ti-6Al-4V, ampliamente empleada en ortodoncia e implantología, ofrece una notable combinación de propiedades mecánicas, resistencia a la corrosión y disponibilidad tecnológica. Sin embargo, su contenido de aluminio (6%) y vanadio (4%) ha despertado preocupaciones debido a la posibilidad de liberación iónica bajo condiciones fisiológicas adversas, lo cual podría comprometer su biocompatibilidad a largo plazo (Emonson et al., 2024; Willis et al., 2021). La literatura ha documentado que, si bien el Ti-6Al-4V cumple con estándares internacionales como ISO 10993 en condiciones controladas, las exposiciones clínicas reales, (donde factores como el pH salival, la microbiota oral y la carga mecánica son altamente variables) pueden inducir corrosión localizada y generar productos metálicos secundarios (Paul et al., 2024). Dichos productos pueden generar respuestas inflamatorias, estrés oxidativo y cambios en la viabilidad celular, tanto en tejidos blandos como en tejido óseo.

Además, las pruebas de citotoxicidad *in vitro* no siempre reflejan la complejidad de la respuesta biológica *in vivo*. Por esta razón, los estudios en modelos animales son fundamentales, especialmente cuando se trata de dispositivos utilizados con fines ortodónticos. En este sentido, el modelo porcino representa una de las mejores alternativas para la evaluación preclínica, debido a su similitud con la anatomía, densidad ósea, tipo de mucosa y respuesta inmunológica del ser humano (Thrivikraman et al., 2014). La norma ISO 10993-6 establece la necesidad de realizar pruebas de biocompatibilidad subcrónicas y crónicas, con estudios histológicos detallados del tejido en contacto con el material de interés de uso ortodóntico. Estos estudios permiten determinar la presencia de reacciones inflamatorias, fibrosis, encapsulación o necrosis, las cuales no pueden ser evidenciadas con estudios exclusivamente *in vitro*.

En el campo de la ortodoncia, donde se emplean minitornillos, placas y otros aditamentos temporales en contacto con hueso y mucosa, es particularmente

importante asegurar que los materiales no solo resistan mecánicamente, sino que no generen reacciones tisulares adversas durante su permanencia intraoral. En ese sentido, estudios recientes han mostrado resultados contradictorios sobre la seguridad del Ti-6Al-4V, lo que refuerza la necesidad de evaluaciones sistemáticas y contextualizadas a cada aplicación clínica (Kunert et al., 2022; Willis et al., 2021). Por lo tanto, se justifica la realización de una investigación que evalúe la biocompatibilidad e histocompatibilidad de la aleación Ti-6Al-4V mediante un modelo experimental porcino, lo cual permitirá obtener información integral, útil para su validación en aplicaciones ortodónticas.

6. OBJETIVO GENERAL

Evaluar *in vivo* la biocompatibilidad e histocompatibilidad de la aleación Ti-6Al-4V utilizada en dispositivos ortodónticos, mediante un modelo porcino, a través del análisis hematológico, inmunológico e histopatológico en mucosa oral.

6.1. Objetivos particulares

1. Analizar los cambios hematológicos (leucocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, hematocrito y hemoglobina) en respuesta a la colocación de fragmentos de aleación Ti-6Al-4V en contacto con la mucosa oral de cerdo.
2. Evaluar la respuesta inmunológica sistémica mediante la cuantificación de citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α) y proteína C reactiva (PCR) posterior a la colocación de la aleación.
3. Describir las características histopatológicas del tejido oral adyacente a la zona de contacto, comparando la aleación Ti-6Al-4V con acero inoxidable y con controles sin intervención o sin fragmento.

7. HIPÓTESIS

La colocación de fragmentos de la aleación Ti-6Al-4V en contacto con la mucosa bucal de un modelo porcino genera una respuesta inflamatoria local y sistémica menor en comparación con la aleación de acero inoxidable, caracterizada por una menor alteración de los parámetros hematológicos, menores niveles de citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α) y proteína C reactiva, así como por una mejor preservación histológica de la arquitectura tisular.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la Unidad de Servicios Auxiliares para el Diagnóstico (USAD) perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo (UMSNH). El protocolo fue revisado y aprobado por el Comité Científico Técnico de la FMVZ-UMSNH. El manejo de los animales respetó los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO, 1999), así como los de la International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS, 1985).

8.1. Dispositivos

Los dispositivos utilizados en este estudio corresponden a dos fragmentos de aleaciones de uso común en aplicaciones médicas: 1) acero inoxidable de grado médico, principalmente del tipo AISI 304, y 2) aleación de titanio con aluminio y vanadio (Ti-6Al-4V). El dispositivo de acero inoxidable fue de marca comercial (AH-KIM-Pech; 0.03 x 5 mm) y contiene entre 18 y 20 % de cromo y entre 8 y 10.5 % de níquel, con pequeñas adiciones de manganeso, silicio y carbono (Figura 2A). Con respecto al dispositivo de aleación Ti6-Al4-V (0.017x 0.025) fue fabricado por la Facultad de Metalurgia-UMSNH y su composición química exacta (% en peso) es: 6.10Al 3.93V– 0.17Fe– 0.12O– 0.009C– 0.005N- 0.002H – Ti (Figura 2B).

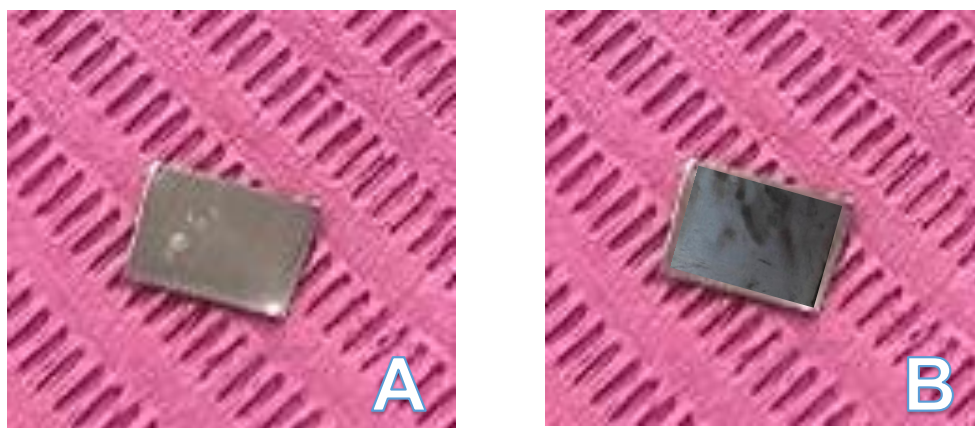


Figura 2. A) Dispositivo de acero inoxidable. B) Dispositivo de aleación Ti6Al4-V.

8.2. Aplicación intraoral de fragmentos de las aleaciones

8.2.1. Procedimiento experimental

Se utilizaron veinte cerdos machos sanos de genotipo Landrace × Large White provenientes de una granja comercial de ciclo completo ubicada en la localidad de Patuán, Michoacan, Mexico. Al inicio del experimento, los animales tenían 35 días de edad y un peso corporal promedio de 9.6 ± 0.34 kg. Previo a cualquier intervención, los cerdos fueron alojados individualmente en jaulas metabólicas dentro de una instalación con temperatura controlada y se les proporcionó un periodo de adaptación de siete días, con el objetivo de asegurar una adecuada adaptación al alojamiento y a la manipulación experimental. Durante este tiempo, se monitoreó diariamente su estado de salud, se les ofreció una dieta convencional en harina de acuerdo con su etapa fisiológica y acceso libre a agua.

Una vez terminado el periodo de adaptación, los cerdos fueron asignados aleatoriamente a uno de los cuatro grupos experimentales ($n = 5$ cerdos por grupo), como se detalla a continuación:

1. Grupo control negativo (GCN): cerdos a los que no se les colocó ningún fragmento de aleación metálica ni se les tomó biopsia de mucosa bucal.
2. Grupo control positivo-1 (GCP-1): cerdos a los que no se les colocó ningún fragmento de aleación metálica, pero sí se les tomó biopsia de mucosa bucal.
3. Grupo control positivo-2 (GCP-2): cerdos a los que se les colocó por medio de una cementación los fragmentos de aleación de acero inoxidable y se les tomó biopsia de mucosa bucal.
4. Grupo experimental (GE): cerdos a los que se les colocó por medio de una cementación los fragmentos de aleación de titanio Ti-6Al-4V y se les tomó biopsia de mucosa bucal.

Los procedimientos para la colocación de los fragmentos de las aleaciones se realizaron bajo anestesia general. La sedación se indujo mediante azaperona (Sural®, 2 mg/kg de peso corporal IM). Posteriormente, se indujo y mantuvo la

anestesia mediante la administración de propofol (Suprivan®, 3–5 mg/kg de peso corporal IM), ajustando la dosis de acuerdo con la respuesta individual. Una vez confirmado el plano anestésico quirúrgico, se procedió a la colocación de los fragmentos de las aleaciones bajo condiciones asépticas.

En los grupos GCP-2 y GE, se colocaron un par de fragmentos de cada aleación de 5.0 x 2.0 mm, largo y ancho, respectivamente en los incisivos inferiores de cada cerdo (Figura 3). La superficie dental fue limpiada utilizando agua y una torunda de algodón estéril (Figura 3A). Posteriormente, se realizó un grabado selectivo del esmalte con ácido fosfórico al 35%, aplicándolo durante 30 segundos. Para este procedimiento se utilizó el sistema Ultra-Etch (Ultradent®) (Figura 3B). Una vez transcurrido el tiempo de grabado, el ácido fue retirado completamente con torundas de algodón impregnadas en agua, y la superficie dental fue secada con una torunda seca antes de la aplicación del adhesivo (Figura 3C). El adhesivo fue aplicado de manera activa sobre la superficie grabada del esmalte, utilizando un microbrush dental, asegurando su distribución homogénea mediante movimientos de cepillado (Figura 3D). Se utilizó el adhesivo Bond Ortho Solo (ORMCO®, 5 mL). La fotopolimerización del adhesivo se llevó a cabo utilizando una lámpara de fotocurado inalámbrica (Dental ILED MAX, Woodpecker®) (Figura 3E), respetando el tiempo de exposición recomendado por el fabricante. Posteriormente, los fragmentos de la aleación fueron sujetos con una pinza porta brackets (Hu-Friedy®) y se aplicó resina compuesta (Blogloo, ORMCO®) en una de sus caras (Figura 3F). El fragmento de la aleación fue posicionado sobre la superficie dental tratada, ejerciendo una ligera presión para asegurar su correcta adhesión. (Figura 3G). Finalmente, se realizó la fotopolimerización de la resina utilizando nuevamente la lámpara Dental ILED MAX (Figura 3H). Terminado (Figura 3I) .

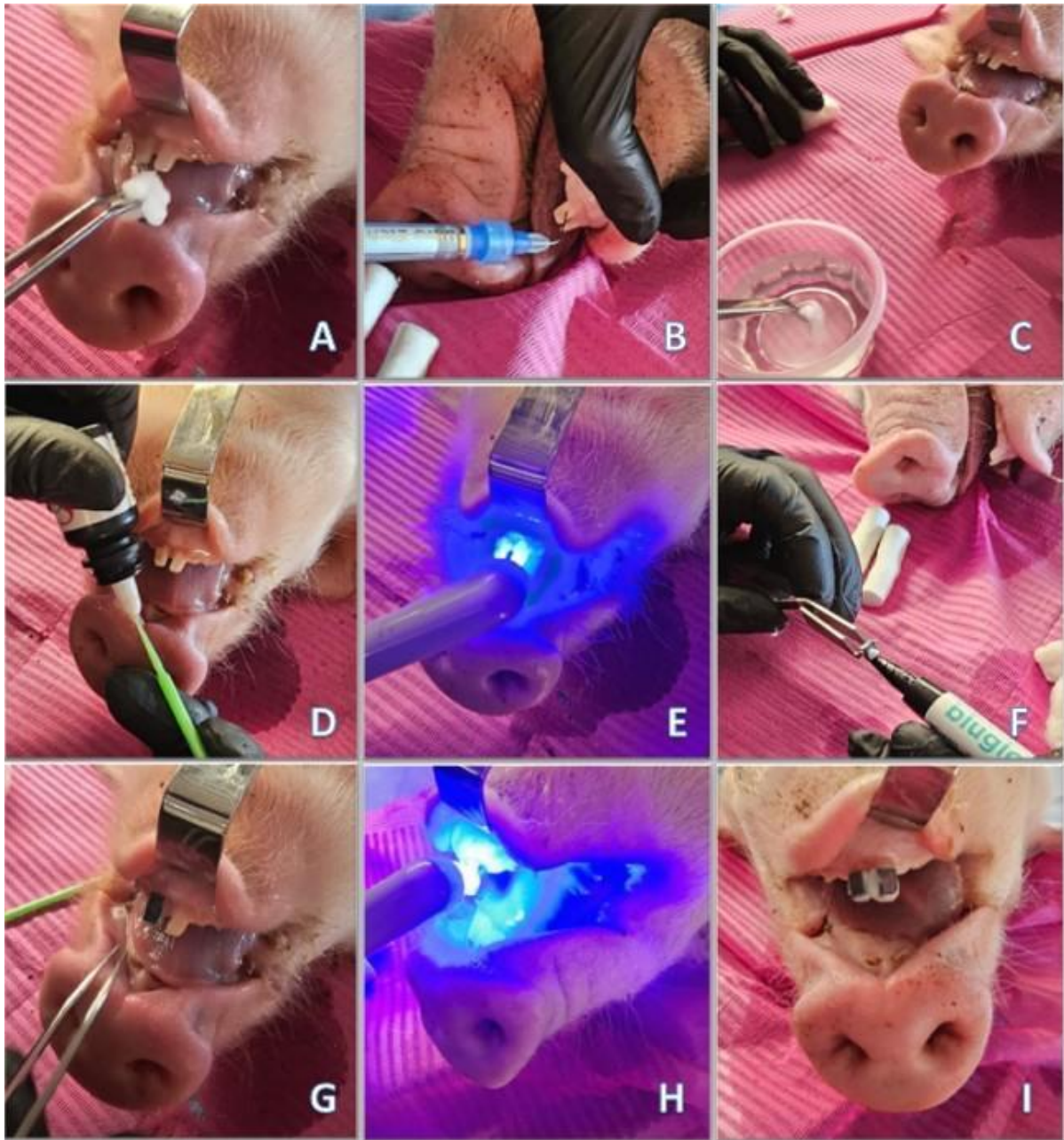


Figura 3. Descripción general de los pasos de la colocación de los fragmenos en los incisivos inferiores de cada cerdo. A) Preparacion de superficie. B) Grabado de superficie con acido fosforico. C) Retiro de ácido fosforico. D) Aplicación de adhesivo en superficie grabada. E) Fotopolimerización del adhesivo. F) Colocación de resina en una cara de fragmento. G) Colocación de fragmento en superficie tratada. H) Fotopolimerización de fragmento-resina. I) Terminado.

Una vez terminado el proceso de colocación de los fragmentos de la aleación y la toma de biopsia de mucosa bucal los animales fueron monitoreados dos veces al día para detectar signos de infección, dolor y estado general de salud. Se mantuvo la dieta utilizada en la fase de adaptación todo el periodo de evaluación, y el acceso al agua fue libre en todo momento.

8.3. Toma de muestras y análisis sanguíneo

A las 0 (inicio de la evaluación), 4, 8, 12, 24 (1 día), 72 (3 días) y 168 (7 días) horas posteriores a la colocación de los fragmentos de aleación, se recolectaron muestras sanguíneas de 2 mL por cerdo mediante punción de la vena yugular. Cada muestra fue dividida inmediatamente en dos tubos Vacutainer®: uno con EDTA (1 mL) y otro con heparina de litio (1 mL).

El tubo con EDTA fue enviado al laboratorio dentro de las primeras 6 horas posteriores a la toma, para la determinación de biomarcadores hematológicos incluyendo leucocitos, linfocitos, neutrófilos, monocitos, hemoglobina y hematocrito. Por su parte, el tubo con heparina fue almacenado a 4 °C hasta su procesamiento, el cual consistió en centrifugación a 1,000 × g durante 10 minutos para la obtención del plasma. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas a -20 °C hasta su análisis. En estas muestras se cuantificaron las citocinas proinflamatorias interleucina-6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), así como la proteína C reactiva (PCR).

La hematología incluyó la determinación de la concentración de hemoglobina (método de la cianometahemoglobina), hematocrito (método de microhematocrito). Además, se realizó el recuento de los leucocitos utilizando la cámara de Neubaüer y el recuento diferencial de linfocitos, neutrófilos y monocitos mediante frotis coloreado por tinción de Romanowsky (Prophet *et al.*, 1992). La concentración plasmática de IL-6, FNT- α y PCR se determinaron utilizando kits ELISA comerciales. Para la IL-6 se utilizó Porcine IL-6 ELISA Kit RAB0310 (SIGMA-ALDRICH, St. Luis, MO, USA). Las sensibilidades para IL-6, 45 pg/mL (coeficientes de variación intra e interensayo: <10 % y <12 %, rango de curva estándar: 40.96-10000 pg/mL). Para la

FNT- α se utilizó Porcine Tumor Necrosis Factor α ELISA Kit RAB0478 (SIGMA-ALDRICH, St. Luis, MO, USA). Las sensibilidades para FNT- α , 20 pg/mL (coeficientes de variación intra e interensayo: <10 % y <12 %, rango de curva estándar: 0.014-10 ng/mL). Para la PCR se utilizó Pig CRP ELISA Kit E-5CRP (Immunology Consultants Laboratory, Inc., Newberg, OR, USA). Las sensibilidades para PCR, 2.150 ng/mL (rango de curva estándar: 6.25 ng/ml - 200 ng/mL).

8.4. Toma de muestras y análisis histopatológico

Al inicio (día 0) y termino de la fase de evaluación (día 7) se tomaron biopsias de mucosa bucal de los cerdos (GCP-1, GCP-2 y GE) con el objetivo de evaluar la respuesta histopatológica asociada al contacto directo con las aleaciones metálicas. La obtención de las biopsias se realizó en condiciones asépticas, bajo anestesia general inducida de acuerdo con el protocolo previamente descrito. Las biopsias se obtuvieron de la mucosa oral (región vestibular), mediante incisión quirúrgica con bisturí estéril, procurando incluir epitelio escamoso estratificado y lámina propia subyacente. El tamaño promedio de las muestras fue de $0.5 \times 0.5 \times 0.3$ cm.

Con el fin de minimizar el trauma repetido sobre un mismo sitio anatómico y permitir la comparación histológica entre el tejido antes y después del contacto con la aleación, se estableció un protocolo bilateral: la primera biopsia (tiempo 0 h) se obtuvo del lado izquierdo, correspondiente a la mucosa oral en contacto con el incisivo inferior antes de la colocación del fragmento; mientras que la segunda biopsia (día 7 post colocación de la aleación) se obtuvo del lado derecho, en la región en contacto directo con los fragmentos de aleación durante el periodo experimental. Inmediatamente después de su obtención, las muestras fueron lavadas con solución salina estéril para eliminar restos de sangre o saliva, y se colocaron en frascos individuales conteniendo solución de formol tamponado al 10% (pH 7.0), en una proporción mínima de 1:10 (tejido:fijador). El tiempo de fijación fue de 24 a 48 horas a temperatura ambiente.

Una vez finalizado el periodo de fijación, las biopsias de tejido fueron procesados para análisis histológico mediante la técnica de inclusión en parafina.

El procesamiento se llevó a cabo utilizando un sistema automatizado Histokinette Microm® ST 120, el cual incluyó las etapas de deshidratación progresiva en soluciones de alcohol (70%, 80%, 95% y 100%), aclaramiento en xilol e inclusión en parafina fundida a 58 °C. Los bloques obtenidos fueron seccionados con un micrótopo rotatorio Microm® HM 325, obteniéndose cortes seriados de 7 µm de espesor. Los cortes fueron montados en portaobjetos tratados para adhesión, secados en estufa a 37 °C y posteriormente teñidos con hematoxilina y eosina (H&E) para su evaluación. El análisis se llevó a cabo utilizando un sistema de análisis digital de imágenes Leica® LAS V3.5 (Leica Microsystems, Alemania), empleando un objetivo con aumento de 40×.

8.5. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron con SAS versión 9.4 (SAS Institute Inc, Cary, Carolina del Norte, EE. UU.). Previo al análisis de datos se determinó la normalidad de la distribución y la homogeneidad de la varianza para los residuales, para ello se utilizó PROC UNIVARIATE. La prueba utilizada para determinar la normalidad fue la de Shapiro-Wilks, mientras que la prueba de Bartlett se utilizó para determinar la homogeneidad. Los datos de los indicadores hematológicos, citocinas y PCR fueron analizados mediante un diseño completamente al azar utilizando ANOVA a través de mediciones repetidas (PROC MIXED). El cerdo representó la unidad experimental en el modelo y fue el objeto del efecto aleatorio de tiempo (hora) y, como efectos fijos: grupo, tiempo y la anidación grupo(tiempo), bajo el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + C(G)_{j(i)} + H_k + G(H)_{ik} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = Variable respuesta: indicadores hematológicos, citocinas y PCR; μ = Promedio general; G_i = Efecto fijo del i -ésimo grupo con i = GCN, GCP-1 y 2, y GE; $C(G)_{j(i)}$ = Efecto aleatorio de la j -ésimo cerdo, anidada con el i -ésimo grupo; H_k = Efecto fijo de la k -ésima hora de evaluación con k = 0, 4, 8, 12, 24, 72 y 168; $G(H)_{ik}$ = Efecto fijo de la anidación del i -ésimo grupo con la k -ésima hora de evaluación; ε_{ijkl} = Error aleatorio asociado a cada observación ($\sim NID=0, \sigma^2_e$).

Las diferencias entre las medias se determinaron mediante el método de medias de mínimos cuadrados (LsMeans), con $\alpha \leq 0.05$. Los valores se representan como media de mínimos cuadrados $\pm$ DE.

9. RESULTADOS

9.1. Indicadores hematológicos

En la Tabla 2 se presentan los resultados de los indicadores hematológicos evaluados en los distintos grupos. Se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el conteo total de leucocitos, así como en los porcentajes relativos de neutrófilos, linfocitos y monocitos entre grupos.

Tabla 2. Indicadores hematológicos y fórmula leucocitaria diferencial en cerdos expuestos a fragmentos metálicos bucales

Indicador	GCN	GCP-1	GCP-2	GE	P-valor
Leucocitos, $10^3/\mu\text{L}$	$12.13^a \pm 0.85$	$14.61^b \pm 1.95$	$15.32^b \pm 2.19$	$14.52^b \pm 1.56$	0.0073
Diferencia, %					
Neutrófilos	$26.41^a \pm 4.60$	$35.11^a \pm 10.60$	$41.31^b \pm 12.86$	$38.09^{ab} \pm 11.44$	0.0103
Linfocitos	$60.30^a \pm 3.43$	$49.30^b \pm 8.24$	$47.01^b \pm 10.66$	$50.18^b \pm 9.34$	0.0095
Monocitos	$7.30^a \pm 0.71$	$10.28^b \pm 1.71$	$8.90^{ab} \pm 0.84$	$8.61^{ab} \pm 0.61$	0.0014
Hematocrito, %	36.41 ± 1.37	34.21 ± 1.37	35.33 ± 1.60	36.62 ± 1.07	0.1094
Hemoglobina, g/dL	11.72 ± 0.47	12.01 ± 0.87	12.23 ± 0.52	11.58 ± 0.55	0.2095

GCN: grupo control negativo cerdos sin fragmento ni biopsia; GCP-1: grupo control positivo-1 cerdos con biopsia sin fragmento; GCP-2: grupo control positivo-2 cerdos con fragmento de acero inoxidable y biopsia; GE: grupo experimental cerdos con fragmento de aleación Ti-6Al-4V y biopsia.

^{a, b} Literales diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$) dentro de fila.

El conteo total de leucocitos fue significativamente menor en el GCN ($12.13 \times 10^3/\mu\text{L}$) en comparación con los demás grupos, particularmente con los grupos en que fueron sometidos a procedimiento quirúrgico (GCP-1, GCP-2 y GE), en los cuales se registraron valores entre 14.52 y $15.32 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($p = 0.0073$). En cuanto a la fórmula leucocitaria, el porcentaje de neutrófilos fue mayor ($p < 0.05$), los GCP-2 y GE en comparación con GCN (Tabla 2). Así mismo, los linfocitos disminuyeron en los grupos sometidos a manipulación quirúrgica (GCP-1, GCP-2 y GE) respecto al GCN ($p = 0.0095$; Tabla 2), con un valor mínimo de 47.01% en GCP-2.

El porcentaje de monocitos también mostró diferencias entre grupos ($p = 0.0014$), siendo mayor en GCP-1 (10.28%) respecto a GCN (7.30%). Los grupos GCP-2 y GE presentaron valores intermedios, sin diferencias estadísticamente claras respecto a todos los grupos (Tabla 2). No se encontraron diferencias ($p > 0.05$) en los niveles de hematocrito ni en hemoglobina (Tabla 2).

Respecto a los efectos de la interacción grupo por tiempo (hora), la Figura 4 muestra el comportamiento del conteo total de leucocitos y la distribución porcentual de neutrófilos, linfocitos y monocitos en cerdos pertenecientes a los distintos grupos, a 0, 12, 24 y 168 horas (7 días) posteriores al procedimiento.

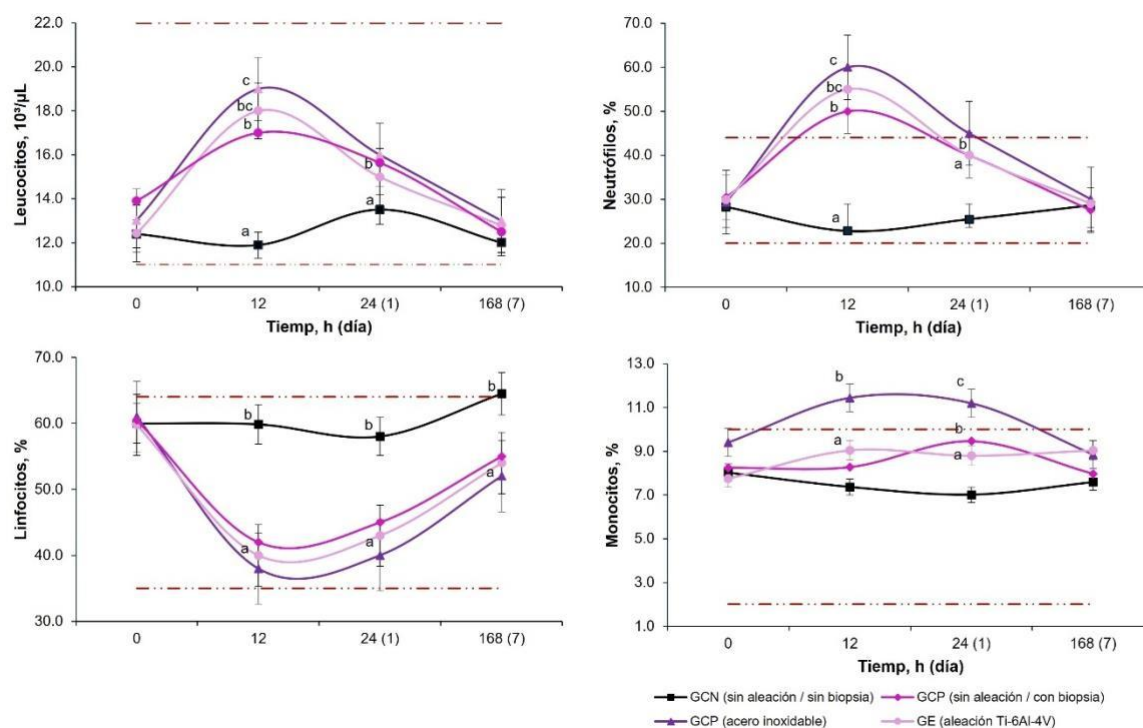


Figura 4. Dinámica temporal de leucocitos totales y fórmula leucocitaria en cerdos expuestos a fragmentos metálicos bucales.

Se observa que el número total de leucocitos se mantuvo estable en el GCN, mientras que en los grupos sometidos a intervención quirúrgica (GCP-1, GCP-2 y GE) se registró un aumento a las 12 h, con un pico máximo en GCP-2 ($15.32 \times 10^3/\mu\text{L}$), seguido por una disminución progresiva hasta valores cercanos a los basales al día 7 (Figura 4). El porcentaje de neutrófilos siguió una tendencia

similar, con un incremento significativo en los grupos con biopsia y/o fragmento a las 12 h, alcanzando su valor más alto en GCP-2 (41.31%). En contraste, el grupo GCN mantuvo niveles constantes (~26%).

Respecto al comportamiento de los linfocitos, se observa una linfopenia aguda en los grupos manipulados quirúrgicamente, especialmente a las 12 y 24 horas, con una recuperación gradual hacia el día 7 (Figura 4). El grupo GCN se mantuvo estable en torno al 60%, mientras que los grupos GCP-1, GCP-2 y GE descendieron hasta ~40% a las 12 h. El porcentaje de monocitos mostró una elevación en los grupos GCP-1 y GCP-2, con un pico máximo en GCP-2 a las 24 h (10.28%). El GE mostró un comportamiento intermedio, mientras que el grupo GCN no presentó cambios relevantes (Figura 4).

Con respecto a los valores del hematocrito, no se observaron diferencias entre grupos ni a lo largo del tiempo ($p > 0.05$; Figura 5). Todos los grupos se mantuvieron dentro de rangos fisiológicos (~32–38%). Aunque se observan ligeras fluctuaciones en los grupos manipulados quirúrgicamente (Figura 5).

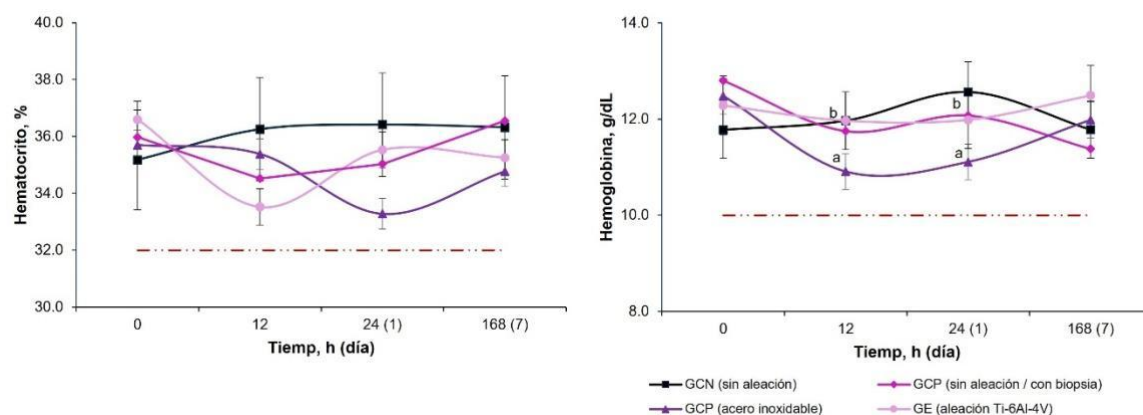


Figura 5. Evolución temporal del hematocrito y la hemoglobina en cerdos expuestos a fragmentos metálicos bucales.

La concentración de hemoglobina, sí se observaron diferencias puntuales. A las 12 horas postintervención, el GCP-2 (con fragmento de acero inoxidable) presentó un valor menor ($p < 0.05$) en comparación con GCN, lo cual sugiere una leve caída transitoria en la capacidad de transporte de oxígeno. Sin embargo, estos valores se recuperaron progresivamente hacia el día 7 (Figura 5). Los grupos GCP

(biopsia sin fragmento) y GE (fragmento Ti-6Al-4V) mostraron también una ligera reducción, aunque dentro de márgenes considerados fisiológicamente aceptables (Figura 5).

9.2. Citocinas proinflamatorias y proteína C reactiva

En la Tabla 3 se muestran los niveles séricos de IL-6, FNT- α y PCR determinados al día 7 postintervención en los distintos grupos. En todos los casos, se observaron diferencias entre grupos ($p < 0.001$), lo que evidencia una respuesta inflamatoria modulada por el procedimiento quirúrgico y el tipo de material colocado.

Tabla 3. Niveles séricos de citocinas proinflamatorias (IL-6, FNT- α) y proteína C reactiva en cerdos expuestos a fragmentos metálicos bucales

Indicador	GCN	GCP-1	GCP-2	GE	P-valor
IL-6, pg/mL	11.03 ^a $\pm$ 2.81	41.83 ^b $\pm$ 4.38	57.39 ^c $\pm$ 4.05	48.90 ^b $\pm$ 3.77	0.0006
FNT- α , pg/mL	20.18 ^a $\pm$ 3.65	28.09 ^b $\pm$ 4.51	49.12 ^c $\pm$ 5.50	40.03 ^d $\pm$ 5.04	0.0003
PCR, μ g/mL	2.52 ^a $\pm$ 1.02	8.54 ^b $\pm$ 4.29	15.01 ^c $\pm$ 5.70	10.17 ^b $\pm$ 5.62	0.0002

IL-6: interleucina-6, FNT- α factor de necrosis tumoral alfa, PCR: proteína C reactiva, GCN: grupo control negativo cerdos sin fragmento ni biopsia; GCP-1: grupo control positivo-1 cerdos con biopsia sin ifragmento; GCP-2: grupo control positivo-2 cerdos con fragmento de acero inoxidable y biopsia; GE: grupo experimental cerdos con ifragmento de aleación Ti-6Al-4V y biopsia.

a, b, c, d Literales diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$) dentro de fila.

Los niveles de IL-6 fueron más bajos en el GCN (11.03 pg/mL) en comparación con los demás grupos (Tabla 3). El GCP-2 (fragmento de acero inoxidable) presentó los niveles más altos (57.39 pg/mL), seguido del GE (fragmento Ti-6Al-4V) con 48.90 pg/mL, lo que sugiere una respuesta proinflamatoria más marcada en presencia del acero inoxidable. Respecto al FNT- α , se observó un patrón similar. El GCN mostró el valor más bajo (20.18 pg/mL), mientras que el GCP-2 alcanzó el nivel más elevado (49.12 pg/mL). El GE presentó valores intermedios (40.03 pg/mL), inferiores al GCP-2 pero superiores al GCN y GCP-1 (Tabla 3). En cuanto a la PCR, los valores más altos también se registraron en el grupo con fragmento de acero inoxidable (15.01 μ g/mL), seguido del GE (10.17 μ g/mL). Ambos fueron superiores al GCN y al GCP-1 (Tabla 3).

Para el caso de la interacción grupo por tiempo (hora), la Figura 6 muestra el comportamiento de los niveles séricos de IL-6. En el GCN, que no fue sometido ni a colocación de fragmento metálico ni a biopsia, los niveles de IL-6 se mantuvieron estables y bajos a lo largo de todo el periodo ($\approx 10\text{--}15\text{ pg/mL}$), sin diferencias a través del tiempo, lo cual representa el valor basal esperado en ausencia de estímulos inflamatorios.

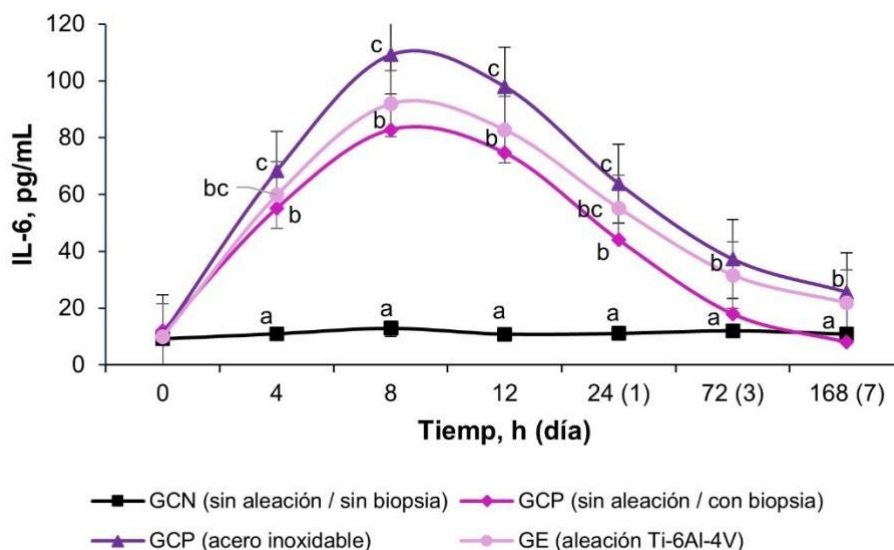


Figura 6. Evolución temporal de los niveles séricos de interleucina-6 (IL-6) en cerdos expuestos a fragmentos metálicos orales y sometidos a procedimientos quirúrgicos bucales.

Los grupos que fueron sometidos a procedimientos quirúrgicos (GCP, GCP-2 y GE) mostraron un ascenso significativo y sostenido de IL-6 en las primeras horas postintervención (Figura 6). El pico máximo de concentración se alcanzó a las 12 horas, siendo más alto en el grupo con fragmento de acero inoxidable (GCP-2) ($\approx 110\text{ pg/mL}$), seguido del grupo con aleación Ti-6Al-4V (GE; $\approx 95\text{ pg/mL}$), y luego del grupo con solo biopsia (GCP; $\approx 85\text{ pg/mL}$). A partir de las 24 h, los niveles comenzaron a descender progresivamente, aunque en los grupos con fragmentos aún se mantuvieron elevados hasta las 72 h (Figura 6). Al final del seguimiento (7 días), todos los grupos regresaron a valores cercanos a sus respectivos niveles basales (Figura 6).

Para el FNT- α de acuerdo con la interacción grupo por tiempo (hora) se encontró que el GCN, los niveles de FNT- α se mantuvieron estables y bajos (~ 20 – 30 pg/mL) durante todo el periodo, sin diferencias significativas entre tiempos ni en comparación con el valor basal (Figura 7).

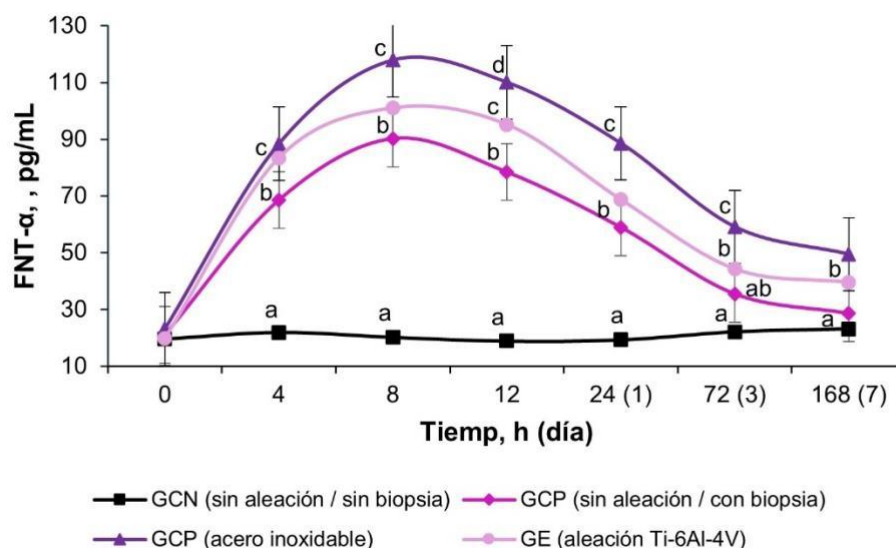


Figura 7. Evolución temporal de los niveles séricos de FNT- α en cerdos expuestos a fragmentos metálicos orales y sometidos a procedimientos quirúrgicos bucales.

En contraste al GCN, todos los grupos expuestos a procedimientos quirúrgicos (GCP-1, GCP-2 y GE) mostraron un incremento de FNT- α a partir de las 4 h, alcanzando un pico máximo a las 12 h, con valores que superaron los 100 pg/mL en el grupo con fragmento de acero inoxidable (GCP-2). El GE (aleación Ti-6Al-4V) presentó niveles intermedios (~ 95 pg/mL), mientras que el GCP (solo biopsia) mostró el incremento más moderado (~ 85 pg/mL). A partir de las 24 h, los niveles comenzaron a descender gradualmente, aunque se mantuvieron elevados en los grupos con fragmentos hasta las 72 h. Para el día 7 (168 h), los valores se acercaron a los niveles basales, aunque en el grupo GCP-2 continuaban significativamente más altos que en GCN (Figura 7).

Para el caso de la PCR la interacción grupo por tiempo (hora) mostro que el GCN, presento los valores más bajos y estables de PCR en todo el periodo (≈ 2 – 3 μ g/mL), sin diferencias ($p > 0.05$) entre tiempos (Figura 8). En contraste, los grupos sometidos a procedimientos quirúrgicos (GCP, GCP-2 y GE) presentaron un

aumento progresivo de la PCR a partir de las 4 h, alcanzando su punto máximo a las 12 h postcirugía (Figura 8). El grupo con fragmento de acero inoxidable (GCP-2) registró los niveles más elevados ($p < 0.05$; $\sim 22 \mu\text{g/mL}$), seguido por el grupo con aleación Ti-6Al-4V (GE; $\sim 18 \mu\text{g/mL}$) y el grupo con solo biopsia (GCP; $\sim 16 \mu\text{g/mL}$). Posteriormente, se observó un descenso gradual, pero los valores en los grupos que tenían las aleaciones se mantuvieron elevados respecto a los controles hasta las 168 h, especialmente (Figura 8).

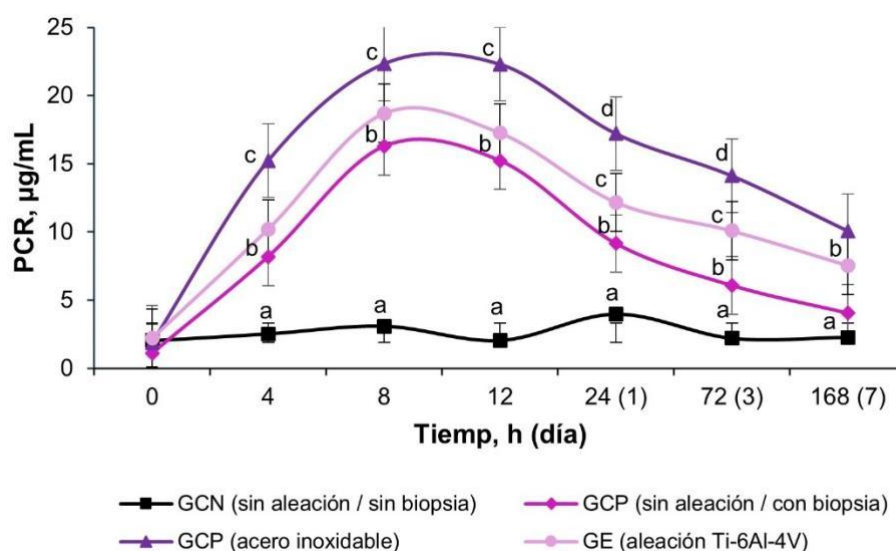


Figura 8. Evolución temporal de los niveles séricos de proteína C reactiva (PCR) en cerdos expuestos a fragmentos metálicos bucales y sometidos a procedimientos quirúrgicos bucales.

9.3. Histopatología

De acuerdo con el análisis histopatológico, la Figura 9 presenta microfotografías representativas de cortes histológicos de mucosa oral teñidos con hematoxilina y eosina (H&E), correspondientes a los tres grupos en los cuales se tomó biopsia (GCP-1, GCP-2 y GE), evaluados al día 0 (antes del procedimiento) y al día 7 (tras la exposición al fragmento o intervención quirúrgica).

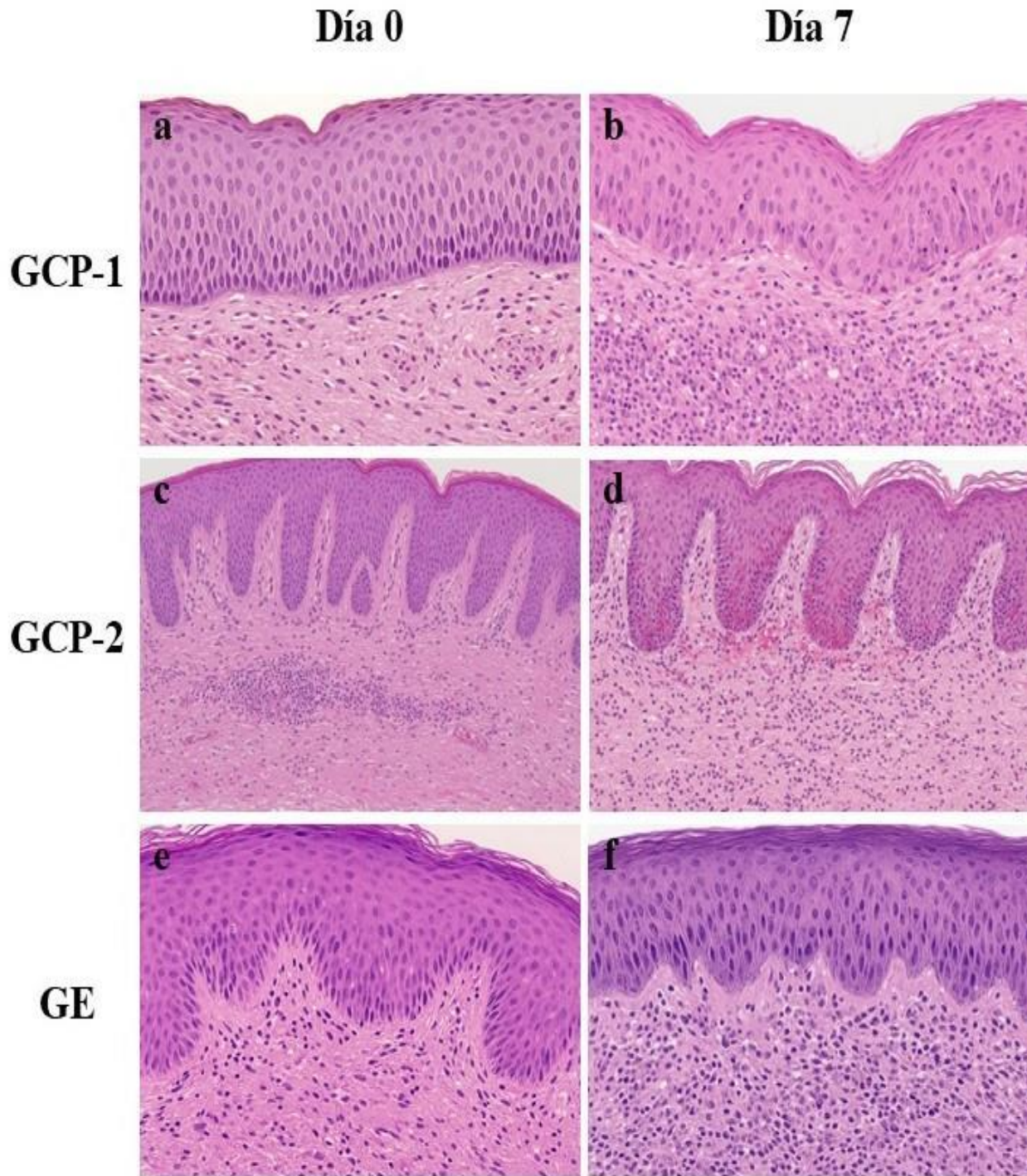


Figura 9. Cortes histológicos (tinción con hematoxilina y eosina, H&E) de mucosa bucal de cerdos a los días 0 y 7; a-b: grupo control positivo-1 (GCP-1, biopsia sin fragmento), c-d: grupo control positivo-2 (GCP-2, biopsia e fragmento de acero inoxidable), e-f: grupo experimental (GE, biopsia e fragmento de aleación Ti-6Al-4V).

En el GCP-1, el día 0 (Figura 9a), se observó un epitelio escamoso estratificado bien organizado, con lámina propia sin alteraciones morfológicas ni infiltrado inflamatorio aparente, lo que confirma la integridad de la mucosa en ausencia de manipulación. Para el día 7 (Figura 9b) se evidenció una ligera irregularidad en el epitelio y presencia de infiltrado inflamatorio mononuclear leve en la lámina propia, lo cual es compatible con una respuesta tisular moderada a la lesión quirúrgica.

Para el caso del GCP-2 (acero inoxidable), al día 0 (Figura 9c) se observó un epitelio íntegro y sin signos de inflamación. Sin embargo, al día 7 (Figura 9d) se identificaron alteraciones en la arquitectura epitelial, con elongación de las papilas, incremento del grosor epitelial, e infiltración inflamatoria subepitelial, lo que indica una respuesta inflamatoria moderada al contacto con el fragmento de acero inoxidable. Mientras que en el GE (aleación Ti-6Al-4V), el epitelio del día 0 (Figura 9e) conservó su estructura normal, mientras que al día 7 (Figura 9f) se observaron cambios leves en la lámina propia, con infiltrado inflamatorio mononuclear moderado y sin alteraciones marcadas en el epitelio.

10. DISCUSIÓN

La evaluación integral de la biocompatibilidad e histocompatibilidad de materiales metálicos representa un aspecto fundamental en el desarrollo de dispositivos médicos con aplicación ortodóntica. En el presente estudio se analizó el comportamiento fisiológico, inmunológico e histopatológico de la mucosa oral porcina en respuesta a la colocación de fragmentos de aleación Ti-6Al-4V, en comparación con acero inoxidable, así como con grupos control con o sin procedimiento quirúrgico. Los hallazgos obtenidos permiten establecer una discusión en torno a la respuesta biológica generada por los materiales evaluados, aportando evidencia para el uso clínico de estas aleaciones en condiciones semejantes a la cavidad oral humana.

Desde una perspectiva hematológica, se observaron incrementos transitorios en leucocitos totales, neutrófilos y monocitos en todos los grupos sometidos a intervención quirúrgica, incluyendo GCP-1 (biopsia sin fragmento), lo cual confirma la activación del sistema inmune innato como consecuencia del trauma quirúrgico. Sin embargo, la magnitud y duración de estos cambios fueron menores en el grupo Ti-6Al-4V, lo que podría interpretarse como un reflejo de menor carga antigénica o menor activación tisular secundaria al fragmento (Okazaki and Gotoh, 2013; Wataha, 2001). Se ha reportado (Marin and Lanzutti, 2024) que aleaciones de titanio inducen una menor respuesta leucocitaria en comparación con aleaciones ferromagnéticas o con mayor contenido de cromo y níquel. Además, estudios realizados por Hallab et al. (2001) y Liu et al. (2019) refieren que la reducción en la respuesta inflamatoria sistémica se correlaciona con menores tasas de liberación de iones metálicos en el entorno tisular. El comportamiento de los linfocitos mostró una tendencia al descenso en las primeras 12–24 horas en todos los grupos con manipulación quirúrgica, fenómeno asociado con redistribución tisular y activación del sistema inmune adaptativo (Chaturvedi, 2013). Sin embargo, este descenso fue menos acentuado y con una recuperación más rápida en el GE, lo cual indica un menor grado de disrupción inmunológica sostenida. Así mismo, la proporción relativa de monocitos y neutrófilos al inicio del proceso inflamatorio fue mayor en los

grupos GCP-2 y GCP-1, en comparación con GE, donde la respuesta monocítica mostró una resolución más temprana.

Respecto al hematocrito y hemoglobina, no se observaron cambios clínicamente significativos entre los grupos, aunque se observó una leve disminución a las 12–24 h post procedimiento en los grupos manipulados quirúrgicamente, atribuible a hemodilución y respuesta inflamatoria sistémica inicial (Ryan et al., 2012). Estos valores retornaron a niveles basales en el grupo Ti-6Al-4V al día 7, mientras que en el grupo GCP-2 la recuperación fue más lenta, lo cual indica una mayor alteración hemodinámica. Esta estabilidad relativa de los parámetros hematológicos en el grupo GE puede interpretarse como indicativa de una mejor tolerancia sistémica al biomaterial cementado.

La evolución de la proteína C reactiva (PCR) a lo largo del tiempo mostró un patrón diferencial entre los grupos experimentales. En los animales expuestos a la aleación Ti-6Al-4V, se observó un aumento moderado de PCR en las primeras 24 horas, seguido por una disminución progresiva, lo cual indica un proceso inflamatorio agudo autolimitado. En contraste, el grupo expuesto al acero inoxidable presentó un incremento más sostenido y de mayor magnitud en los niveles de PCR, lo cual indica una respuesta inflamatoria más prolongada. La PCR es un biomarcador de fase aguda que responde a la estimulación por citocinas proinflamatorias como IL-6 y TNF- α , y ha sido utilizada ampliamente para evaluar la biocompatibilidad de biomateriales (Schmalz and Galler, 2017). Resultados similares fueron reportados por Gritsch et al. (2013) y Salahshoor et al. (2022), quienes evidenciaron una menor respuesta sistémica a la colocación de Ti-6Al-4V en comparación con aceros quirúrgicos en modelos maxilofaciales, lo cual se atribuye a la estabilidad química y la pasivación superficial del titanio, que limita la liberación iónica y la activación inmune (Geetha et al., 2009; Hanawa, 2002; Moon et al., 2012)

El comportamiento de las citocinas proinflamatorias IL-6 y TNF- α reforzó esta tendencia. En el grupo Ti-6Al-4V, se identificó una elevación temprana de estas moléculas con un retorno paulatino a los niveles basales en un plazo de 72 a 168

horas. Por el contrario, los cerdos del grupo con fragmento de acero inoxidable mantuvieron concentraciones elevadas durante todo el periodo de evaluación, lo que evidencia una mayor activación inmune y posiblemente una señalización continua derivada del contacto con el material. Se ha reportado que la persistencia de citocinas inflamatorias en el sitio de contacto puede estar asociada con la generación de especies reactivas de oxígeno y procesos de estrés oxidativo, particularmente cuando el material induce microabrasión o corrosión localizada (Hernández-Ríos et al., 2017; Liu et al., 2023; Yang et al., 2007).

El análisis histopatológico proporciono información clave para validar los resultados anteriores. En el GCN, la mucosa bucal mostró arquitectura epitelial íntegra, sin infiltrado inflamatorio ni edema. En el GCP-1, se observó un epitelio en proceso de regeneración y un infiltrado mononuclear leve, correspondiente a la fase de reparación postquirúrgica. En contraste, el GCP-2 presentó signos evidentes de inflamación crónica, incluyendo hiperplasia epitelial, infiltrado inflamatorio intenso con predominio de linfocitos y macrófagos, y áreas con edema y congestión vascular. Dichos hallazgos indican una interacción tisular no completamente tolerada, posiblemente mediada por la liberación de iones metálicos como Ni^{2+} , Cr^{3+} y Fe^{2+} , los cuales se han asociado a citotoxicidad y disrupción epitelial en diversos modelos animales (Hanawa, 2002; Saini, 2015; Shahi et al., 2019; Thirvikraman et al., 2014)

Respecto al grupo expuesto a la aleación Ti-6Al-4V (GE) mostró una respuesta inflamatoria leve a moderada, con una arquitectura epitelial mayormente conservada, infiltrado inflamatorio discreto y escasos signos de daño tisular. No se observaron signos de necrosis ni fibrosis marcada. Este resultado es consistente con múltiples estudios en humanos y animales que reconocen al titanio y sus aleaciones como materiales con alta inercia biológica, baja citotoxicidad y mínima reactividad inmunológica, características esenciales para aplicaciones ortodónticas en contacto con tejidos blandos (Cordeiro et al., 2017; Delgado-Ruiz and Romanos, 2018; Dias et al., 2021; Elias et al., 2008; Kayser et al., 2002; Liu et al., 2019; Marin and Lanzutti, 2024).

11. CONCLUSIÓN

Los resultados del presente estudio demuestran que la aleación Ti-6Al-4V presenta una alta biocompatibilidad e histocompatibilidad cuando se implanta en la mucosa bucal de un modelo porcino. Esta aleación generó una respuesta inflamatoria sistémica y local más moderada en comparación con el acero inoxidable, ello se vio reflejado en los niveles de biomarcadores inflamatorios (IL-6, TNF- α y PCR), parámetros hematológicos (leucocitos, neutrófilos, monocitos, linfocitos, hematocrito y hemoglobina), así como por los hallazgos histopatológicos.

La integridad del epitelio, la escasa infiltración inflamatoria y la ausencia de necrosis o fibrosis significativa en los tejidos en contacto con Ti-6Al-4V es indicativo de tolerancia tisular adecuada, lo cual es esencial para su uso en dispositivos ortodónticos temporales o de mediano plazo en contacto con tejidos blandos. Asimismo, el modelo porcino utilizado demostró ser adecuado para estudios preclínicos debido a su similitud con la anatomía y fisiología humana.

11.1. CONSIDERACIONES GENERALES DEL ESTUDIO Y RECOMENDACIONES PARA FUTUROS TRABAJOS

El presente estudio representa una contribución relevante a la evaluación preclínica de materiales biomédicos con potencial uso ortodóntico, al combinar un enfoque integral que incluye parámetros hematológicos, inmunológicos e histopatológicos, en un modelo animal con alta similitud a la cavidad bucal humana. La elección del cerdo como especie experimental permitió reproducir condiciones clínicas realistas y evaluar la respuesta tisular de forma controlada, bajo protocolos estandarizados y con tiempos de seguimiento adecuados para detectar respuestas agudas.

Entre las principales fortalezas del estudio se destacan:

- La inclusión de múltiples biomarcadores para evaluar la inflamación sistémica (IL-6, TNF- α , PCR).
- El análisis histológico de los tejidos en contacto directo con la aleación.
- El diseño experimental que contempló grupos control negativos y positivos, permitiendo discriminar los efectos propios del material frente a los efectos del procedimiento quirúrgico.

No obstante, también se identifican algunas limitaciones que deben ser consideradas para futuros trabajos. En primer lugar, la evaluación se centró en la fase aguda de la respuesta biológica (hasta 7 días postcolocación), por lo que sería recomendable extender el seguimiento a periodos más largos para valorar posibles reacciones crónicas, formación de cápsulas fibrosas, o fenómenos de biodegradación. Asimismo, el uso de un solo tipo de aleación Ti-6Al-4V limita la extrapolación a otras formulaciones o tratamientos superficiales que podrían modular la respuesta tisular.

Finalmente, sería pertinente incorporar en estudios posteriores técnicas complementarias como inmunohistoquímica, análisis transcriptómico local, y evaluación de liberación iónica en saliva o plasma, lo cual permitiría un entendimiento más profundo de los mecanismos moleculares asociados a la interacción entre el biomaterial y los tejidos orales.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alipour, S., Nour, S., Attari, S.M., Mohajeri, M., Kianersi, S., Taronian, F., Khalkhali, M., Aninwene, G.E., Tayebi, L., 2022. A review on in vitro/in vivo response of additively manufactured Ti-6Al-4V alloy. *J Mater Chem B* 11. <https://doi.org/10.1039/d2tb01616h>
- Alizadeh, S., Shahbaz, M., Kavanlouei, M., Rahimi, S.S., Kim, S.S., 2024. Advancing dental implant design: A comprehensive study of machining parameters, corrosion behavior, and microstructural evaluation. *ACS Biomater Sci Eng* 10, 5381–5389. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.4c00696>
- Arafa, K.A.O., 2016. Comparing the effects of titanium alloy and chrome cobalt in removable partial denture connectors on tooth mobility, bone loss and tissue reaction. *Saudi Journal for Dental Research* 7, 112–117. <https://doi.org/10.1016/j.sjdr.2016.01.001>
- Bandyopadhyay, A., Mitra, I., Goodman, S.B., Kumar, M., Bose, S., 2023. Improving biocompatibility for next generation of metallic implants. *Prog Mater Sci* 133, 101053. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2022.101053>
- Brantley, W., Berzins, D., Iijima, M., Tufekçi, E., Cai, Z., 2016. Structure/property relationships in orthodontic alloys, in: *Orthodontic Applications of Biomaterials: A Clinical Guide*. Elsevier, pp. 3–38. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100383-1.00001-1>
- Buser, D., Nydegger, T., Oxland, T., Cochran, D.L., Schenk, R.K., Hirt, H.P., Snétivy, D., Nolte, L.-P., 1999. Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: A biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 45, 75–83. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199905\)45:2<75::AID-JBM1>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199905)45:2<75::AID-JBM1>3.0.CO;2-P)
- Byeon, S.M., Jeon, J., Jang, Y.S., Jeon, W.Y., Lee, M.H., Jeon, Y.M., Kim, J.G., Bae, T.S., 2023. Evaluation of osseointegration of Ti-6Al-4V alloy orthodontic mini-screws

with ibandronate-loaded TiO₂ nanotube layer. *Dent Mater J* 42, 610–616. <https://doi.org/10.4012/dmj.2023-021>

Challa, V.S.A., Mali, S., Misra, R.D.K., 2013. Reduced toxicity and superior cellular response of preosteoblasts to Ti-6Al-7Nb alloy and comparison with Ti-6Al-4V. *J Biomed Mater Res A* 101 A, 2083–2089. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34492>

Chandar, S., Kotian, R., Madhyastha, P., Kabekkodu, S., Rao, P., 2017. In vitro evaluation of cytotoxicity and corrosion behavior of commercially pure titanium and Ti-6Al-4V alloy for dental implants. *Journal of Indian Prosthodontist Society* 17, 35–40. <https://doi.org/10.4103/0972-4052.197936>

Chaturvedi, T.P., 2013. Allergy related to dental implant and its clinical significance. *Clin Cosmet Investig Dent* 5, 57–61. <https://doi.org/10.2147/CCIDE.S35170>

CIOMS, 2012. International guiding principles for biomedical research involving animals. Organization WH editor. International guiding principles for biomedical research involving animals. Council for International Organizations of Medical Sciences.

Claros, C.A.E., Oliveira, D.P., Campanelli, L.C., Pereira Da Silva, P.S.C., Bolfarini, C., 2016. Fatigue behavior of Ti-6Al-4V alloy in saline solution with the surface modified at a micro- and nanoscale by chemical treatment. *Materials Science and Engineering C* 67, 425–432. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.04.099>

CLP ATP14, 2020. REGULATION (EU) 2020/561 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 23 April 2020 amending Regulation (EU) 2017/745 on medical devices, as regards the dates of application of certain of its provisions (Text with EEA relevance).

Cordeiro, J.M., Beline, T., Ribeiro, A.L.R., Rangel, E.C., da Cruz, N.C., Landers, R., Faverani, L.P., Vaz, L.G., Fais, L.M.G., Vicente, F.B., Grandini, C.R., Mathew, M.T., Sukotjo, C., Barão, V.A.R., 2017. Development of binary and ternary titanium alloys for dental implants. *Dental Materials* 33, 1244–1257. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.07.013>

- Cvijović-Alagić, I., Cvijović, Z., Bajat, J., Rakin, M., 2014. Composition and processing effects on the electrochemical characteristics of biomedical titanium alloys. *Corros Sci* 83, 245–254. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2014.02.017>
- da Costa Valente, M.L., de Oliveira, T.T., Kreve, S., Batalha, R.L., de Oliveira, D.P., Pauly, S., Bolfarini, C., Bachmann, L., dos Reis, A.C., 2021. Analysis of the mechanical and physicochemical properties of Ti-6Al-4 V discs obtained by selective laser melting and subtractive manufacturing method. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 109, 420–427. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34710>
- De Souza Costa, C.A., Hebling, J., Scheffel, D.L.S., Soares, D.G.S., Basso, F.G., Ribeiro, A.P.D., 2014. Methods to evaluate and strategies to improve the biocompatibility of dental materials and operative techniques. *Dental Materials* 30, 769–784. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.04.010>
- Delgado-Ruiz, R., Romanos, G., 2018. Potential causes of titanium particle and ion release in implant dentistry: A systematic review. *Int J Mol Sci* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19113585>
- Deutsches Institut für Normung e. V., 2009. DIN EN ISO 10993- 5. Biologische Beurteilung von Medizinprodukten—Teil 5: Prüfungen auf In-vitro-Zytotoxizität. Beuth, Berlin.
- Dias Corpa Tardelli, J., Bolfarini, C., Cândido dos Reis, A., 2020. Comparative analysis of corrosion resistance between beta titanium and Ti-6Al-4V alloys: A systematic review. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 62, 126618. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126618>
- Dias, J., Tardelli, C., Lima Da Costa Valente, M., Theodoro De Oliveira, T., Cândido, A., Reis, D., 2021. Influence of chemical composition on cell viability on titanium surfaces: A systematic review. *Journal of Prosthetic Dentistry* 125, 421–425. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2020.02.001>

- Elias, C.N., Lima, J.H.C., Valiev, R., Meyers M.A., 2008. Table I. Selected Mechanical Requirements Properties of Titanium Bar for Implant* ASTM Grade. *Biological Materials Science* 3, 46–49.
- Emonson, N.S., Dharmasiri, B., Gordon, E.B., Borkar, A., Newman, B., Wickramasingha, Y.A., Coia, P., Harte, T., Newton, J., Allardyce, B.J., Stojcevski, F., Kaplan, D.L., Henderson, L.C., 2024. Biomedical applications of electro-initiated polymerisation on Ti6Al4 V titanium alloy using silk fibroin coatings for antibiotic delivery and improved cell metabolism. *Chempluschem* 89, 1–16. <https://doi.org/10.1002/cplu.202300555>
- Evans, E.J., 1994. Cell damage in vitro following direct contact with fine Darticles of titanium, titanium alloy and cobalt-chrome-molybdenum alloy. *Biomaterials* 713–717. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(94\)90170-8](https://doi.org/10.1016/0142-9612(94)90170-8)
- Finke, H., Koos, B., Fischer-Brandies, H., Es-Souni, M., 2018. In vitro biocompatibility of orthodontic miniscrews with human gingival fibroblast and SAOS-2 osteoblast cultures. *Journal of Orofacial Orthopedics* 79, 328–336. <https://doi.org/10.1007/s00056-018-0143-3>
- Geetha, M., Singh, A.K., Asokamani, R., Gogia, A.K., 2009. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review. *Prog Mater Sci* 54, 397–425. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2008.06.004>
- Gritsch, K., Laroche, N., Bonnet, J.M., Exbrayat, P., Morgon, L., Rabilloud, M., Grosogeat, B., 2013. In Vivo Evaluation of Immediately Loaded Stainless Steel and Titanium Orthodontic Screws in a Growing Bone. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076223>
- Hallab, N., Merritt, K., Jacobs, J.J., 2001. Metal sensitivity in patients with orthopaedic implants. *J Bone Joint Surg* 83, 428–436.
- Hanawa, T., 2002. Evaluation techniques of metallic biomaterials in vitro. *Sci Technol Adv Mater* 3, 289–295.

- Heins, J.I., Merema, B.B.J., Kraeima, J., Witjes, M.J.H., Krushynska, A.O., 2025. Mandibular implants: A metamaterial-based approach to reducing stress shielding. *Adv Healthc Mater* 14, 2500405. <https://doi.org/10.1002/adhm.202500405>
- Hernández-Ríos, P., Pussinen, P.J., Vernal, R., Hernández, M., 2017. Oxidative stress in the local and systemic events of apical periodontitis. *Front Physiol* 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00869>
- ISO, 2023. Use of International Standard ISO 10993-1, “Biological evaluation of medical devices-Part 1: Evaluation and testing within a risk management process” Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff Preface Public Comment.
- ISO, 2018. Dentistry - Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry.
- Jiang, X., Yao, Y., Tang, W., Han, D., Zhang, L., Zhao, K., Wang, S., Meng, Y., 2020. Design of dental implants at materials level: An overview. *J Biomed Mater Res A* 108, 1634–1661. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36931>
- Kassapidou, M., Hjalmarsson, L., Johansson, C.B., Hammarström Johansson, P., Morisbak, E., Wennerberg, A., Franke Stenport, V., 2020. Cobalt–chromium alloys fabricated with four different techniques: Ion release, toxicity of released elements and surface roughness. *Dental Materials* 36, e352–e363. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.08.012>
- Kayser, D., Bourauel, C., Braumann, B., Jäger Vergleich mechanischer Eigenschaften orthodontischer Nickel-Titan-Drähte, A., 2002. Comparison of the Mechanical Properties of Orthodontic Nickel-Titanium Wires. *Biomed Tech (Berl)* 47, 334–342. <https://doi.org/10.1515/bmte.2002.47.12.334>
- Kim, T.W., Kim, W. II, Mun, J.H., Song, M., Kim, H.S., Kim, B.S., Kim, M.B., Ko, H.C., 2015. Patch testing with dental screening series in oral disease. *Ann Dermatol* 27, 389–393. <https://doi.org/10.5021/ad.2015.27.4.389>

- Kunert, M., Rozpedek-Kaminska, W., Galita, G., Sauro, S., Bourgi, R., Hardan, L., Majsterek, I., Lukomska-Szymanska, M., 2022. The cytotoxicity and genotoxicity of bioactive dental materials. *Cells* 11. <https://doi.org/10.3390/cells11203238>
- Liang, H., Yang, Y., Xie, D., Li, L., Mao, N., Wang, C., Tian, Z., Jiang, Q., Shen, L., 2019. Trabecular-like Ti-6Al-4V scaffolds for orthopedic: fabrication by selective laser melting and in vitro biocompatibility. *J Mater Sci Technol* 35, 1284–1297. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2019.01.012>
- Liu, C.F., Li, S.J., Hou, W.T., Hao, Y.L., Huang, H.H., 2019. Enhancing corrosion resistance and biocompatibility of interconnected porous β -type Ti-24Nb-4Zr-8Sn alloy scaffold through alkaline treatment and type I collagen immobilization. *Appl Surf Sci* 476, 325–334. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.01.084>
- Liu, J., Han, X., Zhang, T., Tian, K., Li, Z., Luo, F., 2023. Reactive oxygen species (ROS) scavenging biomaterials for anti-inflammatory diseases: from mechanism to therapy. *J Hematol Oncol* 16. <https://doi.org/10.1186/s13045-023-01512-7>
- Mahlooji, E., Atapour, M., Labbaf, S., 2019. Electrophoretic deposition of Bioactive glass – Chitosan nanocomposite coatings on Ti-6Al-4V for orthopedic applications. *Carbohydr Polym* 226. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115299>
- Maldonado, R.M.A., Barrera, G.R.A., Guzmán, J.R.M., Pantoja, G.V., 2008. Eugenol: material of dental use with risk of local and systemic toxicity. *Oral* 9, 446–449.
- Marin, E., Lanzutti, A., 2024. Biomedical applications of titanium alloys: A comprehensive review. *Materials* 17. <https://doi.org/10.3390/ma17010114>
- Mirza, A., King, A., Troakes, C., Exley, C., 2017. Aluminium in brain tissue in familial Alzheimer's disease. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 40, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.12.001>
- Mitra, I., Bose, S., Dernel, W.S., Dasgupta, N., Eckstrand, C., Herrick, J., Yaszemski, M.J., Goodman, S.B., Bandyopadhyay, A., 2021. 3D Printing in alloy design to

- improve biocompatibility in metallic implants. *Materials Today* 45, 20–34. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2020.11.021>
- Mohammadi, Z., Soltani, M.K., Shalavi, S., Asgary, S., 2014. A review of the various surface treatments of NiTi instruments. *IEJ Iranian Endodontic Journal* 9, 235–240.
- Mohammed, M.T., Khan, Z.A., Geetha, M., Siddiquee, A.N., 2015. Microstructure, mechanical properties and electrochemical behavior of a novel biomedical titanium alloy subjected to thermo-mechanical processing including aging. *J Alloys Compd* 634, 272–280. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2015.02.095>
- Moharamzadeh, K., Brooki, I.M., Van Noort, R., 2009. Biocompatibility of resin-based dental materials. *Materials* 2, 514–548. <https://doi.org/10.3390/ma2020514>
- Moon, B.S., Kim, S., Kim, H.E., Jang, T.S., 2017. Hierarchical micro-nano structured Ti6Al4V surface topography via two-step etching process for enhanced hydrophilicity and osteoblastic responses. *Materials Science and Engineering C* 73, 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.12.064>
- Moon, S.H., Lee, S.J., Park, I.S., Lee, M.H., Soh, Y.J., Bae, T.S., Kim, H.S., 2012. Bioactivity of Ti-6Al-4V alloy implants treated with ibandronate after the formation of the nanotube TiO₂ layer. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 100, 2053–2059. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32769>
- Moretti, B., Pesce, V., MacCagnano, G., Vicenti, G., Lovreglio, P., Soleo, L., Apostoli, P., 2012. Peripheral neuropathy after hip replacement failure: Is vanadium the culprit? *The Lancet* 379, 1676. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60273-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60273-6)
- Murray, P.E., Godoy, C.G., Godoy, F.G., 2007. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 12, E258–E266.
- Nokhbatolfoghahaei, H., Paknejad, Z., Bohlouli, M., Rad, M.R., Khojasteh, A., 2019. Animal models in dental research, in: *Applications of Biomedical Engineering in Dentistry*. Springer International Publishing, pp. 377–442. https://doi.org/10.1007/978-3-030-21583-5_18

NOM-062-ZOO, 1999. NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Okazaki, Y., Gotoh, E., 2013. Metal ion effects on different types of cell line, metal ion incorporation into L929 and MC3T3-E1 cells, and activation of macrophage-like J774.1 cells. *Materials Science and Engineering C* 33, 1993–2001. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.015>

Okumu, M.O., Mbaria, J.M., Gikunju, J.K., Mbuthia, P.G., Madadi, V.O., Ochola, F.O., Jepkorir, M.S., 2021. *Artemia salina* as an animal model for the preliminary evaluation of snake venom-induced toxicity. *Toxicon* X 12. <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2021.100082>

Olms, C., Yahiaoui-Doktor, M., Remmerbach, T.W., 2019. Contact allergies to dental materials. *Swiss Dent J* 129, 571–579. <https://doi.org/10.61872/sdj-2019-07-08-555>

Paqué, P.N., Özcan, M., 2024. A review on biocompatibility of dental restorative and reconstruction materials. *Curr Oral Health Rep* 11, 68–77. <https://doi.org/10.1007/s40496-023-00358-9>

Paul, A.R., Singh, S., Hirwani, J., Yadav, S., Dekiwadia, C., Mukherjee, M., Kalyanasundaram, D., 2024. Effect of heat treatment on the material property and cell viability of wire arc additively manufactured Ti6Al4 V. *ACS Appl Bio Mater* 7, 3096–3109. <https://doi.org/10.1021/acsabm.4c00130>

Pelka, M., Danzl, C., Distler, W., Petschelt, A., 2000. A new screening test for toxicity testing of dental materials. *J Dent* 28, 341–345. [https://doi.org/10.1016/s0300-5712\(00\)00007-5](https://doi.org/10.1016/s0300-5712(00)00007-5)

Ramírez-Ledesma, A.L., Roncagliolo, P., Álvarez-Pérez, M.A., Lopez, H.F., Juárez-Islas, J.A., 2020. Corrosion assessment of an implantable dental Co-Cr alloy in artificial saliva and biocompatibility behavior. *J Mater Eng Perform* 29, 1657–1670. <https://doi.org/10.1007/s11665-020-04711-2>

- Ríos, V., Romero, N., Valencia, C., Balanta, J., 2014. Methods for determining the biocompatibility of dental materials. *Revista Estomatología* 22, 7–12. <https://doi.org/10.25100/re.v22i2.5776>
- Ryan, M.L., Thorson, C.M., Otero, C.A., Vu, T., Schulman, C.I., Livingstone, A.S., Proctor, K.G., 2012. Initial hematocrit in trauma: A paradigm shift? *Journal of Trauma and Acute Care Surgery* 72, 54–60. <https://doi.org/10.1097/TA.0b013e31823d0f35>
- Saini, M., 2015. Implant biomaterials: A comprehensive review. *World J Clin Cases* 3, 52. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v3.i1.52>
- Sarmiento, P. de A., Ataíde, T. da R., Pinto, A.P. de S., de Araújo-Júnior, J.X., Lúcio, I.M.L., Bastos, M.L. de A., 2014. Avaliação do extrato da *Zeyheria tuberculosa* na perspectiva de um produto para cicatrização de feridas. *Rev Lat Am Enfermagem* 22, 165–172. <https://doi.org/10.1590/0104-1169.3143.2385>
- Schmalz, G., Galler, K.M., 2017. Biocompatibility of biomaterials – Lessons learned and considerations for the design of novel materials. *Dental Materials*. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.01.011>
- Shahi, S., Özcan, M., Maleki Dizaj, S., Sharifi, S., Al-Haj Husain, N., Eftekhari, A., Ahmadian, E., 2019. A review on potential toxicity of dental material and screening their biocompatibility. *Toxicol Mech Methods* 29, 368–377. <https://doi.org/10.1080/15376516.2019.1566424>
- Shehata, M., Durner, J., Eldenez, A., Van Landuyt, K., Styllou, P., Rothmund, L., Hickel, R., Scherthan, H., Geurtsen, W., Kaina, B., Carell, T., Reichl, F.X., 2013. Cytotoxicity and induction of DNA double-strand breaks by components leached from dental composites in primary human gingival fibroblasts. *Dental Materials* 29, 971–979. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.07.007>
- Thrivikraman, G., Madras, G., Basu, B., 2014. In vitro/In vivo assessment and mechanisms of toxicity of bioceramic materials and its wear particulates. *RSC Adv* 4, 12763–12781. <https://doi.org/10.1039/c3ra44483j>

- Tuna, S.H., Karaca, E., Aslan, I., Pekkan, G., Pekmez, N.Ö., 2020. Evaluation of corrosion resistance of Co-Cr alloys fabricated with different metal laser sintering systems. *Journal of Advanced Prosthodontics* 12, 114–123. <https://doi.org/10.4047/jap.2020.12.3.114>
- Vaicelyte, A., Janssen, C., Borgne, M. Le, Grosgeat, B., 2020. Cobalt–chromium dental alloys: Metal exposures, toxicological risks, CMR classification, and EU regulatory framework. *Crystals (Basel)* 10, 1–16. <https://doi.org/10.3390/cryst10121151>
- Wataha, J.C., 2001. Principles of biocompatibility for dental practitioners. *J Prosthet Dent* 86, 203–209.
- Willis, J., Li, S., Crean, S.J., Barrak, F.N., 2021. Is titanium alloy Ti-6Al-4 V cytotoxic to gingival fibroblasts—A systematic review. *Clin Exp Dent Res* 7, 1037–1044. <https://doi.org/10.1002/cre2.444>
- Woźniak-Budych, M.J., Staszak, M., Staszak, K., 2023. A critical review of dental biomaterials with an emphasis on biocompatibility. *Dent Med Probl* 60, 709–739. <https://doi.org/10.17219/dmp/172732>
- Yang, D., Elner, S.G., Bian, Z.-M., Till, G.O., Petty, H.R., Elner, V.M., 2007. Pro-inflammatory cytokines increase reactive oxygen species through mitochondria and NADPH oxidase in cultured RPE cells. *10.1016/j.exer.2007.06.013* 85, 462–472. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2007.06.013>
- Yolun, A., Şimşek, M., Kaya, M., Annaç, E.E., Köm, M., Çakmak, Ö., 2021. Fabrication, characterization, and in vivo biocompatibility evaluation of titanium-niobium implants. *Proc Inst Mech Eng H* 235, 99–108. <https://doi.org/10.1177/0954411920960854>

Stephanie Analy Jasso Flores Stephanie Analy Jass...

EVALUACIÓN IN VIVO DE LA BIOCOMPATIBILIDAD E HISTOCOMPATIBILIDAD DE LA ALEACIÓN TI-6AL-4V PARA A...

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:472312242

Fecha de entrega

7 jul 2025, 8:15 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

8 jul 2025, 7:33 a.m. GMT-6

Nombre de archivo

EVALUACIÓN IN VIVO DE LA BIOCOMPATIBILIDAD E HISTOCOMPATIBILIDAD DE LA ALEACIÓN TI-....pdf

Tamaño de archivo

1.4 MB

77 Páginas

20.096 Palabras

113.629 Caracteres

25% Similitud general

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

Fuentes principales

- 24%  Fuentes de Internet
- 18%  Publicaciones
- 0%  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.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN ESPECIALIDAD EN ORTODONCIA UMSNH	
Título del trabajo	EVALUACIÓN <i>IN VIVO</i> DE LA BIOCOMPATIBILIDAD E HISTOCOMPATIBILIDAD DE LA ALEACIÓN TI-6AL-4V PARA APLICACIONES ORTODÓNTICAS EN UN MODELO PORCINO.	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Stephanie Analy Jasso Flores	0800412x@umich.com
Director	Vidal Almanza Ávila	vidal.almanza@umich.com
Codirector	Gerardo Ordaz Ochoa	ordaz.gerardo@inifap.gob.mx
Coordinador del programa	Luis Alberto Pantoja Villa	luis.pantoja@umich.com

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	No	
Traducción al español	No	
Traducción a otra lengua	Si	Se utilizo para el abstract
Revisión y corrección de estilo	No	
Análisis de datos	No	
Búsqueda y organización de información	No	
Formateo de las referencias bibliográficas	No	
Generación de contenido multimedia	No	
Otro		

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Stephanie Analy Jasso Flores
Lugar y fecha	Morelia Michoacán 04 de Julio del 2024