



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Efectos Biológicos de Cuatro Cementos
Definitivos Usados en Implantología sobre
los Fibroblastos Gingivales Humanos**

D. José Luis Guerrero Gironés
2020



UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Dermatología, Estomatología, Radiología y Medicina Física

EFFECTOS BIOLÓGICOS DE CUATRO CEMENTOS DEFINITIVOS USADOS
EN IMPLANTOLOGÍA SOBRE LOS FIBROBLASTOS GINGIVALES
HUMANOS

DIRECTORES

JULIA GUERRERO GIRONÉS

MARÍA PILAR PECCI LLORET

D. José Luis Guerrero Gironés

2020

**EFFECTOS BIOLÓGICOS DE CUATRO CEMENTOS DEFINITIVOS USADOS
EN IMPLANTOLOGÍA SOBRE LOS FIBROBLASTOS GINGIVALES
HUMANOS**

Memoria presentada por

José Luis Guerrero Gironés

para optar al grado de Doctor

por la Universidad de Murcia

Directores:

Julia Guerrero Gironés

María Pilar Pecci Lloret

AGRADECIMIENTOS

Agradecer siempre es grato, para el que agradece y para el agradecido, pero no siempre es fácil acordarse de todos los que te han ayudado a llegar donde estás.

Gracias a Sergio López García y a David García Bernal, investigadores y técnicos del laboratorio de Investigación Biosanitaria de la Universidad de Murcia, por su magnífica y desinteresada ayuda para la realización de este trabajo.

Gracias a mi tutor, Francisco Javier Rodríguez Lozano, por su apoyo y por hacerme partícipe de su gran pasión, la investigación.

Gracias a mi directora de tesis, María Pilar Pecci Lloret por su asesoramiento, comprensión y facilidades para desarrollar este trabajo.

Gracias a mi directora de tesis y hermana, Julia, por enseñarme este nuevo mundo universitario y de la investigación, que vive y transmite con entusiasmo. Gracias por tu ejemplo, constancia y continua motivación, sin ti hubiera sido imposible la realización de este trabajo.

Gracias a mis padres, Águeda y Antonio, pilares de mi personalidad, por enseñarme que el día a día es un aprendizaje constante. No sólo son dos magníficos docentes, sino que además son personas cercanas y las responsables de mi predisposición por conocer y sobre todo, por luchar por conseguir las metas que me he ido proponiendo.

Gracias al resto de mi familia por ser tan especiales y mantenernos siempre unidos y a mis amigos, por darme esos momentos de desconexión tan necesarios.

Gracias a Marian, mi mujer, por su generosidad y por la gran confianza que siempre deposita en mí. Y gracias a mis peques, Andrea y Julia, porque, aunque difícilmente han contribuido al desarrollo de esta tesis, son la luz de mi vida.

FINANCIACIÓN

Este trabajo ha sido financiado por la Red Española de Terapia Celular (TerCel) otorgada por el instituto de Salud Carlos III (ISCiii) (TETICS RD07/0010/2012 y RD12/0019/0001) y el Programa Conjunto para la Investigación Biomédica en Terapias Avanzadas y Medicina Regenerativa del ISCiii y el FFIS (Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia).

ÍNDICE

ÍNDICE

Resumen y palabras clave.....	1
Summary and keywords.....	4
Abreviaturas.....	6
Índice de figuras.....	9
Índice de tablas.....	13
I- INTRODUCCIÓN.....	15
1.- Implantes dentales.....	16
1.1-Estructuras del implante dental.....	18
1.2-Características de la superficie del implante.....	20
1.3-Diseño del implante.....	21
2-Tipos de prótesis sobre implantes.....	22
2.1- Sobredentadura sobre implantes.....	22
2.2- Prótesis híbrida sobre implantes.....	24
2.3- Prótesis fija sobre implantes.....	25
2.3.1- Prótesis fija atornillada.....	26
2.3.2- Prótesis fija cementada.....	28

2.3.3- Comparativa entre prótesis atornillada y cementada.....	29
2.3.4- Conexión por fricción.....	31
3-Tipos de cementos.....	32
3.1- Cementos provisionales.....	34
3.2- Cementos semidefinitivos.....	36
3.3- Cementos definitivos.....	37
3.4- Selección de los cementos para cementar prótesis sobre implantes.....	39
4- Fracaso/ complicaciones de implantes.....	42
4.1- Complicaciones periimplantarias y su relación con el exceso de cemento	44
5-Formas de limitar el exceso de cemento.....	48
6-Evaluación de la biocompatibilidad de los productos sanitarios utilizados en odontología.....	54
7-Fibroblastos gingivales humanos.....	58
II-JUSTIFICACIÓN.....	60
III- OBJETIVOS.....	62
IV- MATERIAL Y MÉTODOS.....	64
1-Materiales.....	65
1.1- Cementos.....	65

1.2- Preparación de materiales.....	66
2-Aislamiento y cultivo celular.....	67
3-Recuento celular.....	70
4-Ensayos experimentales.....	72
4.1 Ensayo de viabilidad celular (MTT).....	72
4.2 Ensayo de migración celular.....	74
4.3 Análisis de la morfología celular.....	75
4.4 Microscopía electrónica de barrido con espectrometría dispersiva de Rayos X (MEG/EDS).....	75
4.5 Evaluación de especies reactivas de oxígeno.....	78
5- Análisis estadístico.....	78
V- RESULTADOS.....	79
5.1 Ensayo de viabilidad celular (MTT).....	80
5.2 Ensayo de migración celular.....	82
5.3 Análisis de la morfología celular.....	83
5.4 Microscopía electrónica de barrido con espectrometría dispersiva de Rayos X (MEG/EDS).....	84
5.5 Evaluación de especies reactivas de oxígeno.....	86
VI- DISCUSIÓN.....	88

1. Discusión del método.....	90
2. Discusión de los resultados.....	94
3. Limitaciones del estudio.....	99
VII-CONCLUSIONES.....	101
VIII- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103
IX- ANEXOS.....	117



RESUMEN



RESUMEN

Objetivo: El objetivo principal de este estudio fue determinar los efectos biológicos de cuatro cementos; RelyxUnicem 2 (RU), Panavia V5 (PV5), Multilink Hybrid Abutment (MHA) y SoloCem (SC) en fibroblastos gingivales humanos.

Material y métodos: Fibroblastos gingivales humanos (FGH) se expusieron a diferentes eluatos de cementos a base de resina. El efecto citotóxico y la migración celular se evaluaron utilizando los ensayos MTT y de cicatrización de herida. La adhesión y la morfología celular se analizaron mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). Se determinaron los niveles de especies reactivas del oxígeno intracelular (ROS) producidos por los eluatos de los diferentes cementos. El estudio estadístico se realizó utilizando un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados: MHA no afectó la viabilidad celular en las primeras 24h o 72h con cualquier dilución, y mostró diferencias significativas en comparación con el control (** $p < 0,01$) a las 48h sin diluir y con la dilución 1:2. Los extractos de SC sin diluir (1:1) provocaron una disminución de la viabilidad de los FGH en todos los tiempos de estudio con diferencias significativas en comparación con el grupo control (** $p < 0,0001$). Igualmente, la migración celular se vio afectada en presencia del grupo de SC sin diluir en todos los períodos en comparación con el control (** $p < 0,001$). Por el contrario, en todos los tiempos de estudio y en todas las diluciones estudiadas, las tasas de migración celular en el grupo MHA fueron similares a las del grupo control. En relación a la adhesión celular, MEB mostró muy pocas células en el grupo SC, y se detectó un crecimiento celular moderado en el grupo MHC, PV5 y RU. Los niveles de ROS en los FGH tratados con SC (1:1; 1:2) y RU (1:1) mejoraron significativamente en comparación con los de las células de control o las células tratadas con otros eluatos de cemento (** $p < 0,001$)

Conclusiones: Los eluatos de MHA mostraron una mejor migración celular, mayor adhesión celular y mayor viabilidad celular que los obtenidos con los otros cementos. El grupo SC mostró peores resultados en todos los parámetros con respecto al grupo control y los otros cementos.



Relevancia clínica: Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que el Multilink Hybrid Abutment tiene mejores propiedades biológicas para cementar las coronas de implantes sobre los pilares.

Palabras clave: pilar de implante, citotoxicidad, periimplantitis, fibroblastos gingivales humanos, cemento a base de resina.



SUMMARY



SUMMARY

Objective: The main objective of this study was to determinate the biological effects of four cements; RelyxUnicem 2 (RU), Panavia V5 (PV5), Multilink Hibryd Abutment (MHA) and SoloCem (SC) on human gingival fibroblasts.

Materials and Methods: Human gingival fibroblasts (HGF) were exposed to different eluates of resin-based cements. The cytotoxic effect and cell migration were assessed using MTT and wound-healing assays. The attachment and the cell morphology were analyzed by Scanning Electron Microscopy (SEM). The levels of intracellular reactive oxygen species (ROS) produced by the eluates of the different cements were determined. Data from results were performed using a one-way analysis of variance (ANOVA) and Turkey's test ($p < 0.05$).

Results: MHA did not affect cell viability in the first 24h or 72h at any dilution, and it showed significant differences in comparison to the control ($**p < 0.01$) at 48h undiluted and 1:2 dilution. Extracts of SC reduces the viability of HGFs at any time undiluted with significant differences in comparison to the control ($***p < 0.0001$). Cell migration was affected by the undiluted SC group at all period-times compared to the control ($***p < 0.001$). Contrarily, at all period-times and all dilutions studied, cell migration rates in the MHA group were similar to that of the control group. SEM showed very few cells in SC group, and moderate cell growth was detected in MHC, PV5 and RU group.

The ROS levels in the SC (1:1; 1:2) and RU (1:1) treated-HGFs were significantly enhanced compared with that in the control cells or cells-treated with other cement eluates ($***p < 0.001$)

Conclusions: MHA eluates showed a better cell migration, greater cell attachment and higher cell viability than those obtained with the other cements. SC group showed worse results in all parameters with respect to the control group and the other cements.

Clinical Relevance The results obtained in the present work, suggest that Multilink hybrid abutment has better biological properties for cementing implant crowns on abutments.

Keywords: implant abutment, cytotoxicity, periimplantitis, human gingival fibroblasts, resin-based cement.



ABREVIATURAS



ABREVIATURAS

RU	RelyxUnicem 2
PV5	Panavia V5
MHA	Multilink Hibryd Abutment
SC	SoloCem
FGH	Fibroblastos Gingivales Humanos
HGF	Human Gingival Fibroblast
CAD-CAM	Diseño y fabricación asistidos por ordenador
CBCT	Tomografía computerizada de haz cónico
2-D	2 Dimensiones
EAO	Asociación Europea de Osteointegración
FZ	Fosfato de Zinc
IV	Ionómero de vidrio
IVMR	Ionómero de vidrio modificado con resina
OZE	Óxido de zinc eugenol
OZsinE	Óxido de zinc sin eugenol
PCB	Policarboxilato
Cr-Co	Cromo-cobalto
PFM	Porcelana fusionada con metal
CC	Cementación convencional
R25	Cementación con el uso de un pilar de precementación con una disminución de 25 μm en su radio y altura



R50 Cementación con el uso de un pilar de precementación con una disminución de 50 μm en su radio y altura

R75 Cementación con el uso de un pilar de precementación con una disminución de 75 μm en su radio y altura

BOPT Técnica de preparación biológicamente orientada

MEB Microscopio electrónico de barrido

HR Humedad relativa



ÍNDICE DE FIGURAS



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Componentes del implante: (a) cuerpo del implante, (b) tornillo de pilar y (c) pilar.

Figura 2. Implante Roxolid con superficie SLA (Straumann Holding AG, Basilea, Suiza). (a) Los implantes dentales Roxolid están hechos de aleación de titanio y zirconio. (b) El granallado genera los aspectos de macro nivel de la superficie, (c) mientras que las características microtopográficas son inducidas por grabado ácido con HCl / H₂SO₄.

Figura 3. Los implantes dentales están disponibles principalmente como (A) con forma cilíndrica roscada o (B) con forma cónica (raíz). (C) Radiografía de un caso clínico donde se usan dos implantes de forma cilíndrica. (D) Radiografía de un caso clínico donde se muestra un implante con forma cónica.

Figura 4. Sobredentadura sobre dos (A) y un implante (B) respectivamente con sistema de sujeción Locator.

Figura 5. Uso de 3 implantes para sostener una prótesis híbrida.

Figura 6. Corona atornillada del 4.5 situada sobre el implante antes de ser atornillada y tornillo sobre el destornillador (a). Atornillado manual de la corona al implante con un destornillador (b). Corona atornillada sobre el implante del 2.1, vista oclusal (c).

Figura 7. Esquema de las partes de la prótesis cementada sobre implantes (A). Corte transversal de una corona cementada sobre aditamento de implante (B).

Figura 8. Valoración radiográfica de la pérdida de hueso marginal.

Figura 9. "Concepto Conométrico Acuris™" (Implantes Dentsply Sirona, Bensheim, Alemania).

Figura 10. Sondaje de un implante con periimplantitis (a). Evidencia radiográfica de la progresiva pérdida de hueso (b).



Figura11. Corona unitaria sobre implantes que presenta inflamación en los tejidos periimplantarios.

Figura 12. Tejidos periimplantarios con remanentes de cemento después de quitar una restauración fracturada.

Figura 13. Sangrado e inflamación de los tejidos periimplantarios alrededor de una prótesis cementada (a). Imagen radiográfica de perimucositis. Se observan restos de cemento y pérdida de hueso marginal (b).

Figura14. En rojo se observa el área cubierta con cemento remanente en el margen interproximal entre el pilar y la corona.

Figura15. Mucositis periimplantaria inducida por cemento (A). Excesos de cemento siendo eliminados (B). Tejido blando curado a las dos semanas y desaparición de la inflamación (C).

Figura 16. Proceso de cementado de corona unitaria sobre implante.

Figura 17. Extenso desbordamiento de cemento alrededor del margen de la corona y el pilar (A). R25: no se observó desbordamiento de cemento (B).R50 (C). R75 (D). En C y D se va observando una cantidad mayor de exceso de cemento.

Figura18. Realización de un orificio de ventilación en la cofia de una corona usando una fresa de alta velocidad de carburo.

Figura 19. Corona cemento-atornillada.

Figura 20. Proceso de cementado extraoral de corona cemento-atornillada.

Figura 21. Tres tipos de restauraciones. A) Corona atornillada. B) Corona cementada sin línea de terminación (BOPT), C) Corona cementada convencional sin línea de terminación.

Figura 22. Pilar con exceso de cemento no detectado (flecha) después de su extracción (A). Radiografía, en el momento de la revisión, que muestra el nivel óseo periimplantario (flecha) en el segundo molar superior izquierdo (B).

Figura 23. Presentación comercial de los 4 cementos usados en el estudio.

Figura 24. Cabina de seguridad biológica vertical tipo II con filtro HEPA (Telstar).



Figura 25. Centrífuga de laboratorio.

Figura 26. Medio de cultivo DMEM.

Figura 27. Contador celular y Cámara de Neubauer (divisiones de la cámara).

Figura 28. Medio de cultivo DMEM, placa de 96 pocillos y placa de 12 pocillos dentro de la cámara de flujo vertical.

Figura 29. Formación de cristales de formazán.

Figura 30. A) Placa de 12 pocillos. B) Microscopio óptico. C) Pantalla del microscopio óptico

Figura 31. Cámara de secado (A). Muestras recubiertas de oro (B).

Figura 32. Microscopio de Barrido JEOL-6100 y sistema de Microanálisis por dispersión de Rayos X INCA de Oxford Instruments.

Figura 33. Muestras recubiertas con carbón.

Figura 34. Proliferación celular de los diferentes materiales aplicados sin diluir.

Figura 35. Proliferación celular de los diferentes materiales aplicados a dilución 1:2.

Figura 36. Proliferación celular de los diferentes materiales aplicados a dilución 1:4.

Figura 37. Efecto de diferentes extractos de cemento sobre fibroblastos gingivales humanos.

Figura 38. Morfología del citoesqueleto y núcleo de los fibroblastos gingivales a las 72 horas de cultivo en los cuatro tipos de cementos comerciales mediante microscopio de fluorescencia confocal.

Figura 39. Microfotografías mediante microscopía electrónica de barrido de las superficies de los distintos cementos en contacto con los fibroblastos gingivales humanos.

Figura 40. Análisis morfológico y químico de cada uno de los cementos comerciales estudiados mediante microscopía electrónica de barrido y dispersión de Rayos X.

Figura 41. Evaluación de las especies reactivas de oxígeno en los distintos cementos comerciales estudiados mediante citometría de flujo.



ÍNDICE DE TABLAS



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ventajas y desventajas de las coronas atornilladas sobre implantes.

Tabla 2. Ventajas y desventajas de las coronas cementadas sobre implantes.

Tabla 3. Comparación entre coronas atornilladas y cementadas.

Tabla 4. Clasificación de los cementos dentales.

Tabla 5: Características de los cementos provisionales para prótesis cementadas sobre implantes.

Tabla 6. Características de los cementos semidefinitivos para prótesis cementadas sobre implantes.

Tabla 7. Características de los cementos definitivos para prótesis cementadas sobre implantes.

Tabla 8. Tipos de cemento elegidos basándose en la combinación pilar-prótesis.

Tabla 9. Composición química y propiedades de los biomateriales testados.



INTRODUCCIÓN



I-INTRODUCCIÓN

1- IMPLANTES DENTALES

Los dientes son estructuras anatómicas cuya función primordial es la de triturar los alimentos, dando lugar a una digestión adecuada. Además, tienen un papel trascendental en la fonación, e intervienen en la armonía facial. Por tanto, el edentulismo puede producir cambios en la función y en la estética del aparato estomatognático. Por ello, es recomendable restaurar las ausencias dentarias(1). A lo largo de los años, las técnicas tanto quirúrgicas como protésicas para lograr este fin, han ido progresando. De este modo, la terapia con implantes ha cambiado por completo la odontología, manifestando que la rehabilitación oral de los pacientes con pérdidas dentales unitarias, múltiples o totales mediante el uso de la implantología es un tratamiento predecible y exitoso(2).

Los dientes pueden perderse por diversas causas, como problemas endodónticos, periodontales, traumatismos o cirugías de los maxilares, dando lugar, además de lo anteriormente mencionado en cuanto a los cambios en la función y la estética, a pérdidas del hueso alveolar, a migraciones o desplazamientos dentales, problemas oclusales o parafunciones como el bruxismo(3).

El odontólogo dispone de múltiples formas para restaurar las ausencias dentales, aunque, con los años, los profesionales conocen que la terapia implantológica es la terapia más conservadora e incluso más ética, pues para su realización no es necesaria la preparación de los dientes adyacentes, y por tanto, no hay que prescindir del tejido dental de estos últimos, pudiendo quedarse sus estructuras intactas (2). Así, en las últimas tres décadas, no existe ningún tratamiento convencional ni más novedoso, que se haya impuesto a la rehabilitación de las ausencias dentales mediante el tratamiento con implantes.

La prótesis dental tiene como fin el bienestar del paciente mediante el restablecimiento de la función y la estética orales, ante un paciente oligodóntico, es decir, con numerosas ausencias. Conseguir este fin requiere, por parte del dentista, de un conocimiento del



aparato estomatognático y una planificación terapéutica importantes (1).

Se sabe que, desde la antigüedad, el hombre ha intentado reponer los dientes ausentes, pero es desde la última mitad de siglo XX cuando la tecnología implantológica ha evolucionado más(4). Fue con el estudio de Branemark y cols.(5) sobre la osteointegración de los implantes a largo plazo, que daba lugar a un buen anclaje protésico, cuando la implantología dio un vuelco. Hasta los años 80, el sistema Branemark se utilizaba principalmente en las universidades, clínicas especializadas y en centros de investigación. Posteriormente una implementación más general de estas técnicas fue posible hasta llegar a los cirujanos orales, periodoncistas y odontólogos generales(6).

La continua investigación en cuanto a materiales y métodos, diseño de nuevos implantes, nuevas herramientas diagnósticas y planificación más exhaustiva, dan como resultado la evolución desde los protocolos clásicos a los protocolos de “carga inmediata” de los implantes, es decir a poder posicionar sobre los implantes, las rehabilitaciones protésicas sin tener que esperar meses para poder realizarlo, pudiendo hacerlo incluso en las primeras 48 horas tras la cirugía de colocación del implante(7).

Desde los años 80, la cantidad de implantes orales que se usan ha aumentado más de diez veces, yendo esta cifra también en aumento en numerosos países desarrollados. En la actualidad, la mayoría de los odontólogos colocan a diario los implantes orales para soportar tanto prótesis fijas como removibles(8). El aumento del uso de la implantología oral se debe a diversos factores como son: el envejecimiento de la población y una esperanza de vida mayor y por tanto mayor número de ausencias dentales por el aumento de la edad de los pacientes (9, 10); los fracasos de las rehabilitaciones fijas sobre dientes pilares(3); la demanda de más estética y los aspectos psicológicos que conllevan las ausencias dentarias(11, 12); los buenos resultados de los implantes y las prótesis sobre implantes(13, 14); la comodidad y el menor balanceo de las prótesis sobre implantes respecto a las prótesis removibles convencionales (15); la preservación de la altura y el ancho de la cresta alveolar(16); que los implantes se puedan usar como anclaje en tratamientos de ortodoncia (17); que no sea necesaria la preparación de los dientes adyacentes; que sea un tratamiento bastante predecible y que requieran poco mantenimiento(18).



El éxito clínico de los implantes, generalmente se describe en términos de supervivencia del implante en sí y la pérdida ósea y las complicaciones protésicas limitadas, aunque la satisfacción del paciente también depende del resultado estético final(6).

1.1 Estructura del implante dental

Un implante dental típico consta de varias partes. El cuerpo del implante, que es la parte del implante diseñada para colocarse quirúrgicamente en el hueso. Los implantes con forma de raíz son la forma común del cuerpo del implante, con un diseño de tornillo destinado a fijar fuertemente el mismo al hueso (Figura 1).

El pilar o aditamento es la parte del implante que sirve para soportar y / o retener la supraestructura (es decir, la prótesis fija o removible que va sobre ella) y se une al cuerpo del implante mediante un pequeño tornillo (19) (Figura 1). El pilar sirve como la extensión de un implante dental en la cavidad oral y, por lo tanto, como base para la posterior restauración. Su función biológica es dar forma y soportar los tejidos blandos periimplantarios y al mismo tiempo, funcionar como una barrera suficiente para la colonización bacteriana. Los pilares del implante se seleccionan de acuerdo con el nivel óseo, el grosor de la mucosa, la angulación y la forma y tamaño de la reconstrucción. El margen puede establecerse tanto en la banda supramucosa como en la submucosa, dependiendo de la arquitectura de los tejidos blandos y los requisitos estéticos. Los implantes se pueden restaurar con restauraciones atornilladas o cementadas. Esta última es una técnica protésica de uso común, ya que permite una mayor tolerancia con respecto al eje y posición del implante y es conocida para la mayoría de los profesionales (20).

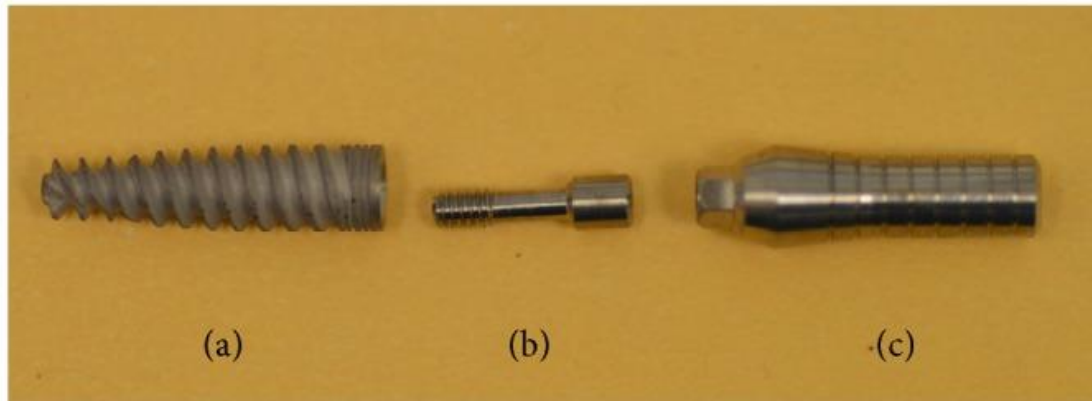


Figura 1. Componentes del implante: (a) cuerpo del implante, (b) tornillo de pilar y (c) pilar(19).

Un implante dental es un biomaterial aloplástico que se inserta quirúrgicamente en el hueso de los maxilares para resolver problemas funcionales y / o estéticos. La mayoría de los implantes dentales actuales están hechos de titanio comercialmente puro (CP-Ti grado 4) o de aleación de titanio Ti-6Al-4V ELI (intersticial extra bajo). Esta selección de materiales se basa en las propiedades bien establecidas de biocompatibilidad y resistencia a la corrosión de aquellos materiales que se atribuyen al óxido nativo de superficie (TiO₂) con una espesor de capa de 2–10 nm(1).

El éxito de los implantes dentales se atribuye en gran medida a lo que se conoce como "osteointegración", un término originalmente definido por Branemark en 1952. La osteointegración implica un mecanismo de anclaje, por el cual los componentes artificiales pueden incorporarse de manera confiable y predecible en el hueso vivo, persistiendo este anclaje bajo las condiciones de carga normales(19).

Existen dos parámetros principales que contribuyen a un proceso exitoso de osteointegración. El primero son las *características de la superficie* del implante, y el segundo, de una naturaleza más macroscópica, es el *diseño del implante*, que permite la estabilidad primaria necesaria para que ocurra el proceso biológico de osteointegración(21).



Los movimientos del implante, cuando éste no ha tenido estabilidad primaria, incluso en el rango del micrómetro, pueden influir negativamente en la osteointegración y la remodelación ósea al formar tejidos fibrosos, causando así la resorción ósea en la interfaz hueso-implante(22).

1.2 Características de la superficie del implante

El efecto de las características de la superficie en la reacción biológica y en el contacto hueso-implante ha sido ampliamente estudiado en la literatura. Los tratamientos superficiales aumentan el área de superficie activa y permiten una unión mecánica más firme con los tejidos circundantes (22). Además, la topografía de la superficie conduce a un anclaje óseo más rápido y más fuerte y puede conferir una mayor estabilidad durante el proceso de curación, lo que permite una carga más temprana del implante(23). Se conoce que los parámetros de desviación de altura promedio (R_a y S_a) entre 1 y $2\mu\text{m}$, que definen una "superficie moderadamente rugosa", son óptimos para un proceso de osteointegración exitoso(23-25).

Hoy en día existe una gran variedad de tratamientos de superficie para lograr el grado deseado de rugosidad de la superficie. Las diferentes modificaciones de la superficie se pueden dividir en seis tipos, aunque este parámetro está en continua evolución: mecanizado, pulverización con plasma y peening con láser (tratamiento de superficie con láser, LST), grabado ácido, granallado seguido de grabado ácido, anodizado y recubrimiento biomimético. Entre ellos, el granallado es uno de los tratamientos de superficie de implantes dentales más comunes(25). La rugosidad superficial con valores de S_a que oscilan entre 0,6 y $2,1\mu\text{m}$, se considera ideal para la osteointegración del implante(23). Durante este proceso, los implantes se pulverizan con partículas cerámicas duras impulsadas por aire (Al_2O_3 , TiO_2 y $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$]. Dependiendo del tamaño de las partículas cerámicas y su velocidad, se pueden producir diferentes niveles de rugosidad de la superficie del implante(24) (Figura 2).

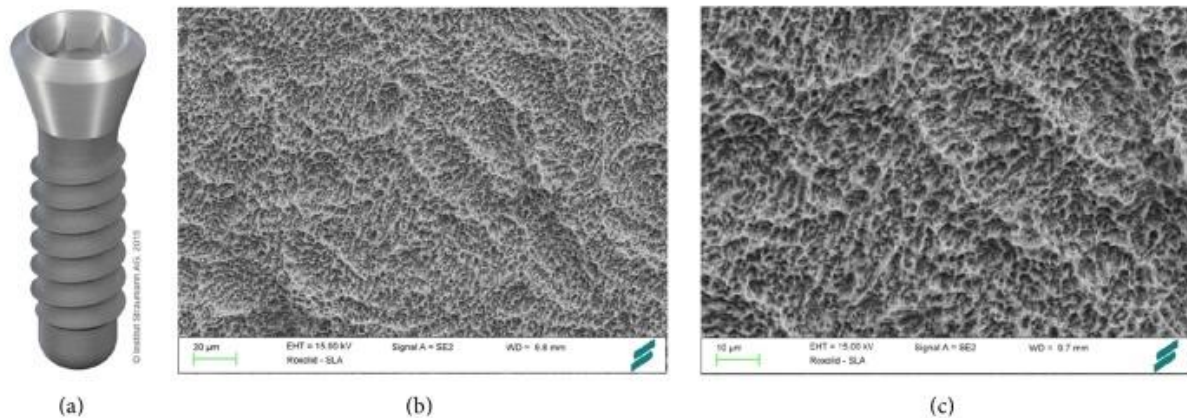


Figura 2. Implante Roxolid con superficie SLA (Straumann Holding AG, Basilea, Suiza). (a) Los implantes dentales Roxolid están hechos de aleación de titanio y zirconio. (b) El granallado genera los aspectos de macro nivel de la superficie, (c) mientras que las características microtopográficas son inducidas por grabado ácido con HCl / H₂SO₄(26).

1.3 Diseño de implante

El objetivo del diseño del implante es lograr un mejor anclaje del mismo en la cresta ósea. La mayoría de los implantes actuales son implantes con forma de "raíz" con un diseño de tornillo destinado a fijar fuertemente el implante al hueso (Figura 3). Las características de diseño adicionales, como el diámetro del implante, la profundidad y el ancho de la rosca, el paso del rosca, la geometría de la rosca y el ángulo de hélice, pueden ser optimizados (al menos en principio) por los fabricantes de implantes para apoyar inicialmente el implante y mantenerlo en su lugar(1).

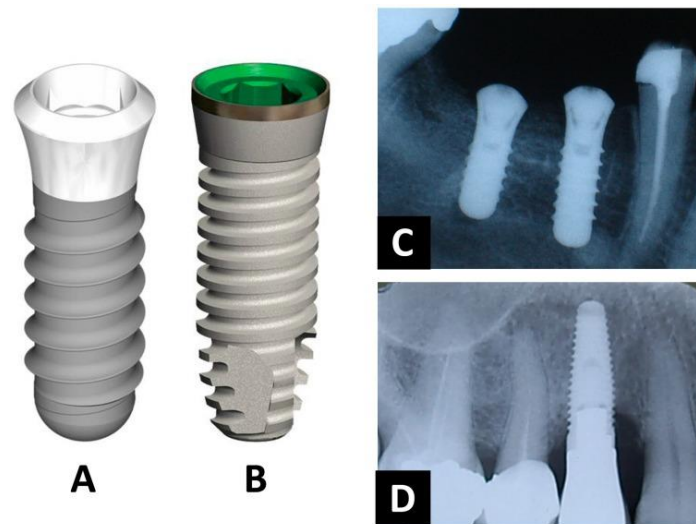


Figura 3. Los implantes dentales están disponibles principalmente como (A) con forma cilíndrica roscada o (B) con forma cónica (raíz). (C) Radiografía de un caso clínico donde se usan dos implantes de forma cilíndrica. (D) Radiografía de un caso clínico donde se muestra un implante con forma cónica (27).

2- TIPOS DE PRÓTESIS SOBRE IMPLANTES

2.1 Sobredentadura sobre implantes

Los implantes dentales son efectivos minimizando la reabsorción de hueso de la cresta remanente. Las prótesis dentales soportadas por implantes preservan el hueso, e incluso pueden promover su crecimiento, en contraposición con las prótesis completas convencionales, que dan lugar a una resorción ósea(28).

Han pasado más de 15 años desde la Declaración del Consenso de McGill que describió la "sobredentadura mandibular de dos implantes como estándar de atención de primera elección para pacientes desdentados". La sobredentadura consiste en una prótesis removible pero retenida por implantes mediante 2 tipos de sistemas macho/hembra: una barra metálica que une los implantes o mediante el sistema locator(29) (Figura 4).



Aunque la sobredentadura sobre implantes tiene un coste mayor que las prótesis completas convencionales, la diferencia no es tan grande como cabría esperar y debería ser asequible para los pacientes desdentados. En el Consenso de York en 2009 se afirmó que la sobredentadura sobre dos implantes debe ser el tratamiento de primera elección mínimo ofrecido a pacientes desdentados aunque todavía el coste sigue siendo una barrera real para este tratamiento(29).

Algunos autores sugieren como una alternativa viable a los tratamientos habituales la sobredentadura sobre un solo implante(30, 31). El uso de un implante en la línea media de la mandíbula ha demostrado tener un buen resultado clínico y un alto nivel de satisfacción del paciente, mejorando la comodidad, la función y la estabilidad de las sobredentaduras mandibulares. Se recomiendan ensayos clínicos de mayor duración con muestras de mayor tamaño, aunque esta modalidad parece tener un potencial realista para convertirse en el "nuevo" estándar mínimo de atención para pacientes desdentados y reposición de la dentición(31).



Figura 4: Sobredentadura sobre dos (A) y un implante (B) respectivamente con sistema de sujeción Locator(30).



2.2 Prótesis híbrida sobre implantes

Las prótesis híbridas son rehabilitaciones completas fijas sobre 4 ó 6 implantes más parecidas en cuanto a función y estética a la dentición natural, al no ser removibles. Las prótesis pueden ser de metal-porcelana o metal-resina. Aunque comparadas con las sobredentaduras, en cuanto a supervivencia de los implantes y la prótesis, la satisfacción del paciente y el rendimiento masticatorio, tienen resultados similares(32).

Es una buena alternativa de tratamiento, ya que las prótesis fijas sobre implantes, en las que cada implante/corona sustituye un diente natural, tienen un elevado coste. Así, con un número menor de implantes, se podría reponer toda una arcada de forma fija y con gran éxito. De esta manera surgió el concepto de “All-on-four”, es decir, una prótesis híbrida sostenida sobre sólo 4 implantes, con una tasa de supervivencia de los 4 implantes que sostienen la prótesis híbrida de un 95.4% y una supervivencia protésica del 99.7% después de 7 años de la colocación. El éxito de esta técnica se basa en la longitud y distribución de los implantes, lo que proporciona una amplia dispersión de la fuerza funcional que actúa sobre los estos y el hueso(33, 34).

BranemarkNovum a principios de los 2000, empezó a usar sólo 3 implantes para sostener la prótesis híbrida. Este método utiliza una subestructura de titanio preformada que guía la colocación de los implantes en una mandíbula edéntula y sirve como barra primaria. Posteriormente se utiliza una subestructura secundaria prefabricada de titanio para crear la prótesis definitiva usando dientes acrílicos y polimetilmetacrilato, lo que permite la colocación de la prótesis en el mismo día de la colocación de los implantes. Clínicamente, este método mostró una supervivencia de los implantes del 93% al 95% y de la prótesis un 99% a los 5 años (35). Este concepto fue reintroducido recientemente como Trefoil de Nobel Biocare y ha ganado protagonismo por poder ofrecer prótesis soportadas por implantes de arco completo con menor costo y con menor número de implantes (Figura 5). Según el fabricante, a través de la tecnología de diseño y fabricación asistidos por ordenador (CAD-CAM), la barra prefabricada está diseñada anatómicamente para adaptarse al arco



mandibular y ha mejorado el ajuste pasivo a través de una articulación adaptativa de las desviaciones horizontales, verticales y angulares. Con el uso de la tomografía computerizada de haz cónico (CBCT) y la planificación digital, el resultado puede ser más favorable que la anterior generación antes mencionada(36).

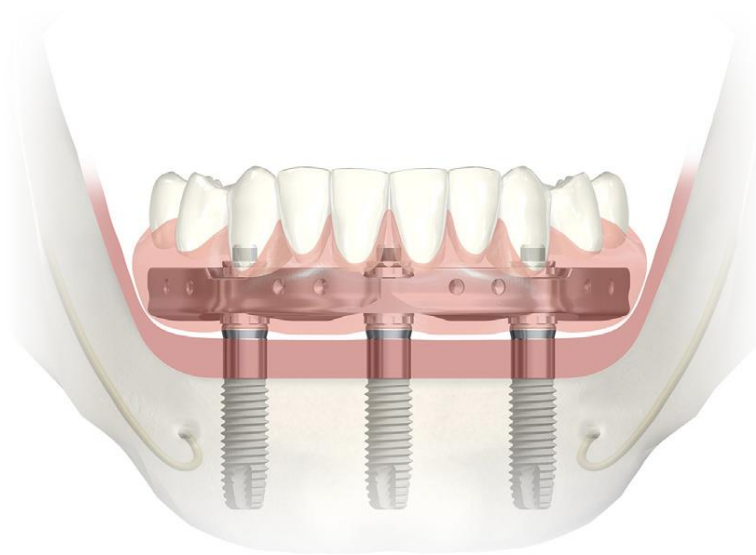


Figura 5: Uso de 3 implantes para sostener una prótesis híbrida (37)

Independientemente del tipo de prótesis, los implantes dentales son capaces de mejorar los resultados de la rehabilitación protodóntica para pacientes desdentados y realmente cambian sus vidas. Se deben explorar formas de utilizar esta tecnología para que las personas edéntulas sean tratadas de manera global(37).

2.3 Prótesis fija sobre implantes

Las coronas individuales sobre implantes tienen una alta previsibilidad de tener buenos resultados clínicos a largo plazo. Se ha demostrado que la tasa de supervivencia de estos implantes unitarios varía entre el 96 y el 97% y la supervivencia protésica entre el 87% y 97% en un periodo de 5 años. A los 10 años, la tasa de supervivencia fue del 95%, mientras que la tasa de supervivencia de las restauraciones protésicas fue del 89% (38).



Los puentes sobre implantes son una alternativa de tratamiento para el edentulismo parcial. Se ha demostrado que las prótesis dentales fijas soportadas por implantes mejoran la función masticatoria y proporcionar una mayor satisfacción del paciente en comparación con las prótesis removibles convencionales, que serían otra opción de tratamiento para este tipo de pacientes(39, 40).

Las restauraciones fijas soportadas por implantes han demostrado un éxito predecible como una modalidad de tratamiento para los dientes ausentes. La apariencia y la masticación de los pacientes parcial o totalmente edéntulos se han mejorado enormemente utilizando restauraciones sobre implantes. Estas restauraciones pueden ser atornilladas al implante, cementadas a un pilar o aditamento que va atornillado sobre el implante, o cemento-atornilladas, es decir, la prótesis va cementada pero a su vez lleva tornillos de fijación por lingual o palatino(41). La selección de un sistema de retención de la prótesis u otro depende de las preferencias propias del clínico que las maneja. En general, el modo de retención se decide durante la etapa de planificación del caso, cuando se tienen en cuenta los pros y contras de cada sistema en función del tratamiento planificado(41).

2.3.1 Prótesis fija atornillada

Por lo general, los sistemas atornillados se seleccionan cuando hay múltiples pilares presentes, ya que este mecanismo de retención permite la extracción de las prótesis para su higiene, mantenimiento y posibles reparaciones. Con este sistema la discrepancia marginal entre el implante y la corona en su unión es mínima, aunque el aflojamiento de los tornillos puede ser un problema común. Además hay que tener en cuenta las consideraciones estéticas, ya que podrían verse las entradas o chimeneas de los tornillos en zonas estéticas cuando los implantes no estén colocados en una posición deseable (42) (Figura 6). Las ventajas y desventajas de las coronas atornilladas sobre implantes se resumen en la Tabla 1.

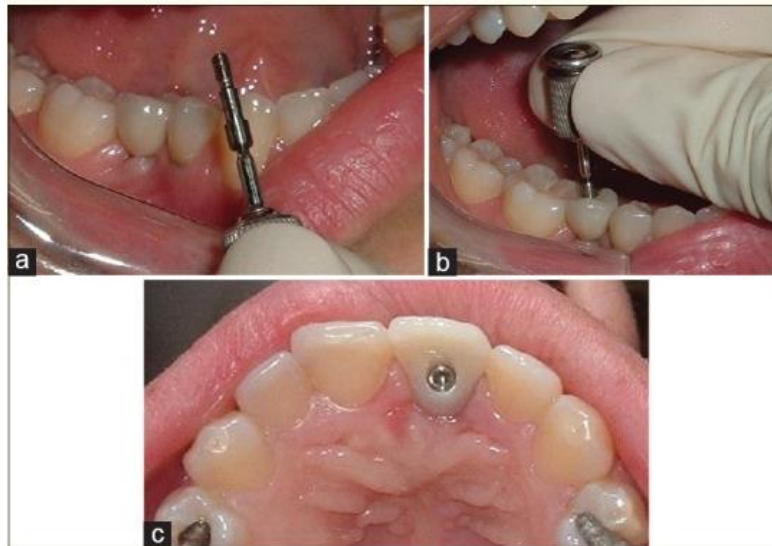


Figura 6. Corona atornillada del 4.5 situada sobre el implante antes de ser atornillada y tornillo sobre el destornillador (a). Atornillado manual de la corona al implante con un destornillador (b). Corona atornillada sobre el implante del 2.1, vista oclusal (c) (43).

CORONAS ATORNILLADAS	
VENTAJAS	DESVENTAJAS
Recuperable	Necesita una posición del implante ideal
Se puede usar en espacios interoclusales limitados	Técnica sensible a ganar pasividad
Mejor respuesta de los tejidos a las restauraciones provisionales	Posibles interferencias oclusales
	Fracturas de la porcelana y fracturas o pérdidas del tornillo
	Más difícil de acceder
	Más caro

Tabla 1: Ventajas y desventajas de las coronas atornilladas sobre implantes

2.3.2 Prótesis fija cementada

El uso de las prótesis cementadas se consideran ideal donde la estética sea un requerimiento imprescindible, ya que se puede compensar con la prótesis cuando los implantes estén colocados en situaciones desfavorables y así poder corregir la relación entre la corona y el implante. Además, son fáciles de fabricar y sus posibles complicaciones durante la fase de fabricación en el laboratorio son menores. Se usan más comúnmente en pacientes que requieren coronas individuales, porque los estudios in vitro han demostrado que ejercen una tensión mínima sobre el tejido óseo y los componentes del implante, menos que con las prótesis atornilladas (44, 45) (Figura 7). Las ventajas y desventajas de las coronas cementadas se resumen en la Tabla 2.

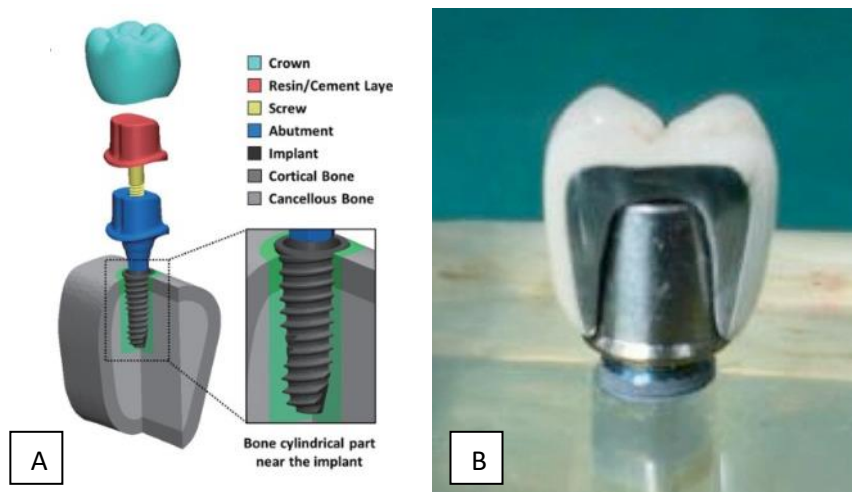


Figura 7. Esquema de las partes de la prótesis cementada sobre implantes (A)(46). Corte transversal de una corona cementada sobre aditamento de implante(B) (47)



CORONAS CEMENTADAS	
VENTAJAS	DESVENTAJAS
Más flexibilidad en cuanto a la posición del implante	Recuperabilidad impredecible
Fácil obtener pasividad	Requiere gran espacio interoclusal
Mejor control de la oclusión	Excesos de cemento
Fácil de acceder	
Más barato	
Técnica fácil con las restauraciones provisionales	

Tabla 2: Ventajas y desventajas de las coronas cementadas sobre implantes

2.3.3 Comparativa entre prótesis atornillada y cementada

Para evaluar el éxito o el fracaso del implante, los cambios en el nivel óseo marginal y la osteointegración son los principales hallazgos radiográficos que deben considerarse. Aunque, las imágenes en dos dimensiones (2-D) tienen sus limitaciones, la radiografía dental convencional sigue siendo el método clínico preferido para evaluar el éxito duradero de un implante(48)(Figura 8). Actualmente, la literatura dental no es clara en cuanto a la asociación entre la pérdida de hueso marginal y el mecanismo de retención del implante. Algunos autores afirman que las restauraciones cementadas exhiben más pérdida de hueso marginal (> 2 mm) que las restauraciones atornilladas por las complicaciones biológicas asociadas al cemento(49). Por el contrario, diversos estudios muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas entre restauraciones atornilladas y cementadas con respecto a la supervivencia del implante o la pérdida de la corona. En resumen, no hay acuerdo sobre que un sistema de retención de las restauraciones fijas sobre implantes sea superior al otro(48, 50, 51).

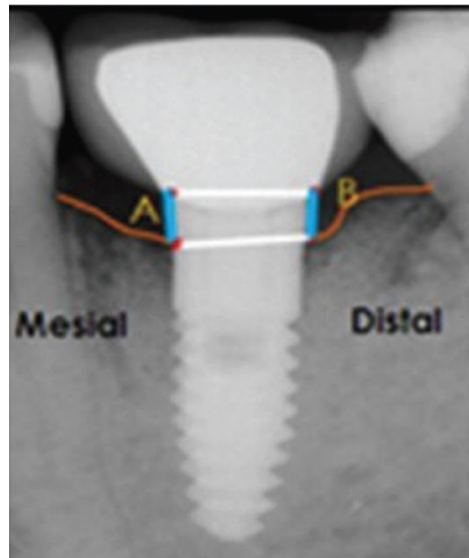


Figura 8. Valoración radiográfica de la pérdida de hueso marginal(41)

En la tercera conferencia de consenso de la Asociación Europea de Osteointegración (EAO) en 2012, se aceptaron las siguientes recomendaciones clínicas: en coronas individuales son igualmente aceptados ambos métodos de fijación (cementada y atornillada); en el caso de reconstrucciones cementadas, es crucial para prevenir complicaciones biológicas, la eliminación de los excesos de cemento; las grandes reconstrucciones con numerosos implantes o reconstrucciones de arco completo tipo híbridas, deben ser atornilladas; las reconstrucciones atornilladas al poder desatornillarse son fácilmente reparables ante cualquier problema técnico y son preferibles desde una perspectiva biológica(52).

La retención de las coronas mediante tornillos evita los problemas biológicos que puedan desencadenar los restos de cemento. Sin embargo, requiere la creación de un orificio para poder acceder al tornillo en la superficie oclusal. Aunque el orificio puede taparse con composite, puede producirse una microfiltración si el punto de contacto oclusal está sobre la resina. Además el orificio ocupa parte de la superficie oclusal, siendo esta proporción mayor cuanto más pequeña sea la superficie oclusal de la corona(43).

En la Tabla 3 podemos observar la comparativa entre las prótesis atornilladas y cementadas (53).



	CORONA ATORNILLADA	CORONA CEMENTADA
Estética	Posición ideal del implante	Más universal
Recuperabilidad	Sí	Posible pero impredecible
Retención	Posible incluso si la altura del pilar es <4mm	>5mm de altura del pilar
Pasividad	Técnica crítica	El espacio del cemento actúa de amortiguador
Oclusión	Posibles interferencias oclusales	Mejor control de la oclusión
Complicaciones	Más susceptible a fracturas de la cerámica y a pérdidas o fracturas del tornillo	Más susceptible a inflamación y periimplantitis por el exceso de cemento
Accesibilidad	Más difícil	Más fácil
Coste	Más caro	Más barato
Restauraciones provisionales	Mejor respuesta de los tejidos y mejor comunicación con el laboratorio	Fáciles de fabricar, pero susceptible al exceso de cemento

Tabla 3: Comparación entre coronas atornilladas y cementadas

2.3.4- Conexión por fricción

Como ya hemos visto, hasta ahora, una restauración fija soportada por implantes podría cementarse o atornillarse. Recientemente, se ha introducido alternativamente una conexión de cono morse entre el pilar y la corona para retener las prótesis fijas definitivas retenidas por implantes. La conexión por fricción elimina el uso de cementos o tornillos, lo que permite una fácil recuperación de las restauraciones con un mantenimiento regular. Este enfoque restaurador, denominado "Concepto Conométrico Acuris™" (Implantes Dentsply



Sirona, Bensheim, Alemania), se ha utilizado para retener restauraciones del sector posterior de diferentes materiales (híbridos acrílico-composite, disilicato de litio monolítico y coronas de zirconio monolítico). Los autores dan resultados favorables a medio plazo con una alta supervivencia del implante, tejidos duros y blandos estables y pocas complicaciones protésicas(20)(Figura 9). La fijación sin cemento ni tornillos proporciona un ajuste preciso entre la corona del implante y el pilar porque la superficie interna de la corona del implante se reviste con composite fluido durante el proceso de fabricación y requiere de una estructura hundida en la superficie oclusal del pilar llamada "orificio de aire", que se crea para distribuir uniformemente las tensiones sobre la superficie oclusal(46).



Figura 9. "Concepto Conométrico Acuris™" (Implantes Dentsply Sirona, Bensheim, Alemania)

3. TIPOS DE CEMENTOS

Las prótesis cementadas sobre implantes se han usado comúnmente por su simplicidad y rentabilidad. Los parámetros de salud periimplantarios son similares entre las prótesis atornilladas y cementadas, siempre que se elimine el exceso de cemento. Aunque la fabricación de las prótesis cementadas sobre implantes es sencilla y similar a las coronas sobre dientes, la retención de los cementos dentales varía para ambos tipos de prótesis(54).

El cemento de fosfato de zinc (FZ) se ha utilizado durante mucho tiempo para la cementación permanente y ha sido definido como el *gold* estándar para la comparativa de cementos en numerosos estudios. También son populares el ionómero de vidrio (IV), óxido de zinc eugenol (OZE), el ionómero de vidrio modificado con resina (IVMR), el policarboxilato (PCB) y numerosos cementos de resina que actualmente están disponibles para la cementación de prótesis fijas(55).



La selección de un material u otro dependerá de las características de los cementos dentales utilizados en implantología, y según el material del que estén fabricados el pilar o aditamento y la prótesis en sí. Aún no se ha desarrollado un cemento ideal y, actualmente, los criterios de selección utilizados dependen de las preferencias del clínico que los use (56).

Un cemento ideal debe tener las siguientes características(57):

- Biocompatibilidad
- Características mecánicas adecuadas, es decir, suficiente retención para resistir las fuerzas de desplazamiento durante la función, pero permitir la recuperación de la restauración cuando se requiere repararla
- Promoción de la salud de los tejidos
- Sellado marginal adecuado
- Resistencia a la disolución
- Radiopacidad
- Excelente estética
- Rentabilidad

Existen diversos sistemas de clasificación de los cementos en función de sus características, tales como la composición y las propiedades de unión química(56). La clasificación de los cementos dentales para cementar prótesis en pilares naturales no se aplica necesariamente a prótesis soportadas por implantes. Por ejemplo, mientras que el OZE se usa en cementaciones a corto plazo y durante la provisionalización sobre los dientes, proporciona suficiente retención para el cementado definitivo de coronas sobre implantes. De este modo, podríamos clasificar los cementos dentales como provisionales, semidefinitivos y definitivos(58) (Tabla 4).



CLASIFICACIÓN DE LOS CEMENTOS DENTALES		
PROVISIONAL	SEMIDEFINITIVO	DEFINITIVO
Óxido de zinc eugenol (OZE)	Fosfato de Zinc (FZ)	Ionómero de vidrio modificado con resina (IVMR)
Óxido de zinc sin eugenol (OZsinE)	Ionómero de Vidrio (IV)	Policarboxilato (PCB)
		Cementos de resina

Tabla 4: Clasificación de los cementos dentales(57).

3.1 Cementos provisionales

Los cementos provisionales son altamente solubles y muestran una débil resistencia a la tracción. Esto puede ser ventajoso al cementar una prótesis sobre implantes o al recementar una prótesis que se asocie a periimplantitis. Los cementos provisionales permiten la recuperación de las prótesis sobre implantes(59). Sin embargo, por el mismo motivo, estas prótesis pueden perder retención y descementarse cuando se usa cemento provisional. Tanto OZE como OZsinE se consideran cementos provisionales. Según la revisión sistemática de Ma y Fenton, el 17,6% de pérdida de retención de las prótesis sobre implantes ocurrieron cuando se usaron cementos provisionales(60). Los datos clínicos indican que es más fácil eliminar sus excesos que los de los cementos de resina(20). Las características de OZE y OZsinE se abordan en la Tabla 5.



TIPO DE CEMENTO	CARACTERÍSTICAS	VENTAJAS	INCONVENIENTES
OZE	Bactericida	Reducción significativa de patógenos periodontales	Formación de gap en la interfase prótesis-aditamento
	Soluble	Sin cemento residual, baja incidencia de periimplantitis	Descementaciones frecuentes
	Radiopaco	El exceso de cemento es detectado fácilmente	
	Baja adhesión a titanio	El exceso de cemento se elimina fácilmente	
	Baja resistencia a la tracción	Ideal para provisionalización	
	pH alto	Biocompatible	
	Sellado marginal excelente	Menor microfiltración bacteriana	
OZsinE	Ácidos orgánicos sustituyen al eugenol	Hipoalergénico	Más microfiltración
	Soluble	Elimina el efecto negativo del eugenol sobre la polimerización de la resina en cementados permanentes	Baja retención
	Baja resistencia a la tracción	Baja incidencia de periimplantitis	
	Bajos parámetros inflamatorios de los tejidos blandos		

Tabla 5. Características de los cementos provisionales para prótesis cementadas sobre implantes(57).



3.2 Cementos semidefinitivos

Los cementos semipermanentes o semidefinitivos proporcionan una retención suficiente a las prótesis para resistir los frecuentes descementados y permitir su recuperación si fuera necesario. El fosfato de zinc y el IV se consideran cementos semipermanentes cuando se usan con prótesis cementadas sobre implantes(59). Los cementos semidefinitivos reducen la incidencia de descementados en comparación con los cementos provisionales. Cuando un cemento tiene una resistencia a la tracción media entre provisionales y definitivos, se clasifica como cemento semidefinitivo. Un cemento definitivo, como el cemento de resina, puede hacerse semidefinitivo mezclándolo con vaselina. El fosfato de Zinc y el IV ofrecen un cierto grado de recuperación cuando se usan con pilares de titanio o zirconio(61). La revisión sistemática de Wittneben y Bragger demostró una tasa de descementado del 0% para las coronas cementadas sobre implantes con fosfato de Zinc(54). La Tabla 6 proporciona una descripción general de las características de los cementos semidefinitivos.

TIPO DE CEMENTO	CARACTERÍSTICAS	VENTAJAS	INCONVENIENTES
Fosfato de Zinc (FZ)	La resistencia a la tracción es menor que la de los IV pero mayor que OZ sin E	Menos incidencia de descementados que con los cementos provisionales	No recomendado para pilares cortos
	Baja viscosidad	Fluye fácilmente para mejorar la retención mecánica	Inadecuado sellado marginal
	No adherencia al titanio o a prótesis	Muy rígido, adecuado para zonas con grandes fuerzas oclusales	
	Módulo de elasticidad más alto	Estable dimensionalmente, no genera estrés en prótesis de cerámica sin metal	
	Alta solubilidad durante el tiempo de fraguado	Fácil detección de los excesos de cemento	
	Menos fluido	La eliminación de los excesos es la más fácil comparada con cementos de IV y cementos de resina	
	Radiopacidad más alta que otros cementos	Rentable, buena relación coste-efectividad	
	Barato		



Ionómero de vidrio (IV)	Adecuada fuerza de mecánica y adhesión a metal	Retención adecuada	Control inadecuado de la humedad, lo que produce microfiltraciones
	Manipulación crítica durante el tiempo de fraguado	Algunas marcas se pueden detectar radiográficamente (Ej. GC FujiTemp LT)	Microrroturas por sequedad excesiva durante el tiempo de fraguado
	Arrastres-deformación del material con el tiempo		Inestabilidad dimensional (no recomendado para coronas completas de cerámica/disilicato de litio)
	Alta absorción de agua		No recomendado en zonas sometidas a altas fuerzas oclusales
	Bajo módulo de elasticidad		
	Radiopaco		
	La retención aumenta con el tiempo debido a la continua polimerización		
	Barato		

Tabla 6. Características de los cementos semidefinitivos para prótesis cementadas sobre implantes(57).

3.3 Cementos definitivos

Después de una evaluación cuidadosa de la salud de los tejidos periimplantarios, los odontólogos cementan la prótesis indefinidamente. Los cementos definitivos deben tener características que eviten la aparición de cualquier complicación protésica; deben permitir la retención a largo plazo; deben perpetuar la salud periimplantaria y tener un resultado estético deseable. Los ionómeros de vidrio modificados con resina (IVMR), el policarboxilato de zinc (PCB), y los cementos de resina son cementos permanentes para cementado de prótesis sobre implantes. Una revisión sistemática realizada por Chaar y cols.(62) reveló una tasa de descementado de un 4% con estos cementos (Tabla 7).

Los cementos de resina a su vez pueden ser autopolimerizables o duales (auto y fotopolimerizables). La solubilidad marginal del cemento dental también se ve afectada por la afinidad del cemento para absorber agua. Los cementos de resina absorben agua, pero en menor medida que los convencionales. Este fenómeno depende de la composición química de la matriz, el tipo y la proporción de partículas de relleno, el grado de conversión de monómeros, la arquitectura molecular y nivel de humedad intraoral(55).



TIPO DE CEMENTO	CARACTERÍSTICAS	VENTAJAS	INCONVENIENTES
IVMR	Manipulación más fácil que con el IV convencional	Apto para zonas con altas fuerzas oclusales	Dimensionalmente menos estable (contraindicado en prótesis completas de cerámica)
	Aumenta la resistencia a la tracción y la fuerza de flexión gracias a la resina	Indicado para cementar metal, porcelana fusionada con metal, y cerámicas de alta resistencia	La eliminación del exceso de cemento es difícil si no se realiza rápidamente.
	Mejor fuerza inicial y menos solubilidad de IV	Menos microfiltración	
	Más absorción de agua	Los excesos de cemento se detectan fácilmente mediante radiografías	
	Radiopacidad parecida a esmalte	Excelente estética y capacidad retentiva	
	Existen diferentes tonos de color		
PCB de Zinc	Buena retención	Se puede usar en condiciones de retención no ideales, solo cuando el ajuste de la prótesis es perfecto	
	Alta solubilidad y media erosión a los ácidos	El exceso de cemento puede ser detectado	Tiene la mayor microfiltración de todos los cementos
	Fuerza cohesiva débil		Arenar el pilar o la prótesis no mejora la retención
	Deformación bajo presión		No recomendado para prótesis extensas
	Radiopaco a 0.5mm de espesor		No recomendado con pilares de titanio
	Comportamiento corrosivo del titanio		
Cementos de Resina	Insoluble y proporciona adhesión		Muy baja microfiltración
	Mayor retención	Indicado para pilares cortos	Su alta viscosidad puede evitar que la prótesis se posicione correctamente en su lugar, dando lugar a discrepancias marginales o a fracturas de la cerámica
	Alto módulo de elasticidad y fuerza de flexión	Excelente en sector posterior	La eliminación de los excesos es difícil después de que haya fraguado el cemento
	Fortalece las prótesis de cerámica	Menos fracturas de prótesis totalmente cerámicas	El exceso de cemento no se puede detectar radiográficamente
	Altamente viscoso	Excelente estética	
	Alta absorción de agua		
	Alta unión a titanio		
	Radiotransparente		

Tabla 7: Características de los cementos definitivos para prótesis cementadas sobre implantes(57).



3.4 Selección de los cementos para cementar prótesis sobre implantes

La selección del cemento dental adecuado se basa principalmente en la retención y resistencia a la tracción del material. Sin embargo, la estética se vuelve igualmente importante al restaurar dientes anteriores. La retención y la estética dependen de la interacción del cemento con el pilar o los materiales protésicos disponibles. Diversos estudios han evaluado la estética y la retención de varias combinaciones de pilar-prótesis en una búsqueda para determinar el cemento con mejor rendimiento para cada combinación(57).

Valor estético

La combinación de la selección de prótesis, cemento y pilar puede cambiar la apariencia del resultado final. Dede y cols.(63) probaron el efecto de 3 tonos diferentes de cementos de resina (translúcido, universal y blanco opaco) en la percepción visual de la prótesis final. El estudio usó discos para representar combinaciones de pilares disponibles y tonos de cemento cuando se usa con una corona de disilicato de litio. Los pilares probados eran de Zirconio, Oro-paladio y Titanio. De todas las combinaciones probadas, solo la combinación de Zirconio o pilares de oro-paladio con cementos de resina de color universal fue estéticamente aceptable.

Estabilidad del color

Las aminas terciarias son componentes de los cementos de resina autopolimerizables y duales, que activan la reacción química de polimerización. Sin embargo, también son responsables de la inestabilidad del color dentro de la resina. Aunque, es discutible si el cambio gradual de color en los cementos compuestos afecta el resultado estético a largo plazo de las prótesis cementadas(64).

Poder de retención

La resistencia a la tracción de un cemento determina el grado de retención. Los investigadores han probado con varias combinaciones de cementos, con pilares y prótesis. La retención de pilares de Titanio y Zirconio con varios cementos y materiales protésicos se revisan a continuación(57).



Pilares de Zirconio

-Disilicato de litio

Sellers y cols.(61) investigaron la retención de 6 cementos que cementan coronas de disilicato de litio totalmente cerámicas sobre pilares de Zirconio. Se utilizó un modelo de termociclado para simular el medio oral. El cemento más retentivo después del termociclado fue el cemento de resina (Multilink Hybrid Abutment). Sin embargo, la retención de 2 cementos de resina (Panavia 21 y RelyxUnicem) se redujo significativamente después del termociclado

-Zirconio

Rinke y cols. (65) estudiaron 42 coronas anteriores cementadas provisionalmente en pilares prefabricados de zirconio durante 7 años para evaluar la supervivencia y la tasa de complicaciones protésicas. Solo hubo 4 descementados en un período de 7 años. Se recomendó el uso de cemento provisional si hay una retención suficiente. Aunque, es preferible el cemento de resina si se puede lograr una eliminación completa del exceso de cemento.

Pilares de titanio

-Cromo-cobalto (Cr-Co)

Mehl y cols.(66) examinaron la retención de las piezas de Co-Cr cementadas sobre pilares de titanio utilizando varios tipos de cementos. La mayor retención se obtuvo con los cementos de resina. El PCB fue el segundo cemento más retentivo seguido del IV. Otro estudio confirma que los cementos de resina proporcionan más retención para el Cr-Co en comparación con IV(67).

-Zirconio

Schiessl y cols. (68) investigaron la retención de 2 materiales protésicos, Cr-Co y zirconio cementados sobre pilares de titanio utilizando PCB, FZ, OZsinE, OZE, IV, y cementos de resina. En este estudio, PCB ofreció la mayor retención para Cr-Co. Se observó que la



retención de la cofia de zirconio era similar cuando se usaban FZ, OZsinE, OZE, IV y cementos de resina.

-Oro

Se evaluó la retención de cofias de oro cementadas con cemento de resina en relación con las diferentes alturas de los pilares mejorado la cantidad de retención. En este estudio, una superficie de pilar más grande mejoró su cantidad de retención. Además, las cofias se cementaron con éxito para pilares de titanio de tan solo 5 mm con cemento de resina(69).

-Porcelana fusionada con metal (PFM)

Woelber y cols. (70) realizaron un estudio retrospectivo para evaluar la retención de prótesis de PFM cementadas a pilares de titanio con OZE. La tasa de descementado fue de 8.8% en un periodo medio de 9,3 años. Los investigadores recomendaron OZE como una opción viable para retener PFM a los pilares de titanio. Por otro lado, Rinke y cols. (71) examinaron las complicaciones protésicas de 112 coronas individuales de PFM retenido por OZE y no recomendaron OZE para retener PFM debido a la alta tasa de descementado. Además, Worni y cols. (72) probaron la retención de varios agentes de fijación en combinación con 2 alturas de pilar diferentes. Los resultados de este estudio sugirieron que el tipo de cemento utilizado fue más influyente que la altura del pilar. Entre los cementos probados, PCB (Durelon, 3M ESPE) y el cemento de resina (Improv, Alvelogro) proporcionaron la mayor retención para coronas PFM apoyado por pilares de titanio.

Sobre la base de estos estudios mencionados anteriormente y otros artículos relacionados, una guía de selección de cemento propuesta basada en la combinación del pilar y la prótesis deseada se resume en la Tabla 8



TIPO DE RESTAURACIÓN	Corona PFM	Corona Zirconio	Corona cerámica	Corona de oro	Corona de Cr-Co
Pilar de oro/UCLA	OZE/ cemento de resina	-	Cemento de resina	Cemento temporal de Hidróxido de Calcio	-
Pilar de Titanio	PCB/ Cemento de resina	PCB / IV/ Cemento de resina	OZE	Cemento de resina	PCB/IV/ Cemento de resina
Pilar de Zirconio	IV/ Cemento de resina	Cemento de resina	Cementos de resina/ OZE	-	-
Pilar cerámico	-	Cemento de resina	Cemento de resina	-	-

Tabla 8. Tipos de cemento elegidos basándose en la combinación pilar-prótesis(57)

4. FRACASO/ COMPLICACIONES DE IMPLANTES

Una complicación es definida en el Glosario de los Implantes Orales y Maxilofaciales como “una desviación inesperada del resultado normal del tratamiento. Generalmente se clasifica básicamente como técnica o biológica, pero puede incluir, complicación quirúrgica, hemorragia, daño al nervio alveolar inferior, infección, cicatrización tardía de la herida o falta de osteointegración”(73).

Tanto las coronas unitarias como las prótesis soportadas por implantes sufren de diferentes tipos de complicaciones que conducen a la necesidad de tratamiento correctivo, lo que aumenta el tiempo total de consulta y los costos del tratamiento. Como consecuencia, puede producirse una reducción de la satisfacción general de la prótesis(74).



Las *complicaciones técnicas* incluyen: fractura de implante, fractura de pilar, fractura de la porcelana, aflojamiento de los tornillos o el pilar o la pérdida de retención(74). Las prótesis dentales fijas atornilladas sobre implantes demostraron una tasa significativamente mayor de complicaciones técnicas que las cementadas (73).

Las *complicaciones biológicas* incluyen: periimplantitis y pérdida ósea marginal, signos de inflamación (dolor, enrojecimiento, hinchazón y sangrado) o complicaciones de tejidos blandos, como fístula, gingivitis o hiperplasia(75) (Figuras 10 y 11).

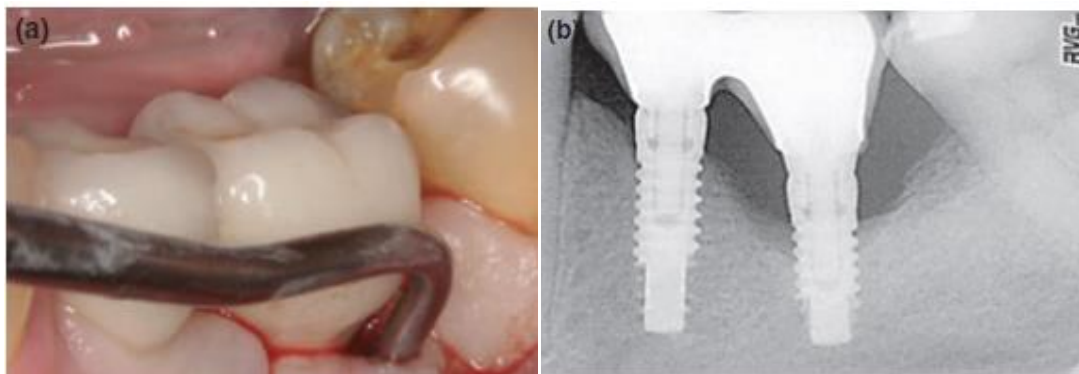


Figura 10. Sondaje de un implante con periimplantitis (a). Evidencia radiográfica de la progresiva pérdida de hueso (b) (76).



Figura11. Corona unitaria sobre implantes que presenta inflamación en los tejidos periimplantarios(77).



4.1 Complicaciones periimplantarias y su relación con el exceso de cemento

Como ya hemos señalado, se puede producir una pérdida ósea asociada a periimplantitis tras colocar restauraciones sobre implantes, siendo esto una de las complicaciones biológicas más comunes. Algunas revisiones sistemáticas han encontrado que entre un 8.6–14.4% de los implantes restaurados son propensos a desarrollar periimplantitis en un período de 5 años (76). Además, parece que a pesar de su tratamiento meticuloso, la periimplantitis aún puede conducir a la pérdida de los implantes. Hay una fuerte evidencia de que las bacterias son el factor etiológico clave en el desarrollo de la periimplantitis. Sin embargo, los factores de riesgo predisponentes, como haber tenido antecedentes de infección periodontal, el tabaco, la genética o la mala higiene bucal son factores que también se discuten ampliamente en la literatura(78). Wilson en 2009 (79) también afirmó que el cemento residual puede actuar como uno de los factores predisponentes para el desarrollo de periimplantitis. El estudio sugirió que alrededor del 81% de los implantes restaurados con restauraciones cementadas con signos clínicos y radiológicos de periimplantitis tenían cemento residual extracoronal (Figura 12).



Figura 12. Tejidos periimplantarios con remanentes de cemento después de quitar una restauración fracturada(76)

Otro estudio mostró que al usar restauraciones cementadas sobre implantes a menudo se dejan restos de cemento en los tejidos periimplantarios(80). El hallazgo más intrigante del estudio de Wilson fue que los tejidos periimplantarios mostraron una reacción variada al cemento residual extracoronal. Las manifestaciones de la enfermedad ocurrieron desde los 4

meses hasta los 9 años después de la colocación de la prótesis. Se ha demostrado que la pérdida ósea relacionada con el cemento puede ocurrir con mucha rapidez; aunque en algunos casos, se retrasa, y además algunos pacientes pueden ser completamente resistentes al desarrollo de periimplantitis. Los motivos de estas diferencias aún no se han identificado(79) (Figura 13).

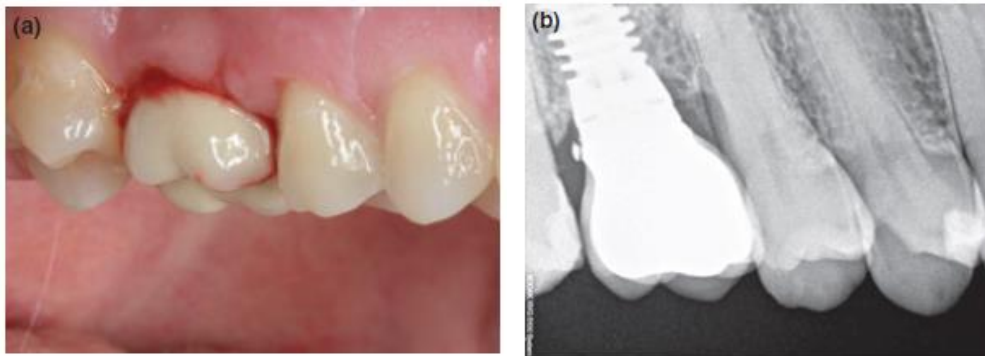


Figura 13. Sangrado e inflamación de los tejidos periimplantarios alrededor de una prótesis cementada (a). Imagen radiográfica de perimucositis. Se observan restos de cemento y pérdida de hueso marginal (b)(76).

Se ha demostrado que la enfermedad periimplantaria está asociada con el cemento residual, en particular en pacientes con predisposición a la enfermedad periodontal. Los restos de cemento en pacientes sin antecedentes de periodontitis suelen causar enfermedad periimplantaria menos grave o puede que no se produzca periimplantitis. Los restos de cemento deben considerarse como un factor predisponente adicional en el desarrollo de enfermedades periimplantarias crónicas. Por lo que en pacientes susceptibles a la periodontitis se debe considerar como la mejor alternativa las restauraciones sobre implantes atornilladas en vez de cementadas (76).

La colonización bacteriana de los restos de cemento se ha confirmado en varios estudios in vitro. Wilson afirmó que no hubo una relación aparente entre el tipo de cemento utilizado y la presencia de enfermedad periimplantaria(79). Sin embargo, Korsch(81)en un estudio más reciente afirma que los cementos a base de metacrilato parecen ser más propensos a la colonización por bacterias patógenas que los cementos a base de OZE. Las superestructuras



que se fijaron a implantes con cemento a base de metacrilato dan lugar a un aumento de la hemorragia al sondaje, supuración, y pérdida ósea periimplantaria.

En pacientes con periimplantitis asociada a cemento, la eliminación del exceso de cemento del surco eliminará la periimplantitis en aproximadamente el 75% de los casos. Estos estudios, sin embargo, cubren un período de observación de no más de 3 a 4 semanas después de la eliminación del cemento. Hay indicios de que ciertos cementos podrían provocar inflamación periimplantaria incluso en ausencia de exceso cemento. Por lo tanto, no está clara la influencia, a largo plazo, que la eliminación del exceso de cemento tendrá en el tejido periimplantario. Por otro lado, la instrumentación del pilar utilizando curetas y escarificadores puede comprometer su superficie y puede favorecer nuevamente la formación de una biopelícula(81).

Cuando se observan los márgenes del pilar bajo el margen mucoso, incluso después de intentar una cuidadosa remoción de estos, los restos de cemento siempre están presentes, independientemente de la experiencia del clínico y de los instrumentos utilizados (Figura 14). Estudios in vitro e in vivo demuestran que la profundidad de la interfase corona-pilar de los pilares del mercado influyen negativamente en la capacidad de eliminar el exceso de cemento(76, 80). Como ya sabemos, una de las desventajas de las prótesis cementadas es la dificultad o la imposibilidad de retirar la restauración en caso de complicaciones, sin dañarla ni destruirla, siendo el principal beneficio de las reconstrucciones atornilladas su capacidad de recuperación. Mientras que la mayoría de los datos disponibles en los estudios se refieren a pilares prefabricados disponibles en el mercado, se sabe poco sobre la incidencia de los residuos de cemento en pilares personalizados fabricados por ordenador (CAD / CAM). Gerhke y cols.(20) en una investigación in vitro, afirman que el margen de los pilares de los molares fabricados con CAD / CAM debe ubicarse lo más coronalmente posible para minimizar la cantidad de restos de cemento. Si la ubicación ideal del margen no es factible debido a las consideraciones estéticas, no se puede recomendar colocar el margen de pilares los molares más profundo de 1.5 mm en las regiones interproximales.

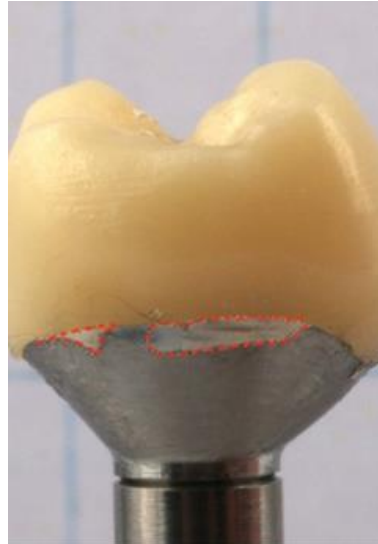


Figura14: En rojo se observa el área cubierta con cemento remanente en el margen interproximal entre el pilar y la corona(20).

Como ya hemos mencionado, el exceso de cemento no detectado causará inflamación periimplantaria asociada a este cemento en aproximadamente el 80% de los implantes. Por esta razón, se han realizado muchos estudios cuyo objetivo es evitar este cemento remanente. Una opción para la consecución de este objetivo es la modificación de la restauración dental. Además los orificios de drenaje en el pilar y la infraestructura pueden reducir la cantidad de exceso de cemento después de la cementación. Otras publicaciones describen protocolos de cementación que minimizan el riesgo de exceso de cemento submucoso y recomiendan que durante la cementación las superestructuras solo se llenen parcialmente, no completamente. La cementación extraoral temporal con pilares de implantes duplicados puede reducir notablemente el exceso de cemento cuando la restauración dental se inserta inmediatamente en la boca antes de que el cemento se haya endurecido completamente. Sin embargo, ninguno de estos protocolos eliminará el riesgo por completo (81).

Las técnicas de cementación adecuadas aseguran una retención correcta de la prótesis y disminuyen la incidencia de posibles complicaciones. Todas las técnicas deben ser realizadas para minimizar el exceso de extrusión de cemento durante el asentamiento de las prótesis. Por lo tanto, las prótesis nunca deben llenarse completamente durante la cementación ya que aumentarían el gap entre el pilar y la corona y esto probablemente dará como resultado

la extrusión de cemento en el tejido gingival(82). Además, los márgenes de la corona deben ser inferiores a 2 mm apicales a la cresta gingival para permitir la detección y eliminación del exceso de cemento. A continuación, vamos a resumir diversos métodos que se han recomendado para cementar las prótesis soportadas por implantes con el objetivo común de limitar el exceso de cemento y previniendo así la periimplantitis asociada a cemento (83) La Figura 15 muestra un caso clínico de mucositis periimplantaria inducida por cemento.



Figura15: Mucositis periimplantaria inducida por cemento (A). Excesos de cemento siendo eliminados (B). Tejido blando curado a las dos semanas y desaparición de la inflamación (C) (57).

5-FORMAS DE LIMITAR EL EXCESO DE CEMENTO

- Recubrimiento incompleto del hueco interno de la prótesis

Una de las técnicas propuestas para minimizar el exceso de cemento en el tejido periimplantario es recubrir con el cemento solo la mitad coronal del hueco interno de las prótesis. Se cree que este modo de cementación es beneficioso para prevenir el asentamiento incompleto de las prótesis(84). Sin embargo, podría provocar una zona sin cemento y una microfiltración bacteriana en la interfase corona-pilar. Por lo tanto, los clínicos pueden optar por cubrir solo la mitad apical (no la coronal) del hueco de las prótesis para evitar este problema, siendo este método tan efectivo como el recubrimiento completo(85)(Figura 16).



Figura 16. Proceso de cementado de corona unitaria sobre implante(20)

- Presentación protésica extraoral con un pilar análogo del pilar definitivo.

La técnica de presentación extraoral implica el uso de una réplica (análogo de pilar), en el que se presenta la prótesis. Se aplica el cemento y la prótesis se coloca en el pilar análogo primero, por lo que nos permitirá poder limpiar correctamente los excesos. Una vez eliminados los excesos, en el interior de la corona solo quedará el cemento indispensable que nos permitirá cementar la prótesis intraoralmente con menor riesgo de que queden remanentes (86). Santosa y cols. (87) compararon la retención lograda por las técnicas convencionales de cementación y usando los pilares análogos con los cementos OZsinE e IVMR y no se hallaron diferencias en cuando a la retención de los dos cementos al comparar ambos métodos de retención. Sin embargo, la cementación extraoral minimizó significativamente el exceso de cemento(88). La Figura 17 muestra las imágenes de un estudio en el que se analiza el sellado marginal con esta técnica, observando la cantidad de cemento desbordado según la reducción de la altura y radio de los pilares de precementación realizados con CAD-CAM, donde observamos la cementación convencional (CC), la cementación con el uso de un pilar de precementación con una disminución de 25 μm en su radio y altura(R25), de 50 μm (R50) y de 75 μm (R75) (88).

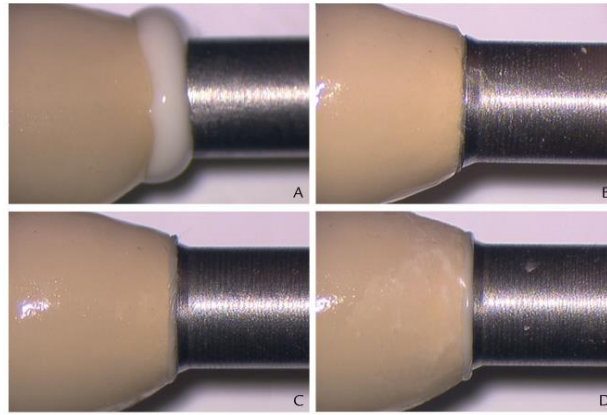


Figura 17. Extenso desbordamiento de cemento alrededor del margen de la corona y el pilar (A). R25: no se observó desbordamiento de cemento (B). R50 (C). R75 (D). En C y D se va observando una cantidad mayor de exceso de cemento (88).

- Creación de un orificio de ventilación como depósito de cemento

Otro método probado para reducir el exceso de cemento es crear un orificio de ventilación en las prótesis(89) (Figura 18). Esto proporciona un canal para el escape de cemento, lo que limita el exceso de cemento en el tejido periimplantario. Algunos prostodoncistas optan por dejar el canal de acceso de tornillo abierto como depósito para el exceso de cemento. Jiménez y Vargas-Koudriavtsev(90) midieron la cantidad de exceso de cemento OZsinE utilizado en 3 protocolos de cementación diferentes: creando un orificio de ventilación en la corona, dejando abierto el canal del tornillo, o utilizando una técnica de precementado, como ya hemos visto. Los 3 métodos reducen el exceso de cemento. Los investigadores recomendaron un orificio de ventilación o canal de acceso del tornillo abierto porque ambos reducen la cantidad de exceso de cemento mientras se mantiene una retención aceptable.



Figura18: Realización de un orificio de ventilación en la cofia de una corona usando una fresa de alta velocidad de carburo (90)

- Cementación extraoral (Coronas cemento-atornilladas)

Otro método utilizado para limitar el exceso de cemento en el tejido periimplantario es la realización de prótesis cemento-atornilladas. Esto se logra al cementar las prótesis de forma extraoral, limpiando cualquier exceso de cemento, luego atornillar la combinación prótesis-pilar al implante. Las coronas cemento-atornilladas combinan las ventajas de la retención de tornillos y la retención de cemento, permiten la recuperación de las coronas cuando sea necesario y eliminan el riesgo de exceso de cemento siempre y cuando se limpie adecuadamente en el proceso extraoral(91)(Figuras 19 y 20).



Figura19: Corona cemento-atornillada



Figura 20: Proceso de cementado extraoral de corona cemento-atornillada

- Técnica de preparación biológicamente orientada (BOPT)

La técnica BOPT es un tipo de preparación sin línea de terminación. Este protocolo elimina el perfil de emergencia anatómico de la corona, creando una nueva corona anatómica con un perfil de emergencia protésico que simula la forma de un diente natural. El éxito a largo plazo de los implantes es determinado parcialmente por el collar de tejido blando que rodea el cuello del implante y la restauración, lo que promueve un sellado efectivo que protege de la invasión bacteriana y de posibles inflamaciones futuras. Con la técnica de preparación BOPT se mejora el diseño y el comportamiento del tejido periimplantario, ya que se elimina el gap entre la restauración y la línea de terminación al final del pilar transepitelial. Esto deja la porción apical del pilar sin cubrir por la restauración protésica por al menos 2 mm para estabilizar el tejido conectivo adyacente. Se recomienda una anchura de la mucosa periimplantaria mínima que es necesaria para proteger la osteointegración tras la colocación del pilar y de la corona de los implantes. Con el diseño de las prótesis cementadas BOPT se obtiene una mayor anchura de la mucosa queratinizada alrededor del implante, menos profundidad de sondaje y una menor incidencia de sangrado al sondaje tras 3 años de carga funcional de los implantes, en comparación con las coronas cemento atornilladas y con las coronas cementadas de manera convencional (Figura 21). Además no tuvieron ninguna complicación ni mecánica ni biológica(77).

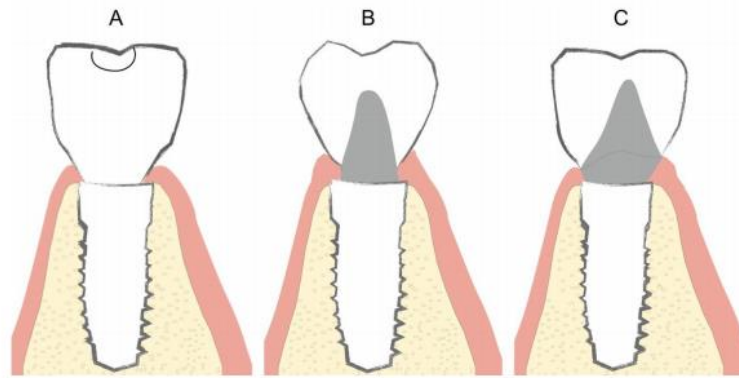


Figura 21. Tres tipos de restauraciones. A) Corona atornillada. B) Corona cementada sin línea de terminación (BOPT), C) Corona cementada convencional sin línea de terminación (77).

Entre los métodos mencionados anteriormente, la utilización de un pilar análogo proporcionó la menor cantidad de exceso de cemento. La técnica de coronas cemento-atornilladas es aconsejable cuando se utiliza un cemento con suficiente retención y difícil eliminación del exceso de cemento (p. ej. los cementos de resina), especialmente si los márgenes de la prótesis están 3 mm por debajo de la cresta gingival (57).

El exceso de cemento debe eliminarse inmediatamente después de la cementación con curetas, hilo dental o sondas. Una radiografía puede confirmar el asentamiento de la prótesis y permite detectar grandes trozos de exceso de cemento. Además, todos los pacientes con una prótesis cementada sobre implantes debe acudir de manera rutinaria para su seguimiento exhaustivo(92).

Para ayudar a la eliminación de cemento es vital que el odontólogo use magnificación mediante microscopio o lupas de aumento, para poder localizar más fácilmente los excesos de cemento, ya que el tiempo que el cemento está presente junto a los tejidos periimplantarios está directamente relacionado con el nivel de inflamación, supuración y destrucción periodontal(93).



Figura 22: Pilar con exceso de cemento no detectado (flecha) después de su extracción (A). Radiografía, en el momento de la revisión, que muestra el nivel óseo periimplantario (flecha) en el segundo molar superior izquierdo (B) (93).

6 -EVALUACIÓN DE LA BIOCOMPATIBILIDAD DE LOS PRODUCTOS SANITARIOS UTILIZADOS EN ODONTOLOGÍA

La norma oficial, en español, de la Norma Europea EN ISO 7405:2008, que a su vez adopta la Norma Internacional ISO 7405:2008, elaborada por el comité técnico AEN/CTN 106 *Odontología* cuya secretaría desempeña el FENIN: denominada “Odontología: Evaluación de la biocompatibilidad de los productos sanitarios utilizados en odontología” (94) especifica los métodos de ensayo utilizados en la evaluación de los efectos biológicos de los productos sanitarios que se utilizan en odontología. Según la citada norma, encontramos diferentes definiciones:

Un producto sanitario se define como cualquier instrumento, dispositivo, equipo, software, material u otros artículos, que se utilicen tanto solos o en combinación, junto con otros accesorios, para ser utilizados como fines médicos sobre seres humanos con la finalidad de realizar:

- diagnóstico, prevención, control, tratamiento o alivio de enfermedades;
- diagnóstico, control, tratamiento, alivio o compensación de una lesión o deficiencia;
- investigación, sustitución o modificación de la anatomía o de un proceso fisiológico;



-control de la concepción;

Y que no ejerza su acción principal prevista en o sobre el cuerpo humano por medios farmacológicos, inmunológicos o metabólicos, pero que puede ser ayudado en su función con tales medios.

Un material dental es una sustancia o combinación de sustancias especialmente formuladas y preparadas para ser utilizadas en la práctica odontológica y/o en procedimientos asociados a la misma.

Un producto final es un producto sanitario en su estado de “listo para ser utilizado”. Esto incluye muchos materiales dentales que se utilizan recién mezclados, y la evaluación de los materiales se debería considerar tanto en la condición de recién mezclados como después de fraguados.

Un control positivo o material de control positivo, es un material y/o sustancia bien caracterizada que, cuando se evalúa mediante un método de ensayo específico, demuestra la idoneidad del sistema de ensayo para dar una respuesta reproducible, adecuadamente positiva o reactiva, en el sistema de ensayo.

Un control negativo o material de control negativo es cualquier material y/o sustancia bien caracterizada que, cuando se evalúa mediante un método de ensayo específico, demuestra la idoneidad del sistema de ensayo para dar una respuesta reproducible, adecuadamente negativa, no reactiva o mínima, en el sistema de ensayo.

Esta norma, además, clasifica los productos sanitarios de la siguiente manera(94):

1-Clasificación por la naturaleza del contacto

a) Productos sin contacto: no entran en contacto directo o indirecto con el cuerpo del paciente. No incluidos en la norma ISO 10993-1

b) Productos con contacto en la superficie: se incluyen los productos que entran en contacto con piel intacta, piel erosionada o comprometida de otra manera, con superficie de



mucosa oral intacta, erosionada o comprometida de otra manera, y los que entran en contacto con superficies externas de tejido duro dental, incluyendo el esmalte, la dentina y el cemento dental.

c) Productos de comunicación externa: en estos productos se incluyen los productos dentales que penetran y están en contacto con la mucosa oral, con los tejidos duros dentales, con el tejido pulpo dental o con el hueso, o con cualquier combinación de estos, y que están expuestos al entorno bucal. Este grupo también incluye cualquier tipo de material de revestimiento o de base que se utilice bajo una restauración.

d) Productos para implantes utilizados en odontología: En estos se incluyen los implantes dentales y otros productos dentales que están parcial o totalmente embebidos en uno o más de los sistemas siguientes: tejido blando, como implantes subperiósticos o subdermales; hueso, como implantes endoóseos y sustitutos de hueso; sistema pulpo-dental del diente, por ejemplo, materiales endodónticos; cualquier combinación de estos, como implantes transóseos.

2-Clasificación por la duración del contacto

- a) Productos de exposición limitada: productos cuya utilización o contacto sencillo o múltiple probablemente sea de hasta 24 horas
- b) Productos de exposición prolongada: productos cuya utilización o contacto sencillo, múltiple o a largo plazo probablemente sea superior a 24 horas, pero no excede de 30 días.
- c) Productos de contacto permanente: productos cuya utilización o contacto sencillo, múltiple o a largo plazo es superior a 30 días.

Proceso de evaluación biológica

Cada producto sanitario utilizado en odontología se debe someter a un programa estructurado de evaluación biológica contemplado dentro de un proceso de gestión de riesgos. La selección de los ensayos usados para tal fin y la evaluación global de sus resultados debe ser realizada por un experto que tenga los apropiados datos químicos, físicos y biológicos relativos al producto y que conozca las condiciones de utilización previstas. La selección de los métodos de ensayo se debe basar en la consideración de: el



uso previsto del producto sanitario; el o los tejidos con los que el producto sanitario puede entrar en contacto y la duración del contacto

Los tipos de ensayo se dividen en 3 grupos:

-Grupo 1: ensayos de citotoxicidad in vitro que incluyen: ensayo de difusión en agar, ensayo de difusión en filtros, ensayos de contacto directo o de un extracto de acuerdo a la Norma ISO 10993-5, ensayo de citotoxicidad de barrera de dentina y modelos de placas de diente.

-Grupo 2: ensayos de toxicidad sistemática aguda (aplicación oral o por inhalación), ensayos de toxicidad sistemática subaguda y subcrónica, irritación de la piel y reactividad intracutánea, hipersensibilidad de tipo retardada, genotoxicidad, efectos locales después de la implantación.

-Grupo 3: ensayo de utilización en pulpa y dentina, ensayo de recubrimiento pulpar, ensayo de utilización endodóntico(94)

El término citotoxicidad se utiliza para describir los eventos de la cascada molecular que por alguna causa se ven interrumpidos e interfieren en la síntesis de macromoléculas provocando daño celular, estructural y funcional. Este trabajo se centra en las pruebas de citotoxicidad, en estas pruebas se valoran las reacciones celulares de manera morfológica o cuantitativa basadas en la presencia o ausencia de indicadores evaluables como la viabilidad, la proliferación y la funcionalidad celular. Como es el caso de la apoptosis, la adhesión, la migración y la secreción de sustancias. Estas pruebas son útiles ya que clínicamente los tejidos dañados tienen un menor número de células viables y, por tanto, menor rango metabólico y de proliferación(95).

Los cementos permanentes usados en implantología se colocan en la cavidad oral cuando todavía no han fraguado y por este motivo, durante un periodo corto de tiempo sus componentes provocan una respuesta local cuando han reaccionado parcialmente o aún no han reaccionado. Tras el tiempo de fraguado, la liberación de parte de sus componentes aún puede ser potencialmente tóxica, ya sea por contacto con los fluidos tisulares, por corrosión o debido a sus propiedades, siendo este el motivo por el que es tan importante testarlos antes de utilizarlos de manera cotidiana en la práctica clínica (96).



7 -FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS

Los fibroblastos son el principal tipo de célula presente en los tejidos conectivos. Dado que sus funciones principales son mantener la matriz extracelular y promover una respuesta inflamatoria, los fibroblastos pueden considerarse unas células clave en el proceso de curación de las heridas. Curiosamente, la mucosa oral muestra una cicatrización más rápida de las heridas y una formación de cicatrices significativamente reducida en comparación con la piel. Las características superiores de cicatrización de las heridas de la mucosa oral pueden atribuirse en parte a los fibroblastos orales. Ya se ha demostrado *in vitro* que los fibroblastos orales proliferan y migran más que los fibroblastos de la piel. Por lo tanto, la investigación sobre los mecanismos que regulan la proliferación y migración de fibroblastos orales y su respuesta inflamatoria al trauma es de interés para futuras terapias de curación de heridas y regenerativas (97).

El principal tipo de células en los tejidos blandos periimplantarios son los fibroblastos gingivales humanos. Los fibroblastos sintetizan y mantienen los componentes de la matriz extracelular, participan en el mantenimiento de la homeostasis del tejido conectivo y son los responsables de la reparación y la regeneración de los tejidos en el proceso de curación. Los fibroblastos juegan un papel importante en el establecimiento y mantenimiento del sellado mucoso de los implantes. Algunas investigaciones han sugerido que la modificación de la superficie de los implantes influye significativamente en el comportamiento de los fibroblastos, como la adhesión, la proliferación, la morfología y diferenciación, lo que desencadena una reacción del tejido blando en la superficie del implante (98).

Alrededor de dientes e implantes, el epitelio de unión y los fibroblastos gingivales del tejido conectivo proporcionan un sellado entre la cavidad oral y el hueso mediante hemidesmosomas, evitando así que las bacterias y las toxinas bacterianas migren a lo largo de la interfase entre los tejidos blandos y las reconstrucciones. El cemento y los materiales restauradores, que están en contacto con tejidos blandos, por lo tanto, deben promover la adhesión y crecimiento de los fibroblastos al mismo tiempo que impiden la formación



extensa de biopelículas. Estudios in vitro con fibroblastos gingivales humanos se realizan comúnmente, como ya hemos mencionado, para evaluar la biocompatibilidad de los componentes de los implantes (99) y otros materiales dentales como adhesivos de prótesis(100), cementos para cementar prótesis definitivas(101) o materiales de restauración(102).



JUSTIFICACIÓN CLÍNICA



II- JUSTIFICACIÓN CLÍNICA

Cuando se colocan prótesis cementadas sobre implantes se usan diversas variedades de cementos, siendo uno de los tipos más usados en la actualidad, por adherir bien a numerosas superficies, los cementos de resina. Estos materiales quedan bloqueados debajo de las restauraciones, debido a que la eliminación de su extrusión es muy complicada, por eso estos materiales quedan en íntimo contacto con los tejidos gingivales, volviéndose la biocompatibilidad una de las características indispensables para estos productos.

En el mercado actual podemos encontrar numerosos tipos de cementos y la aparición de nuevas formulaciones de los mismos está al orden del día. Los materiales que surgen intentan combinar propiedades y características de otros ya establecidos, con nuevas y prometedoras propiedades. La constante evolución de estos materiales requiere de una investigación adecuada para decretar tanto las indicaciones como las limitaciones que puedan representar para la práctica clínica. Como se viene haciendo tiempo atrás y de manera ya establecida, el análisis de las propiedades físico-químicas, mecánicas y por supuesto, los estudios de biocompatibilidad, son necesarios para conseguir despejar cualquier duda que pueda cuestionar su utilización.

Con este estudio se pretende analizar las propiedades de biocompatibilidad de estos cementos utilizando fibroblastos gingivales humanos, ya que son las células que quedan más próximas a la zona de actuación de los materiales que nos ocupan.



OBJETIVOS



III-OBJETIVOS

Objetivo principal:

Determinar los efectos biológicos de cuatro cementos comerciales (RelyxUnicem 2, Panavia V5, Multilink Hybrid Abutment y SoloCem), utilizados en implantología sobre fibroblastos gingivales humanos.

Objetivos secundarios:

- Evaluar la proliferación y viabilidad celular de los fibroblastos gingivales humanos en contacto con los cementos de resina
- Estudiar la migración celular de los fibroblastos en presencia de los cementos de estudio.
- Observar la morfología celular de los fibroblastos en contacto directo con los cementos, mediante la obtención de imágenes de fluorescencia.
- Analizar imágenes microscópicas de las características y superficies de los cementos
- Valorar el número de especies reactivas de oxígeno producidas tras la aplicación de los distintos cementos.



MATERIAL Y MÉTODOS



IV- MATERIAL Y MÉTODOS

1. MATERIALES

1.1 CEMENTOS.

Los biomateriales utilizados en este estudio fueron dos cementos de polimerización dual: Relyx Unicem 2 (RU) y Panavia V5 (PV5); y dos cementos de autopolimerización: Multilink Hybrid Abutment (MHA) y SoloCem (SC).cuyas composiciones químicas y propiedades se muestran en la Tabla 9.

MATERIAL	TIPO	FABRICANTE	COMPOSICIÓN	NÚMERO DE LOTE
Relyx Unicem 2®	Polimerización dual	3M, Seefeld, Germany	Ésteres fosfóricos metacrilados, monómero de metacrilato, rellenos de DMA, rellenos silanados, 72 % en peso/54 % volumen de cargas.	5867714
Panavia V5®	Polimerización dual	Kuraray Medical Inc., Sakazu, Kurashiki, Okayama, Japan	<u>Pasta A:</u> Bis-GMA, TEGDMA, dimetacrilato aromático hidrofóbico, dimetacrilato alifático hidrofílico, relleno de vidrio de barrio silanado, relleno de vidrio de fluoroalminosilicato, sílice coloidal, acelerador, iniciador. <u>Pasta B:</u> Bis-GMA, dimetacrilato aromático hidrofóbico, dimetacrilato alifático hidrofílico, relleno de de vidrio de barrio silanado, relleno de óxido de aluminio silanado, relleno de óxido de aluminio silanado, acelerador, dl-alcanforquinona, pigmentos.	450101
Multilink Hybrid Abutment®	Auto-curación	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein	Monómero matrix: dimetacrilato, HEMA rellenos inorgánicos (aprox. 36%): vidrio de bario, trifluoruro de iterbio, óxido mixto esferoide, óxido de titanio.	Y31604
SoloCem®	Auto-polimerización	Coltene/Whaled ent, Altstaetten, Switzerland	UDMA, TEGDMA, 4-META, 2-HEMA, DBP; BP	J46204

Tabla 9. Composición química y propiedades de los biomateriales testados.



En la Figura 23 podemos observar las presentaciones comerciales de los cuatro cementos utilizados en este estudio.



Figura 23: Presentación comercial de los 4 cementos usados en el estudio

1.2 PREPARACIÓN DE LOS MATERIALES

Para que las condiciones de este estudio in vitro fueran lo más parecidas posible a la realidad, y puesto que los cementos iban a estar en contacto con el tejido gingival y son materiales que fraguarían junto a las células gingivales, se eligió el método de elución, en el que se extrae un eluato o extracto mediante un disolvente que entra en contacto con el material, al que llamamos eluente. La preparación de los extractos de los distintos materiales se realizó siguiendo el protocolo estándar establecido en las normas ISO 10993-5 para test de citotoxicidad in vitro(94).

Los cementos fueron preparados según las instrucciones del fabricante y depositados en moldes cilíndricos de 5 mm de diámetro (40 discos de cada cemento). Posteriormente, Relyx y Panavia fueron auto-polimerizados 30 segundos y polimerizados con luz mediante la lámpara Bluephase G4 (IvoclarVivadent, Schaan, Liechtenstein) durante 20 segundos cada uno a 515 nm y 1200 mW/cm², mientras que Multilink y SoloCem fueron depositados en moldes cilíndricos hasta su completa polimerización. A continuación, las muestras fueron



desinfectadas mediante exposición bajo una lámpara de luz ultravioleta durante 20 minutos y depositadas en medios de cultivo (DMEM Gibco, Thermo Fischer Scientific, Carlsbad, CA, Estados Unidos) durante 24h a 37°C, 5% CO₂ y humedad atmosférica. Se siguieron también las normas de la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) guía 10993/12 para la evaluación biológica de dispositivos médicos, preparación de muestras y materiales(103). Posteriormente, antes del uso en cultivo celular, los diferentes extractos de los cementos fueron recogidos con una jeringa estéril y filtrados, para eliminar residuos, a través de un filtro con un tamaño de partícula 0.22 µm. De este modo se obtuvo un resultante a concentración total (1:1) y se realizan diluciones del mismo (dilución 1:2 y dilución 1:4).

2. AISLAMIENTO Y CULTIVO CELULAR

Los fibroblastos gingivales humanos se obtuvieron del tejido gingival que se extrajo unido a cordales inferiores impactados en el momento de su extracción (n=10), de acuerdo con el comité de ética de la Universidad de Murcia (UM; ID: 2199/2018) (Anexo I). Todos los participantes fueron informados por escrito, dando así su consentimiento para participar en el proyecto de investigación (Anexo II). Inmediatamente tras la extracción de los dientes incluidos, estos se depositaron en un tubo tipo Falcon con un medio de cultivo que constaba de Minimum Essential Medium Eagle (MEM; Sigma-Aldrich), una mezcla antibiótica (100 unidades/ml de penicilina y 100µg/ml de estreptomina; Sigma-Aldrich) y antifúngicos (250 unidades/ml de anfotericina b; Sigma-Aldrich). Las muestras fueron conservadas a una temperatura entre 4-8°C y se procesaron antes de que transcurrieran 12 horas.

Extracción del tejido gingival

Durante la extracción del tejido gingival se trabajó en condiciones de esterilidad, haciendo uso de una cabina de seguridad biológica vertical tipo II con filtro HEPA (Telstar) (Figura 24).



Figura 24. Cabina de seguridad biológica vertical tipo II con filtro HEPA (Telstar).

La muestra se obtuvo mediante la extracción distal de la mucosa de los terceros molares inferiores. A continuación, el tejido obtenido fue lavado con solución fisiológica estéril para eliminar restos de sangre y finalmente se procedió a retirar mecánicamente el epitelio.

El tejido fue disgregado con ayuda de un bisturí sobre una cápsula de Petri, que contenía tampón fosfato salino (PBS, 0,1M, PH 7,4), obteniéndose así pequeñas porciones del mismo.

Posteriormente, la muestra fue suspendida en medio Eagle modificado por Dulbecco (D-MEM) completo, suplementado con 10% de suero fetal bovino L-glutamina al 1% y 100µg/ml de una mezcla de antibióticos (penicilina/estreptomina).

A continuación, el tejido gingival (junto con el tampón fosfato, PBS) se transfirió a un tubo (Falcon), el cual se centrifugó a 1000 rpm durante 10 minutos, eliminando el sobrenadante y extrayendo un precipitado, que posteriormente se sometió a una disgregación enzimática y mecánica con el fin de separar las células del tejido.



Disgregación enzimática

El procedimiento fue el siguiente:

- 1- Extracción del precipitado celular, sometido a una solución de proteasa: colagenasa I (3 mg/l (Sigma Aldrich) durante 1 hora a una temperatura de 37°C.
- 2- La proteasa se inactivó adicionando un volumen igual o mayor de medio de cultivo celular MEM muy frío.
- 3- Centrifugación durante 10 minutos a 1100 rpm (Figura 25).
- 4- Eliminación del sobrenadante y adición de medio de cultivo celular MEM con antibiótico (anfotericina b a una concentración de 250 unidades/ml).



Figura 25. Centrífuga de laboratorio

Disgregación mecánica

- 1- Supresión de los partes más grandes de tejido remanente, extracción de las células del tubo con una pipeta Pasteur y depósito sobre una malla estéril de 70 μm (Falcon, BD), donde se tamizaron a través de la malla añadiéndose medio de cultivo MEM.
- 2- Centrifugación durante 10 minutos a 3G.
- 3- Eliminación del sobrenadante y adición de medio de cultivo celular MEM.



Finalmente, las células fueron sembradas en un frasco de cultivo con medio de cultivo DMEM (Figura 26) y se incubaron a 37 °C a una saturación del 5% en CO₂ y 95% de humedad relativa. Transcurridos 7 días, se cambió el medio de cultivo por DMEM completo y se conservaron en la incubadora en condiciones normales. Por último, los fibroblastos gingivales humanos fueron criopreservados en suero fetal bovino que contenía DMSO al 10% hasta ser utilizados.



Figura 26. Medio de cultivo DMEM

3. RECUENTO CELULAR

Previamente a cultivar las células obtenidas, se llevó a cabo un recuento así como una estimación de la viabilidad celular haciendo uso de la cámara de Neubauer o hemocitómetro con azul tripán.

Para separar las células del frasco, se procedió a la eliminación del medio de cultivo y posterior lavado con tampón fosfato, PBS. A continuación, se añadieron 2 ml de tripsina al 0,25% con EDTA al 0,25 mM y se incubó a una temperatura de 37°C, 5% CO₂ y 95% de humedad relativa durante un tiempo de 5 minutos. Una vez separadas las células del frasco que contenía el medio de cultivo, se adicionó 10 ml de Medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) con el objetivo de neutralizar la tripsina. Finalmente, se transfirieron las células suspendidas a un nuevo tubo tipo Falcon, para poder centrifugarlo a 300g durante 5 minutos, quedando de esta forma las células en el precipitado. Obtenido el precipitado, se volvió a resuspender en medio DMEM completo. Todos los procedimientos llevados a cabo

se realizaron dentro de la cámara de flujo vertical tipo II, asegurando así las condiciones estériles del medio.

Realizado el procedimiento descrito con anterioridad, se procedió al recuento de células por mililitro. Para ello, se agitó la suspensión celular obtenida y se transfirieron 50 microlitros de la misma a un tubo Eppendorf, junto con 50 microlitros de azul tripán, se homogeneizó la mezcla y se transportó a una cámara Neubauer o hemocitómetro (Figura 27), donde tras dejar que las células se asentaran durante 2 minutos se procedió a realizar el conteo, haciendo uso del microscopio de contraste de fases. Contando por separado, células teñidas de color azul (no viables) y células birrefringentes o blancas (vivas o viables) que se observaban en cada uno de los cuadros, obteniéndose como resultado muestras entre 3000 y 5000 células, cantidades preestablecidas mediante la realización de una curva de viabilidad.



Figura 27: Contador celular y Cámara de Neubauer (divisiones de la cámara)



Tras hacer el recuento y la estimación de viabilidad, se ajustó la solución celular a 1×10^5 células/ml y se sembraron 3 ml por frasco de cultivo DMEM de 25 cm³ (Sarstedt) a 37°C, 5% CO₂, y 95% HR. En nuestro estudio, se utilizó una placa de 96 pocillos para el análisis de proliferación celular y una placa de 12 pocillos para el análisis de adhesión al material de estudio (Figura 28).

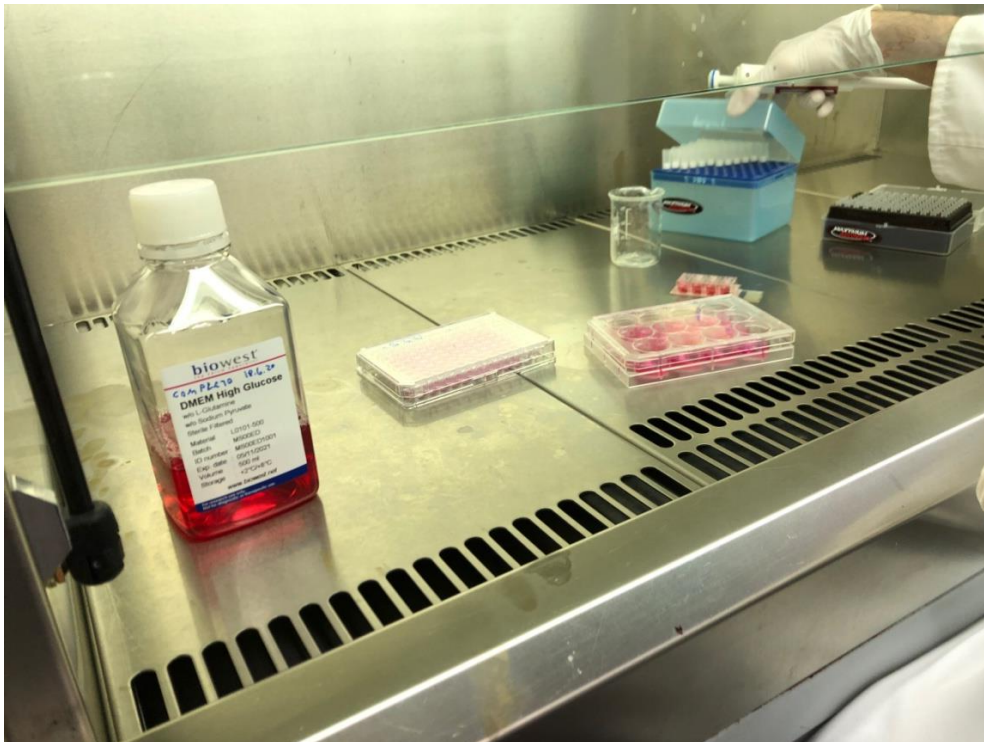


Figura 28: Medio de cultivo DMEM, placa de 96 pocillos y placa de 12 pocillos dentro de la cámara de flujo vertical

4. ENSAYOS EXPERIMENTALES

4.1 ENSAYO DE VIABILIDAD CELULAR (MTT).

La viabilidad celular se evalúa en presencia de diferentes eluciones de los materiales a estudiar (cementos), utilizando para ello el ensayo colorimétrico MTT (MTT Cell Growth kit, Chemicon, Rosemont, EEUU). Dicha técnica pretende evaluar de forma indirecta la proliferación de fibroblastos gingivales, mediante la determinación de la funcionabilidad mitocondrial de las células tratadas a través de la reducción metabólica que realiza la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa sobre sustrato bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-



ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT). Al reducirse, el MMT se convierte en un compuesto de la familia formazanos, de color violeta e insoluble en agua. Para cuantificarlo se disuelve en un disolvente orgánico, DMSO (dimetilsulfóxido) y se mide su color mediante la A_{570} .

En nuestro estudio, se colocaron los fibroblastos gingivales en placas de 96 pocillos a una densidad aproximada de 100 células / pocillo y a continuación, se incubaron a 37 ° C / 5% de CO₂ hasta la confluencia. Posteriormente, se procedió a retirar el medio de cultivo (medio de cultivo con el cemento) y se reemplazó por uno de los eluidos descritos anteriormente (1: 1, 1: 2 y 1: 4) durante 72 h. La actividad metabólica de los fibroblastos gingivales humanos expuestos a los extractos de cemento fueron analizados a las 24, 48 y 72 horas del cultivo. Las células sin extractos sirvieron como control. A continuación, se añadió el reactivo MTT (amarillo) a los pocillos y se dejó reposar durante 4 h, a 37°C, 5% de CO₂ y 95% de HR. Posteriormente se retiró el sobrenadante con el MTT y se lavaron las células con PBS, y se adicionó dimetilsulfóxido (DMSO) (100 µl / pocillo) para romper las membranas celulares y así poderse liberar los cristales formados de formazán. Se retiró la cubierta y se evaluó la absorción de luz en cada pocillo a 570 nm utilizando un lector de microplacas (Synergy H1, BioTek) a 570 nm (Abs570) (Figura 29).



Figura 29. Formación de cristales de formazán.



4.2 ENSAYO DE MIGRACIÓN CELULAR

El ensayo de cierre de “herida” (wound healing assay) tiene como principal objetivo el estudio de la migración celular. Es un ensayo fácil, barato y ampliamente utilizado por los investigadores. Se basa en la observación del comportamiento de una monocapa confluyente de células a la que previamente se le ha realizado una brecha o “herida”. Las células en el borde de la brecha se moverán hacia la abertura hasta establecer nuevos contactos célula-célula, cerrando así la citada “herida”. Los pasos básicos implican la creación de la “herida” o área libre de células en la monocapa celular, la captura de imágenes de manera periódica durante el experimento y la comparación de todas las imágenes para determinar la velocidad de migración celular.

Este experimento permite analizar tanto la migración de la monocapa como el movimiento de células individuales. Comparando la capacidad de las células para cerrar una solución de continuidad sin estar expuestas a las sustancias que queremos estudiar (control) con respecto a las células que sí lo están.

EL protocolo utilizado fue el siguiente:

1. Recuento celular en la cámara de Neubauer o hemocitómetro para analizar la cantidad de células a sembrar.
2. Siembra de células en 5 placas de 12 pocillos (una para cada cemento más el control), con DMEM completo e incubación a 37°C, 5% CO₂ y 95% HR hasta que las células alcanzaron más del 80% de confluencia en monocapa.(Figura 30A)
3. Realización de una herida o “scratch wound” siguiendo la técnica de “wound healing” en el centro de cada pocillo y se desecha el medio de cultivo.
4. Adición del eluente obtenido con cada uno de los cementos selladores y en diluciones 1/1, 1/2 y 1/4 excepto para el control que simplemente se cambió el medio con DMEM completo. El procedimiento se realizó por triplicado, incubándose las células en condiciones normales.
5. Observación del progreso de cierre de la herida bajo microscopio óptico (Figura 30B), mediante toma de imágenes del proceso a la 0, 24 y 48 horas. Dichas imágenes se analizaron con el programa Image J, determinando de esta manera el área sin cerrar. (Figura 30C)

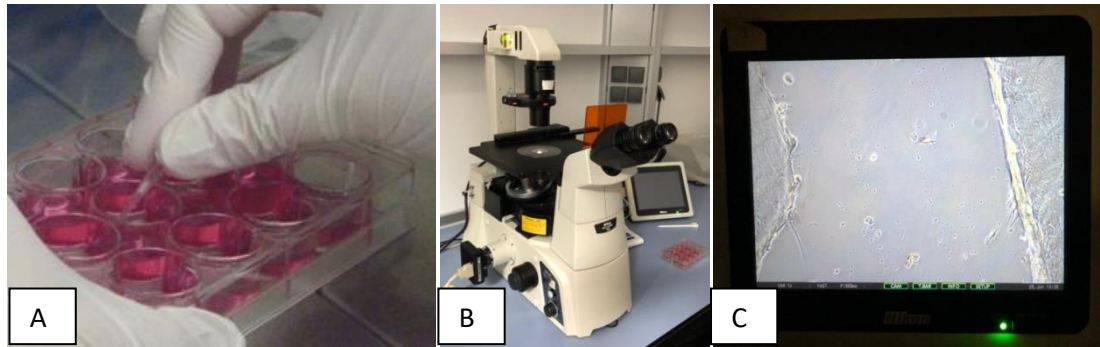


Figura 30. A) Placa de 12 pocillos. B) Microscopio óptico. C) Pantalla del microscopio óptico.

4.3 ANÁLISIS DE LA MORFOLOGÍA CELULAR.

El análisis confocal se utilizó para analizar los cambios en el citoesqueleto de actina de las células gingivales. Para ello, los fibroblastos gingivales humanos se sembraron a una densidad de 1×10^4 en placas de 24 pocillos cultivadas en medio de cultivo que contenía extractos sin diluir de los diferentes cementos. Posteriormente, las células fueron fijadas con una solución de paraformaldehído al 4% en PBS, se lavaron con PBS y se permeabilizaron con Tritón X-100 al 0,25% en PBS durante 10 minutos. El citoesqueleto de actina F se detectó incubando células durante 1 h con faloidina conjugada con CruzFluor594 (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, EEUU). Después de varios lavados, las células fueron incubadas con diclorhidrato de 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) (sonda molecular fluorescente, 0,2 mg/ml en PBS) durante 1 hora a 37°C con la finalidad de marcar los núcleos celulares. Finalmente, las imágenes fueron adquiridas utilizando un microscopio de fluorescencia Axiomager M2 Zeiss (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemania).

4.4. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO CON ESPECTROMETRÍA DISPERSIVA DE RAYOS X (MEG/EDS)

Para estimar el efecto de la química superficial de los diferentes cementos sobre la adhesión celular y el crecimiento, se utilizó el microscopio electrónico de barrido (MEB).

El proceso realizado fue el siguiente:

- Un total de 5×10^4 fibroblastos gingivales humanos fueron directamente sembrados en cada superficie de disco y cultivadas durante 72 horas.



- Se eliminó el sobrenadante de las muestras y se lavaron con PBS.
- Posteriormente, las muestras fueron fijadas con glutaraldehído al 4% en tampón cacodilato de sodio con sacarosa 0,1 M de 3-5 horas.
- Se retiró el fijador en frío y se añadió el lavador (tampón cacodilato de sodio con sacarosa) durante una noche.
- Contrastado de la muestra con tetraóxido de osmio al 1% durante 2 horas.
- Lavado con tampón cacodilato con sacarosa y asentamiento durante 12 horas.
- Deshidratación en acetona al 30%, 50%, 70%, 90% y 100% durante 20 minutos con cada concentración.
- Se llevaron al punto crítico con acetona al 100% y CO₂ líquido en una cámara de secado de punto crítico Leica EM CPD030(Figura 31A)
- Adición de un recubrimiento (película) de oro/paladio mediante la técnica de “sputtering” en el metalizador 134 Bio RAD Polaron SEM COATEM SYSTEM E5100 (Hercules, California, EEUU)(Figura 31B)
- Observación de las muestras mediante microscopía electrónica de barrio (Jeol 6100 EDAC, EEUU) (Figura 32) con un voltaje operativo de 30 kV y toma de imágenes con el sistema de captación autobeam del sistema de microanaálisis INCAX-STREAM con amplificaciones de 100x y 300x.

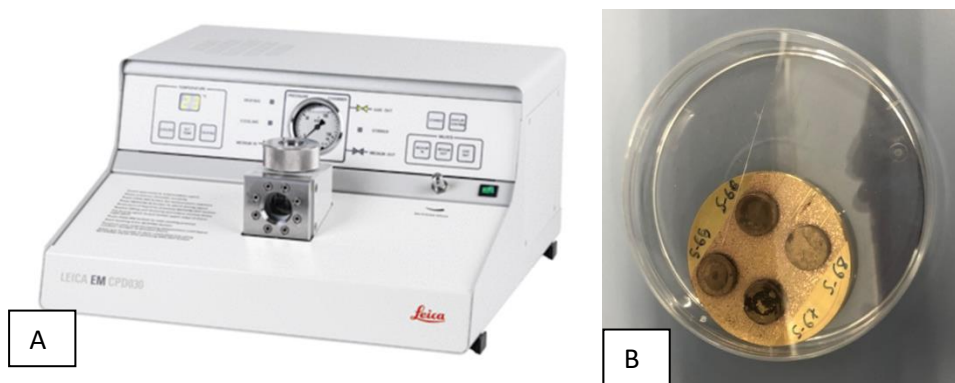


Figura 31: Cámara de secado (A). Muestras recubiertas de oro (B).



Figura 32. Microscopio de Barrido JEOL-6100 y sistema de Microanálisis por dispersión de Rayos X INCA de Oxford Instruments.

El espectro de rayos X emitido por un espécimen permite llevar a cabo una medida cualitativa (medida del rango de cada rayo X emitido que es característico de cada elemento) y una medida cuantitativa (la medida de la cantidad de rayo X que se emite por segundo nos dice qué cantidad de elemento está presente). Así, podemos caracterizar un material sólido mediante MEB con espectrometría dispersiva de rayos X (EDS).

El protocolo para la caracterización de los cementos fue el siguiente:

1. Eliminación del sobrenadante de las muestras y lavado con PBS.
2. Fijación con glutaraldehído al 2,5 % en tampón cacodilato de sodio con sacarosa 0,1 M de 3-5 horas.
3. Eliminación del fijador en frío y adición del líquido lavador (tampón cacodilato de sodio con sacarosa) durante una noche.
4. Contrastado de la muestra con tetraóxido de osmio al 1% durante 1-2 horas.
5. Lavado con tampón cacodilato con sacarosa y asentamiento durante 12 horas.
6. Deshidratación en acetona al 30%, 50%, 70%, 90% y 100% durante 20 minutos con cada concentración de forma sucesiva.
7. Se llevaron al punto crítico con acetona al 100% y CO₂ líquido en una cámara de secado de punto crítico Leica EM CPD030 (Figura 33).
8. Aplicación de una película de carbón en la unidad CC7650 SEM Carbon Coater.
9. Análisis de las muestras mediante el sistema de captación de rayos X incorporado en el microscopio electrónico de barrido Jeol 6100 EDAX (EEUU).

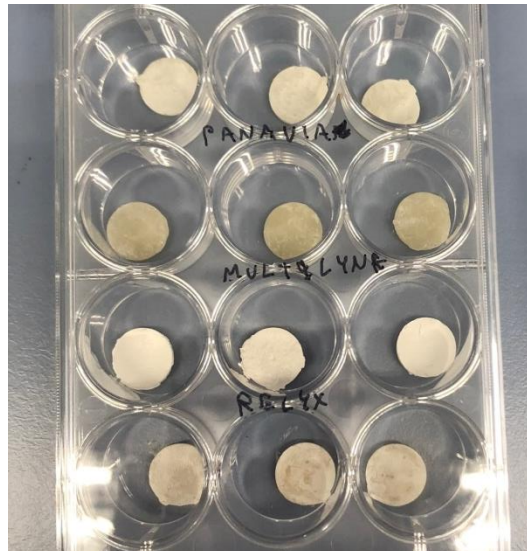


Figura 33. Muestras recubiertas con carbón.

4.5 EVALUACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

Para determinar los niveles de cualquier especie de oxígeno reactivo (ROS) producida por los eluatos de los diferentes cementos, los fibroblastos gingivales humanos fueron resuspendidos en 1 ml de PBS e incubados con 5 μ M del indicador general de estrés oxidativo CM-H2DCFDA (Invitrogen, Molecular Probes, Eugene, Ca, EEUU) durante 30 minutos a 37 °C. A continuación, los fibroblastos gingivales humanos fueron lavados dos veces, se introdujeron de nuevo en la estufa con medio de cultivo completo y se analizaron por citometría de flujo (FACSCANTO II TM).

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos de migración celular, ensayo de viabilidad (MTT) y evaluación de especies reactivas de oxígeno (ROS), fueron analizados mediante el uso del paquete de software estadístico SPSS versión 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Se utilizó el test de Kolmorov-Smirnov para la evaluación de la distribución normal de los datos, mientras que las diferencias entre grupos fueron estudiadas mediante el análisis de la varianza (ANOVA) seguido de un test de Bonferroni. El conjunto de todos los datos han sido expresados como media \pm desviación estándar, considerando un valor significativo una $p < 0,05$.



RESULTADOS



V-RESULTADOS

1. ENSAYO DE VIABILIDAD (MTT)

La actividad metabólica de los fibroblastos gingivales humanos expuestos a los extractos de cemento fueron analizados a las 24, 48 y 72 horas del cultivo y a diluciones 1:1, 1:2 y 1:4 (Figuras 34-36).

Desde las 24 horas en adelante, todos los extractos diluidos de Panavia disminuyeron significativamente la viabilidad de los fibroblastos gingivales humanos en comparación al grupo control (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$), con la única excepción de la dilución 1:4 después de 72 horas de cultivo, la cual muestra una viabilidad comparable al control celular.

Por otro lado, los extractos de Multilink no afectaron a la viabilidad celular en las primeras 24 horas, aunque produjeron una reducción transitoria y significativa de la viabilidad celular a las 48 horas tanto en la dilución 1:1 y 1:2 (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). Sin embargo, la viabilidad celular presenta una tasa similar al grupo control después de 72 horas, evidenciando una recuperación de la misma.

Los extractos de SoloCem reducen significativamente la viabilidad de los fibroblastos gingivales humanos tanto usando la muestra sin diluir como en la dilución 1:2 (*** $p < 0,001$). Sin embargo, la dilución 1:4 no afecta a la viabilidad celular después de 24 o 48 horas del cultivo celular.

Finalmente, extractos de Relyx no muestran diferencias significativas pasadas 48 horas desde el cultivo en comparación al control (*** $p < 0,001$).

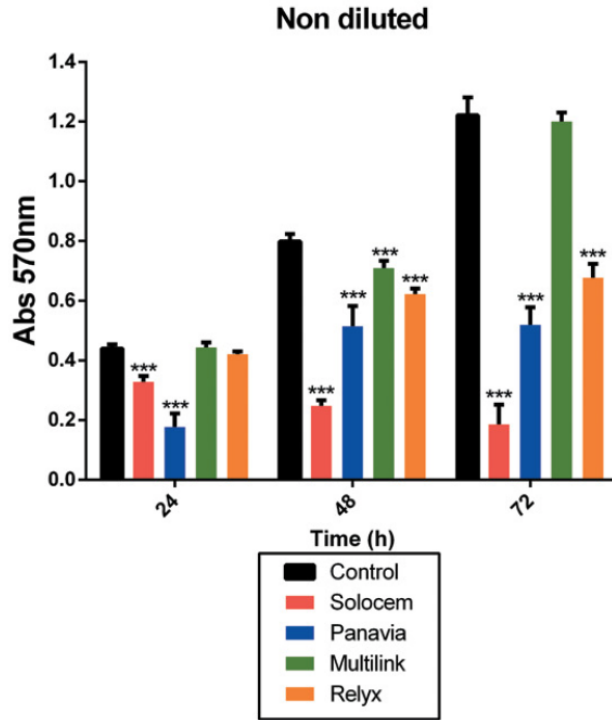


Figura 34. Proliferación celular de los diferentes materiales aplicados sin diluir.

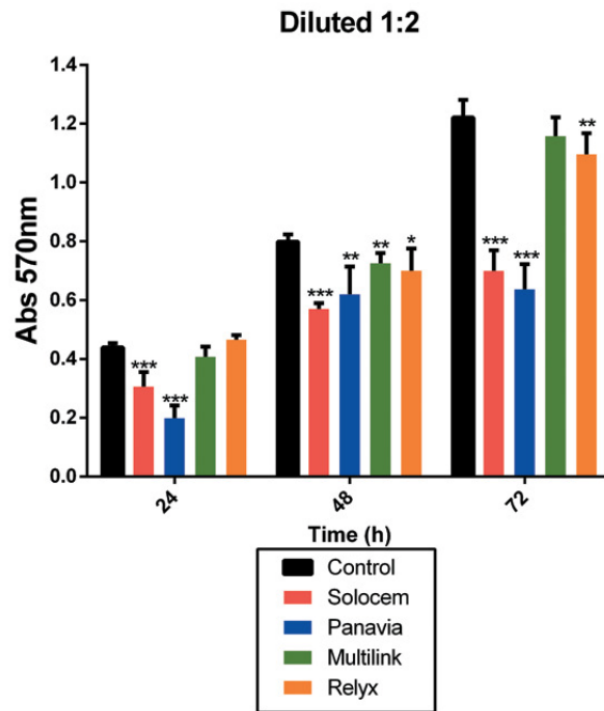


Figura 35. Proliferación celular de los diferentes materiales aplicados a dilución 1:2.

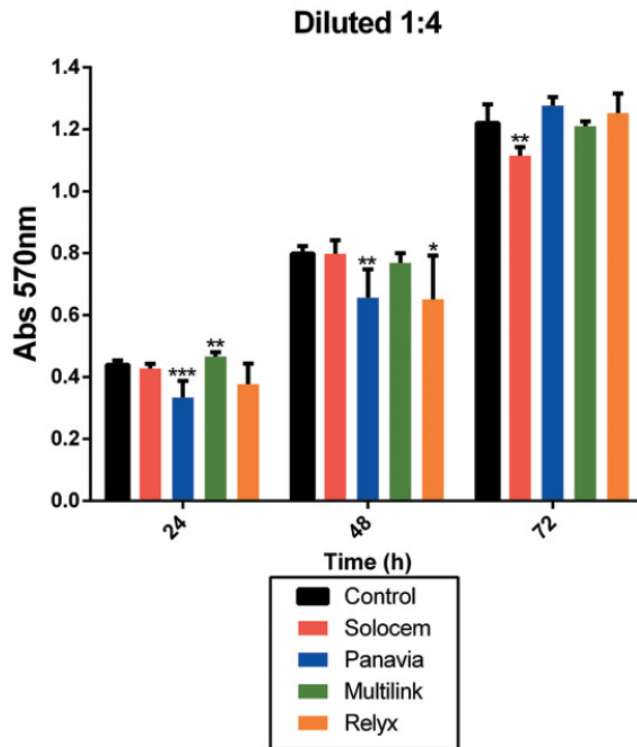


Figura 36. Proliferación celular de los diferentes materiales aplicados a dilución 1:4

2. EVALUACIÓN DEL ENSAYO DE MIGRACIÓN CELULAR.

Para evaluar los efectos de los diferentes cementos sobre los fibroblastos gingivales humanos, se llevó a cabo el proceso de migración celular, mediante el modelo de curación de herida (wound healing). El estudio tiene como finalidad observar el comportamiento de una monocapa de células a las que previamente se le ha realizado una “herida” (o raspado). Las células en el borde donde se hizo el raspado se moverán hacia la abertura, de tal modo que se puede diagnosticar que tipo de cemento cierra mejor dicha “herida”.

Como muestra la Figura 37, la velocidad de migración de los fibroblastos gingivales humanos en presencia del extracto SoloCem sin diluir fue significativamente más lento que en la muestra control en todos los períodos de tiempo (***) $p < 0,001$). Contrariamente, en todos los períodos de tiempo y en todas las diluciones estudiadas, la velocidad de migración con eluatos de Multilink fue similar a la del grupo control y sin

diferencias detectables. En relación al grupo Panavia, únicamente se detectaron diferencias significativas con el eluato sin diluir (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$); mientras que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni en la dilución 1:2 ni en la dilución 1:4 en comparación con el cierre de herida del grupo control. Finalmente, se detectaron diferencias significativas en eluatos de Relyx sin diluir en comparación al grupo control tanto a las 24 horas como a las 72 horas (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

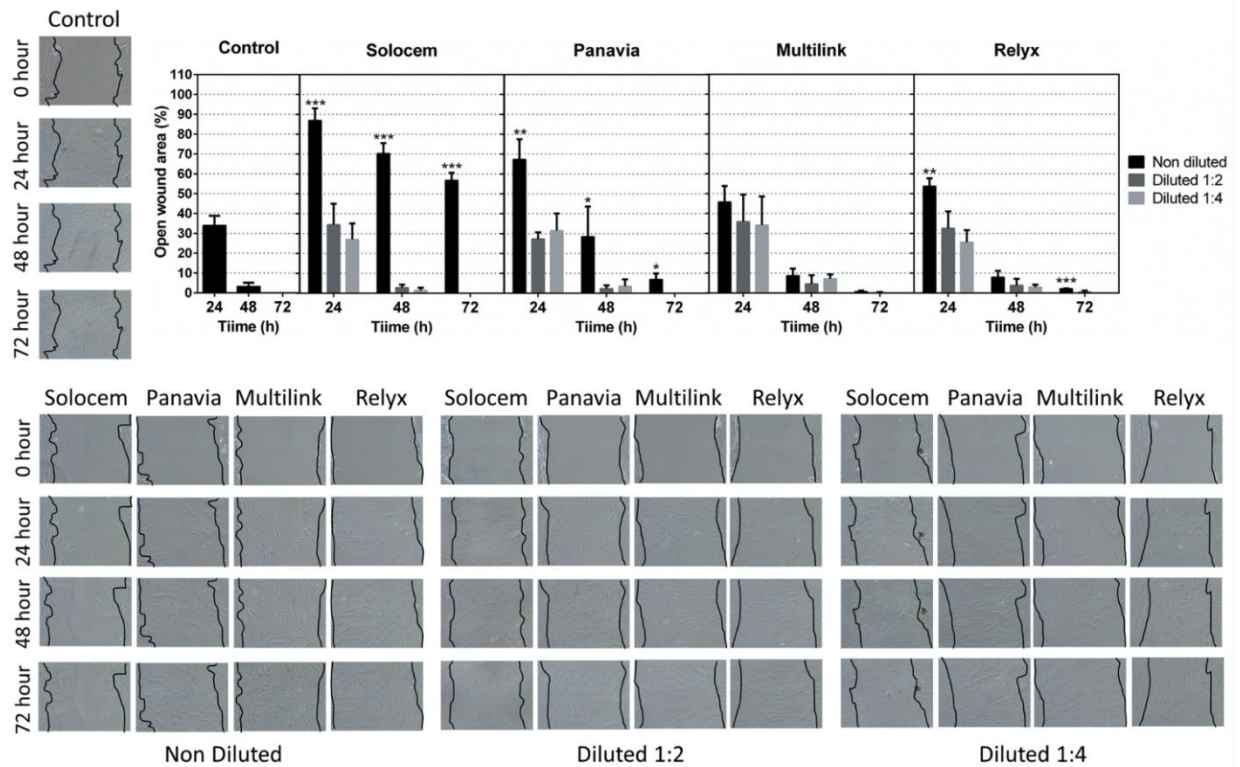


Figura 37. Efecto de diferentes extractos de cemento sobre fibroblastos gingivales humanos.

3. ANÁLISIS CONFOCAL, MORFOLOGÍA CELULAR (INMUNOFUORESCENCIA)

Después de que los cultivos celulares fueran expuestos, durante 72 horas, a los diferentes extractos de los tipos de cementos, se observaron los siguientes resultados (Figura 38):

- Los fibroblastos gingivales humanos cultivados en presencia de extracto SoloCem mostraron una baja densidad de células viables.
- Los fibroblastos gingivales humanos en contacto con otros cementos comerciales



(Panavia, Multilink, Relyx) mostraron un crecimiento celular favorable además de una similar y correcta organización de filamentos de actina-F en comparación al grupo control.

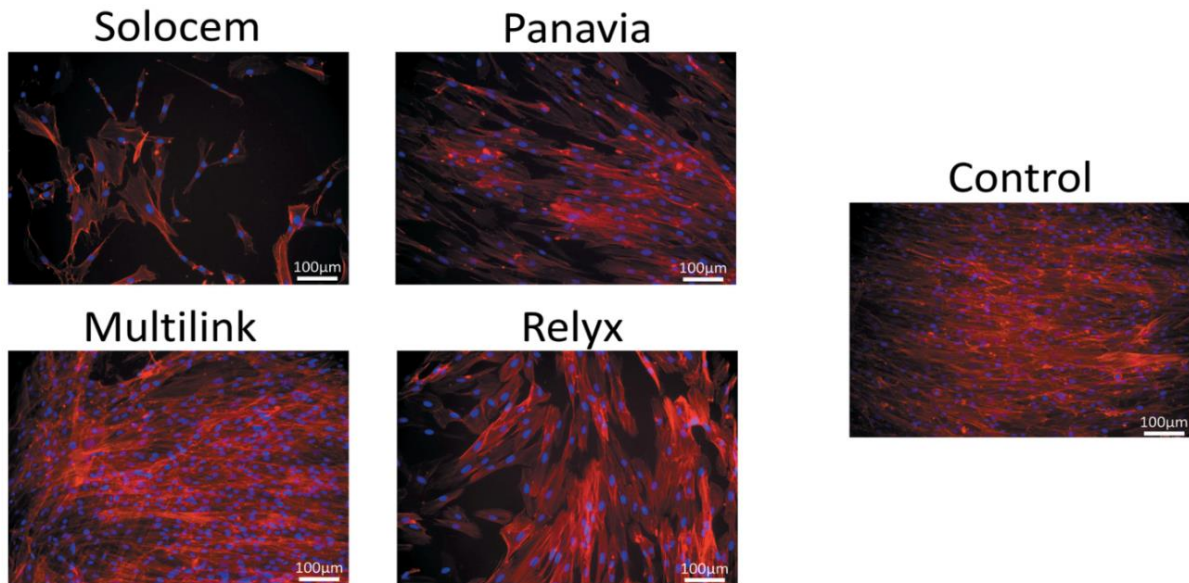


Figura 38. Morfología del citoesqueleto y núcleo de los fibroblastos gingivales a las 72 horas de cultivo en los cuatro tipos de cementos comerciales mediante microscopio de fluorescencia confocal.

4. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO Y ESPECTROMETRÍA DISPERSIVA DE RAYOS X.

El análisis de la adherencia y morfología celular de los fibroblastos gingivales humanos en la superficie de los diferentes cementos mostraron la presencia de pocas células y detritos en el grupo SoloCem, evidenciando muerte celular, mientras que una mayor abundancia y funcionalidad celular fue evidenciada en el grupo Relyx. Además, un crecimiento celular moderado y células alargadas fueron detectados en los grupos Multilink y Panavia. En relación a la apariencia morfológica de las superficies, la microscopía electrónica de barrido mostró variaciones morfológicas entre las diferentes muestras analizadas. Microfotografías de las superficies de cementos de Relyx y SoloCem evidenciaron agregados esféricos e irregulares de varios tamaños. Partículas de formas irregulares de varios tamaños pudieron ser observadas con cementos de Multilink y Panavia (Figura 39).

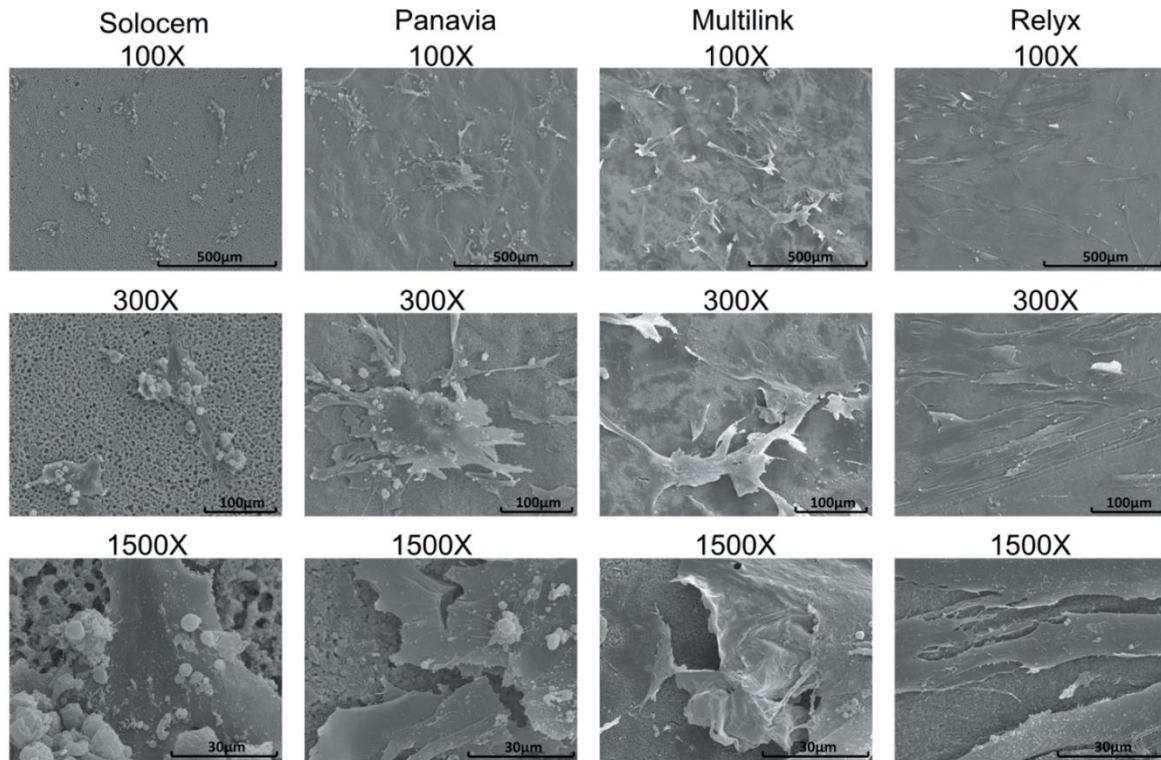


Figura 39. Micrografías mediante microscopía electrónica de barrido de las superficies de los distintos cementos en contacto con los fibroblastos gingivales humano

En cuanto a su composición química, el análisis elemental de Multilink mostró silicio y altas cantidades de titanio. Sin embargo, el análisis elemental mostró que SoloCem contenía grandes cantidades de terbio y silicio. Relyx presentó carbono, oxígeno, aluminio, silicio, fósforo, flúor, sodio, azufre, calcio, estroncio, lantano y tungsteno en su composición. Finalmente, en el caso de Panavia, la principal diferencia en términos de composición fue la presencia de grandes cantidades de bario (Figura 40).

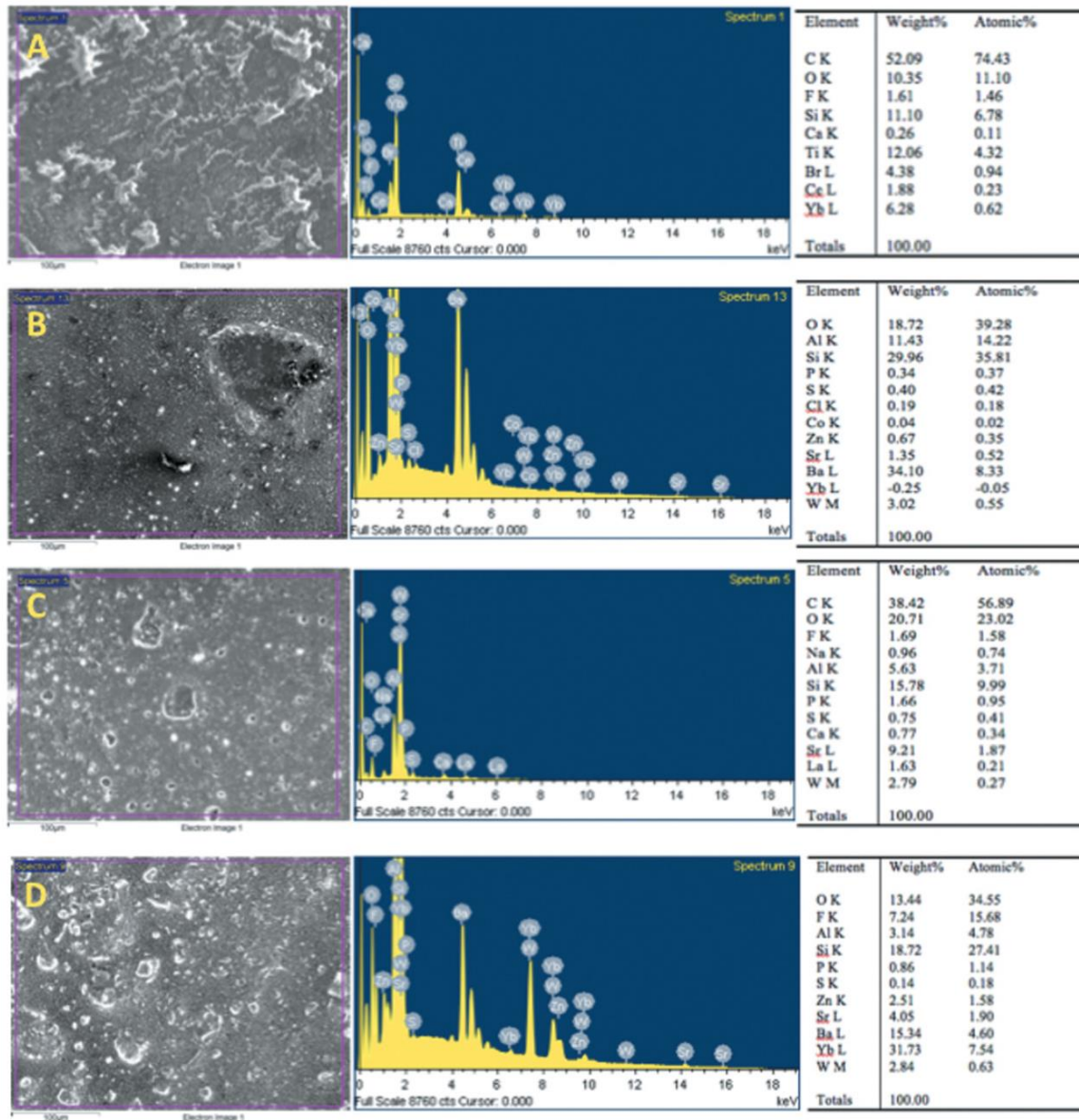


Figura 40. Análisis morfológico y químico de cada uno de los cementos comerciales estudiados mediante microscopía electrónica de barrido y dispersión de Rayos X.

5. EVALUACIÓN DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS)

Como muestra la Figura 41, los niveles de especies reactivas del oxígeno medidos en fibroblastos gingivales humanos cultivados en presencia de extractos de SoloCem (dilución 1:1 y 1:2) o Relyx (dilución 1:1) fueron significativamente mayores en comparación a los niveles de especies reactivas de oxígeno detectadas en las células del grupo control (**p<0,001). Por el contrario, cuando los fibroblastos gingivales humanos fueron cultivados con Multilink o Panavia sin dilución o extractos diluidos, los niveles de



especies reactivas de oxígeno intracelular no fueron diferentes de las observadas en las células control.

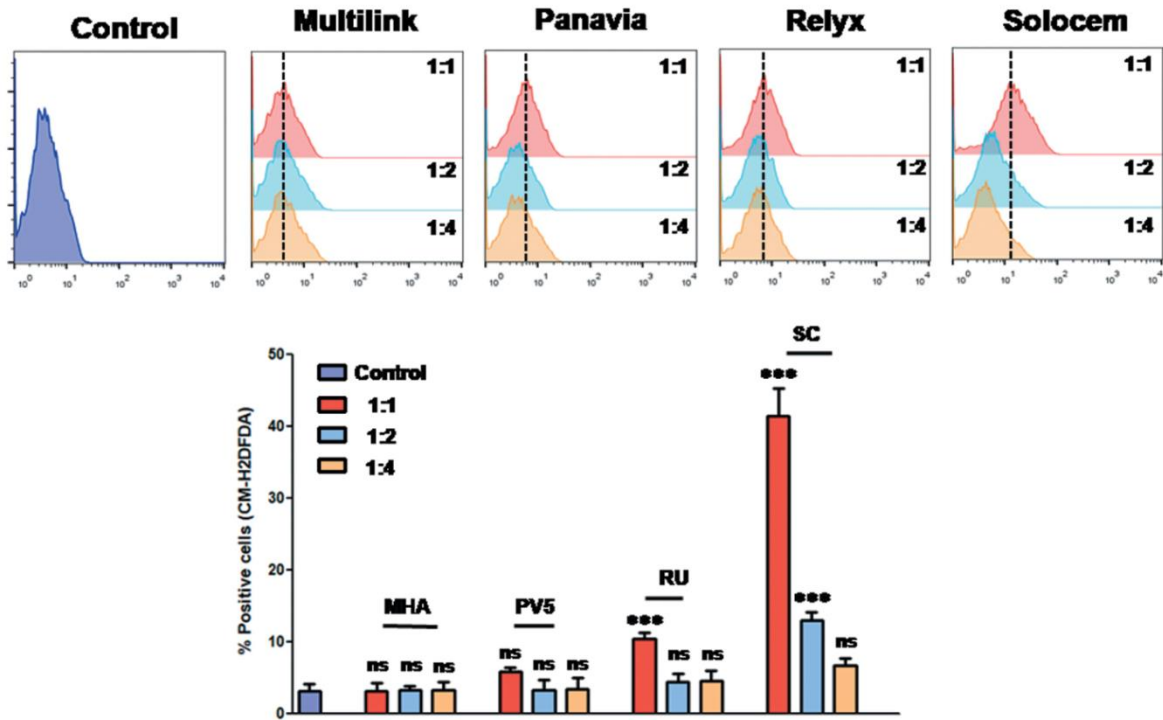


Figura 41. Evaluación de las especies reactivas de oxígeno en los distintos cementos comerciales estudiados mediante citometría de flujo.



DISCUSIÓN



VI- DISCUSIÓN

Los cementos dentales son uno de los componentes imprescindibles en la realización de restauraciones cementadas sobre implantes y proporcionan un ajuste pasivo con retención a largo plazo de la interfase pilar-corona. Aunque los implantes atornillados mitigan la inflamación inducida por los cementos y una posible periimplantitis, muchos odontólogos prefieren restauraciones cementadas para mejorar la estética y la forma oclusal y por razones económicas. Es fundamental que los dentistas estén bien informados sobre las posibles consecuencias de las diferentes composiciones de los cementos dentales sobre la salud del tejido periimplantario, especialmente teniendo en cuenta que la selección adecuada de cemento puede disminuir el riesgo de complicaciones que conducen al fracaso del implante dental. Es de gran importancia que el clínico conozca que el cemento entrará inevitablemente en contacto con los tejidos blandos al cementar la corona, y que si éste se deja subgingival, su composición puede influir en la compatibilidad con los tejidos del huésped y contribuir al desarrollo de procesos inflamatorios (104).

El objetivo de este estudio fue investigar la biocompatibilidad de cuatro composiciones de cementos dentales definitivos de resina, incluidos dos cementos duales: RelyxUnicem 2 (RU) y Panavia V5 (PV5); y dos cementos autopolimerizables: Multilink Hybrid Abutment (MHA) y SoloCem (SC), cuando se colocan en contacto directo con fibroblastos gingivales humanos.

Durante décadas se ha utilizado cemento de fosfato de zinc para la fijación de restauraciones. En restauraciones con grandes márgenes, este cemento es más susceptible a la degradación hidrolítica en comparación con cementos de resina. La introducción de los cementos de resina compuestos proporciona materiales que podrían adherirse al esmalte grabado y en menor grado también a superficies de dentina. Además, la adhesión a la restauración se logra, por ejemplo, después del grabado y silanización de las cerámicas feldespáticas o del disilicato de litio. Estas características adhesivas de los cementos de resina permitieron el diseño de restauraciones no retentivas, incluso restauraciones sin preparación, y facilitó un cambio hacia los diseños con una preparación no invasiva(105). Después de insertar una reconstrucción impregnada en cementos de resina, el exceso de cemento se elimina inicialmente con bolitas de algodón, si es un cemento autopolimerizable, o con una rápida fotopolimerización de dos segundos, para lograr una polimerización inicial,



seguida de una eliminación con instrumentos manuales del cemento remanente ya ligeramente endurecido, cuando es un cemento dual (auto y fotopolimerizable). Después, el margen de cemento puede ser alisado con fresas finas y pulidores de goma para eliminar la capa de inhibición de oxígeno que contiene monómero sin reaccionar y para prevenir una formación extensa de biopelículas(106).

En cuanto a los cementos dentales, algunos estudios encuentran la mayor viabilidad de fibroblastos en cementos de óxido de zinc sin eugenol, seguido de fosfato de zinc, óxido de zinc y por último cementos de resina. Anteriormente, se demostró que la adhesión bacteriana en el cemento dental es influenciada significativamente por la composición del material. La formación de biopelículas fue significativamente menor en cementos de resina que tienen una rugosidad superficial con un valor de Ra de 0.1 μm comparado con aquellos con un valor Ra de 1.2 μm .¹² Sin embargo, es actualmente desconocido si la composición de los cementos de resina afecta al comportamiento de los fibroblastos, como se encontró en la formación de biopelículas bacterianas. Por lo tanto, el propósito de nuestro estudio experimental comparativo in vitro fue evaluar si la composición del material de los cementos de resina influye en la viabilidad y la morfología de los fibroblastos gingivales(99).

Además, la gran variedad de cementos utilizados en la práctica clínica, y la evolución continua en sus formulaciones químicas, pueden conducir a grandes diferencias entre los cementos del mismo tipo que se observa en nuestro estudio entre SoloCem y Multilink, aun considerándose los dos cementos de resina. Los efectos tóxicos de los cementos debido a su composición química o liberación de iones podrían provocar inflamación o inducir apoptosis en los tejidos gingivales (107).

1. DISCUSIÓN DEL MÉTODO

La biocompatibilidad es definida como la propiedad de una sustancia cuya actividad provoca una reacción positiva del huésped cuando es aplicada de manera intencionada. Además, la citotoxicidad es definida como la capacidad de un producto para dar lugar a cambios negativos en la viabilidad celular. De este modo, las pruebas de citotoxicidad son ensayos de biocompatibilidad que comprueban la lisis celular, la inhibición del crecimiento celular y otros efectos nocivos de los materiales sobre las células. Por tanto, la biocompatibilidad



debe ser evaluada antes de que un nuevo producto llegue al mercado (108). Un biomaterial no es una sustancia inerte. Cuando éste es puesto en contacto con los tejidos vivos, se originan interacciones con los sistemas biológicos que lo rodean, lo que puede producir respuestas biológicas. Estas interacciones dependen del tipo de material, de las funciones que desempeña, y del tipo del tejido del huésped (109).

Las pruebas “in vitro” son de gran utilidad para la evaluación de los efectos biológicos de los biomateriales. Tienen diversas ventajas: no es necesario el uso de animales, los estudios se realizan más rápidamente y tienen un mejor coste/beneficio. Su mayor inconveniente es que las condiciones que se reproducen en estos test “in vitro” no son exactamente todas las que se pueden reproducir “in vivo” y por tanto, las respuestas de estas pruebas no son extrapolables del todo a las reacciones “in vivo”. Aún así, los cultivos celulares son modelos para evaluar la citotoxicidad con gran sensibilidad (110).

En nuestro estudio se siguió estrictamente la normativa internacional anteriormente explicada (ISO 10993:2009) sobre la evaluación de la biocompatibilidad de los productos sanitarios usados en odontología, basándonos en los apartados de preparación de muestras y materiales de referencia (ISO 10993-12:2009)(103) y de ensayos de citotoxicidad *in vitro* (ISO 10993-5:2009)(94). Realizamos test *in vitro* de citotoxicidad de los materiales con cultivos de células de origen humano, con el objetivo de simular una situación clínica y confirmar su uso seguro en la práctica diaria. Se usaron fibroblastos gingivales humanos, siendo estas células unas de las más abundantes en el tejido conectivo y habiéndose usado en numerosos estudios sobre citotoxicidad de diversos materiales dentales que tienen íntimo contacto con la encía y el ligamento periodontal (111).

Además, se ha informado previamente que distintas poblaciones de células del estroma oral, por ejemplo, células madre mesenquimales y fibroblastos gingivales pueden participar y/o potenciar la inflamación incipiente de periimplantitis por una mayor secreción de citocinas, quimiocinas, metaloproteinasas y otros factores de crecimiento que conducen a la infiltración de leucocitos inflamatorios en el tejido de alrededor del implante, lo que da lugar a un ciclo de autoalimentación perjudicial (112). Por lo tanto, es crucial realizar un análisis en



profundidad de cómo diferentes composiciones químicas de los cementos empleados podrían influir en las propiedades biológicas de las células de los tejidos gingivales como los fibroblastos (79, 113).

La obtención de fibroblastos a partir de tejidos gingivales se realizó según los protocolos establecidos en la “Guidance on Good Cell Culture Practice”(114) mediante dos técnicas combinadas, las disgregaciones mecánica y enzimática (115). Autores como Marvin y cols. obtuvieron fibroblastos con esta misma técnica (104).

Para analizar la microestructura de los materiales y la composición elemental, utilizamos la técnica de dispersión de energía de rayos X mediante el microscopio electrónico de barrido (MEB EDX), ya utilizada por otros autores como Rohr y cols.(99).

La *proliferación* celular en presencia de los diferentes cementos se ha cuantificado mediante la técnica MTT. Es una prueba básica de citotoxicidad in vitro. Sus ventajas son que es un test relativamente económico y sensible, ya que necesita pocas células para obtener resultados y nos aporta mucha información(116). En el contexto de los cementos de resina, el MTT suele ser la prueba de elección en diversos estudios encontrados(104, 107, 117). Además, como una de las funciones del tejido gingival es hacer de barrera de aquellos materiales que puedan difundir y llegar a dañar estructuras más internas y que no deben tener contacto con la cavidad oral como el hueso (99), hemos realizado diferentes diluciones (1:1, 1:2 y 1:4) para intentar simular la situación clínica in vivo.

La *migración* de los fibroblastos se ha realizado mediante la técnica “wound healing” en la que se realiza una “herida” y se mide cómo las células la recolonizan(118). Para detectar el cierre de la herida se necesita un tiempo mínimo de incubación de 24 horas. Las imágenes macroscópicas capturadas servirán para confirmar el cierre de la herida. La inspección visual en esta técnica es rápida, da mucha información y se puede comparar con otras imágenes(119). Las ventajas de esta técnica son las siguientes:

- El ensayo se puede realizar en placas multi-pocillo convencionales (NUNC, FALCON). Esto es debido a que las imágenes se adquieren con objetivos de pocos aumentos



(4x, 10x) para tener un campo que cubra toda la herida y estos objetivos permiten el enfoque de placas convencionales.

- Se puede analizar la relación células/matriz extracelular y su participación en la migración celular ya que la superficie de ensayo se puede cubrir con diferentes tipos de matrices extracelulares.
- Las células se mueven hacia una dirección definida cerrando la “herida”, lo que facilita el análisis posterior de la velocidad de la migración.

Las desventajas de esta prueba son(120, 121):

- Los resultados pueden verse comprometidos por la liberación de factores desde las células dañadas por el raspado al hacer la “herida”
- El proceso de rayar la monocapa puede dañar la capa de matriz extracelular subyacente, creándose un surco que impide la correcta migración hacia el centro de la “herida”
- En algunas ocasiones es difícil asegurar que tanto los cultivos control como los grupos de tratamientos experimentales se realicen en condiciones equivalentes de confluencia celular

Esta prueba ha sido utilizada por otros investigadores para evaluar la capacidad de migración celular y la consideramos imprescindible, ya que al quedar los restos de cemento en proximidad a la encía y los fibroblastos, estos últimos deben ser capaces reparar y regenerar los tejidos en el proceso de curación y tienen un importante papel en el establecimiento y mantenimiento del sellado mucoso de los implantes(97).

La *morfología celular* es otro de los parámetros que se ha tenido en cuenta en este estudio. Se ha valorado tanto con la observación al microscopio de fluorescencia (análisis confocal) de su citoesqueleto previamente teñido con faloidina, como con la microscopia electrónica de barrido, que usamos para detectar si las células están correctamente fijadas a los discos de cemento. Cuando los fibroblastos están sanos se observa un citoesqueleto ordenado, pero cuando las células están en estado de apoptosis tienen una morfología redondeada y



un citoesqueleto desordenado, por lo que termina despegándose del material y muriendo (100, 122). Otra de las pruebas estudiadas que tiene gran relación con la morfología celular, es la *adhesión* celular. Se debe tener en cuenta, ya que repercute en la biocompatibilidad de los cementos. Cuando mayor es la adhesión celular a un determinado material, más efecto puede ejercer sobre las células. Este parámetro también ha sido evaluado mediante MEB, que es un método sencillo, con una relación coste/beneficio alta, fácilmente reproducible y que ha sido utilizado por otros autores para evaluar la capacidad de adhesión celular (99).

Para analizar la *composición* y microestructura de los cementos, se ha usado la técnica de dispersión de energía de rayos X (EDX) mediante el MEB, ya utilizada por otros autores como Rohr y cols. (99).

Finalmente, determinaron los *niveles de especies reactivas de oxígeno intracelular (ROS)* producidas por los eluatos de los diferentes cementos. La producción de ROS en respuesta a diferentes biomateriales utilizados actualmente por los dentistas en la práctica clínica se ha relacionado estrechamente con su citotoxicidad inducida y apoptosis celular en algunos tipos de células madre mesenquimales derivadas de tejido dental (123) y en fibroblastos gingivales humanos (100). Las ROS son especies químicas reactivas químicamente inestables que incluyen aniones superóxido, radicales hidroxilo e iones superóxido producidos como moléculas naturales del metabolismo celular en sí, pero también en respuesta a diferentes estímulos exógenos. Por lo tanto, diferentes factores estresantes para las células o condiciones ambientales, pueden inducir críticamente la acumulación de ROS, lo que da lugar a daño celular, senescencia, citotoxicidad y daño mutagénico(124).

2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

-Estudio de la viabilidad celular (MTT)

A partir de las 24 h, todos los extractos diluidos de Panavia disminuyeron significativamente la viabilidad de los fibroblastos en comparación con el grupo control, con la única excepción de la dilución 1:4 a las de 72 h, que mostró una viabilidad comparable a las células de



control. Solo se ha encontrado un estudio que avale la citocompatibilidad de este material en concreto, en el que encontramos que de los seis cementos de resina estudiados, el Panavia V5 es el quinto con menor viabilidad celular(99). Si que existen más estudios de su material antecesor (Panavia F), cuyos resultados muestran que este material induce una citotoxicidad leve en células pulpares humanas (117) y moderada en fibroblastos humanos (125).

Los extractos de Multilink Hybrid Abutment no afectaron la viabilidad celular en las primeras 24 h, pero causaron una reducción transitoria y significativa de la viabilidad celular a las 48 h sin diluir y con la dilución 1:2 y que después de 72h, los resultados fueron similares al grupo control. Por lo que, en resumen, muestra menor citotoxicidad que los otros 3 cementos. Rohr y cols. (99) afirman que de los 6 cementos de resina de su estudio, el segundo con una mayor tasa de viabilidad celular es el MultilinkAutomix, un cemento de características parecidas. Solo se han encontrado estudios de las características físicas y mecánicas (126, 127), pero no de citocompatibilidad, del producto que realmente nos ocupa.

Los extractos de RelyxUnicem 2 muestran diferencias significativas solo a las 48 h de cultivo en comparación con el control. Rohr y cols. (99) afirman que de los 6 cementos de resina de su estudio, éste que nos ocupa, es el segundo con más viabilidad celular junto con el Multilink antes mencionado. Al igual que en el estudio de Sismanoglu y cols. (128), en el que de los 5 cementos estudiados, el RelyxUnicem fue también el segundo que mantuvo la mayor viabilidad celular con un 80.7%.

Los extractos de SoloCem reducen significativamente la viabilidad de los fibroblastos humanos en cualquier momento, utilizando la dilución no diluida y 1:2 Sin embargo, la dilución 1: 4 no afectó la viabilidad celular después de 24 o 48 h de cultivo. Por lo que es el producto más citotóxico de los cuatro. Esto puede ser debido a la presencia de Zn en este cemento. Informes anteriores han demostrado que ZnO causó daños en el ADN y aumentó el estrés oxidativo (129). Además, se ha detectado Zn²⁺ en la etapa inicial de fraguado de los materiales dentales, lo que sugiere que la liberación de zinc u óxidos de zinc desempeña un papel en la reducción de la viabilidad celular (130, 131). Aunque no existen estudios con SoloCem que corroboren estos resultados.



Cuando aumenta la dilución, la actividad metabólica de los fibroblastos se vuelve comparable al grupo control porque la concentración del material es muy baja. Esta tendencia es muy similar a la observada en otros estudios muy recientes como el de Cangul y cols.(132) donde se compara la citotoxicidad de cuatro materiales adhesivos o el de Abuarqoub y cols. (133), cuyo artículo estudia la biocompatibilidad del cemento de silicato tricálcico purificado (Biodentine®) sobre células madre derivadas del ligamento periodontal o Kong y cols. (117) que compara la citotoxicidad de tres cementos de resina en células pulpares humanas.

Por otro lado, el tipo de curado no parece ser, en nuestro trabajo, un factor determinante en la citotoxicidad, ya que SoloCem y Multilink son ambos cementos autopolimerizables y tienen resultados opuestos. Aunque, un estudio de Schmid-Schwap y cols. (134) en el que se estudió la citotoxicidad de 8 cementos sobre fibroblastos, afirma que los cementos de resina que usan adhesivos, fueron menos citotóxicos que los autopolimerizables y que los cementos de fraguado químico. Además, concluyen que los cementos duales muestran menos citotoxicidad que los cementos autopolimerizables.

Los principales monómeros que se usan en las resinas de estos cementos son BisGMA, UDMA, TEGDMA, HEMA, estando ordenados, de este modo de menor a mayor biocompatibilidad (135, 136). Hanks y cols. afirman que monómeros de BisGMA, UDMA y TEGDMA son capaces de reducir la síntesis de ADN y la síntesis proteica y de inhibir funciones metabólicas celulares, lo que dar lugar a una toxicidad crónica y produce una mayor vulnerabilidad celular y tisular(137).

Clínicamente, las alteraciones se producen, habitualmente por una mala polimerización de los materiales (degradación del material, mayor probabilidad de fractura del éste o mayor filtración marginal), un mal proceso de adhesión, una inadecuada preparación y aislamiento del campo e incluso un mal pulido de las restauraciones (con mayor acumulo de placa y alteraciones gingivales localizadas). De este modo, el potencial tóxico también se puede incrementar por esta polimerización incompleta, por la inhibición del proceso de polimerización por parte del oxígeno y por la contaminación con humedad durante la



colocación del material, lo que se inhibe la polimerización de las cadenas de monómeros, disminuyendo el grado de conversión de monómeros a polímeros. Esto induce a pensar que los compuestos polimerizados adecuadamente son relativamente biocompatibles porque muestran una solubilidad mínima(138).

-Estudio de la migración celular

El ensayo de migración celular es una prueba con un gran impacto clínico que involucra una serie de eventos controlados, como la reorganización del citoesqueleto de actina, la formación de las uniones y su ensamblaje / desensamblaje. Estos eventos celulares son particularmente importantes para una variedad de procesos como la angiogénesis y la remodelación de los tejidos (139). Cuando se coloca una corona sobre implante, el tejido gingival sufre presión y se produce su remodelación. El objetivo es crear una barrera para el implante y que se forme una papila interproximal a los dientes adyacentes(140). Los resultados negativos de esta prueba, como los obtenidos al usar el cemento SoloCem (velocidad de migración más lenta en todos los casos en presencia de este material), pueden evitar el logro de estos objetivos, favoreciéndolo los buenos resultados como los de Multilink, cuya presencia fue similar al grupo control en todos los periodos de tiempo y diluciones estudiadas(141-143).

-Análisis de la morfología y la adherencia celular

En presencia de Panavia, Relyx y Multilink, los fibroblastos mostraron crecimiento celular favorable, morfología y presencia de filamentos de F-actina bien organizados similares al grupo control, no siendo así en el grupo de SoloCem, en el que se halla una baja densidad celular viable y restos celulares, evidenciando la muerte celular, no habiéndose encontrado en la literatura científica ningún estudio similar al nuestro con el que podamos comparar ni corroborar nuestros resultados respecto a este material.

En el grupo Relyx se evidenciaron células abundantes y más orientadas funcionalmente. Además, se detectó un crecimiento celular moderado y células alargadas en los grupos Multilink y Panavia. En el estudio de Rohr y cols. (99) las imágenes SEM de las células en las



muestras no revelaron diferencias visibles en la morfología ni en el patrón del crecimiento celular de los fibroblastos entre los diferentes cementos estudiados entre los que se encuentran Panavia, Multilink y Relyx.

-Análisis morfológico y químico de los cementos (EDX)

Las micrografías de la superficie de los cementos Relyx y SoloCem evidenciaron agregados esféricos e irregulares de varios tamaños. Se pudieron observar partículas con forma irregular de varios tamaños con los cementos Multilink y Panavia, al igual que en un estudio similar (99)

La composición química de los cementos es un factor determinante en la citotoxicidad de los mismos, influyendo ésta en sus efectos biológicos posteriores. Este parámetro sería interesante de analizar más detenidamente debido a los escasos estudios previos en esta área de investigación. Los efectos tóxicos de estos materiales provocados por su composición química provocan inflamación y pueden producir apoptosis en los tejidos gingivales(99). Respecto a este parámetro, el análisis elemental de la composición dada por los fabricantes en combinación con las imágenes determinadas con MEB y EDX, el Multilink muestra silicio y altas cantidades de titanio. Sin embargo, el análisis elemental mostró que SoloCem contiene altas cantidades de terbio y silicio. Relyx presentó carbono, oxígeno, aluminio, silicio, fósforo, fluoruro de aluminio, sodio, azufre, calcio, estroncio, lantano y tungsteno en su composición. Finalmente, en el caso de Panavia, la principal diferencia en términos de composición fue la presencia de altas cantidades de bario, resultados coincidentes con el artículo de Rohr y cols.(99).

Utilizando el análisis EDX, solo se pueden determinar las composiciones inorgánicas, y las composiciones orgánicas son mostradas como contenido de carbono y parcialmente de oxígeno. Además, los elementos presentes en muy pequeñas cantidades, como el cobre, que podría afectar al comportamiento celular, no se pudo capturar debido a la sensibilidad limitada del detector y la presencia de elementos más pesados que potencialmente encubren la señal de elementos más ligeros. Para los componentes orgánicos, como ya



mencionamos anteriormente, el monómero induce efectos tóxicos especialmente cuando no está suficientemente polimerizado(144).

Como ya afirmamos, aunque en el caso concreto de este material debería ser más ampliamente estudiado, puede que los efectos citotóxicos de SoloCem estén relacionados con la presencia de Zn en su composición, ya que la presencia de este elemento en diversos materiales dentales causa daños en el ADN y otros efectos citotóxicos como corroboran numerosos artículos(100, 129-131, 145-147)

-Especies reactivas de oxígeno (ROS)

En el presente estudio, demostramos que los niveles de ROS en los fibroblastos tratados con SoloCem, aumentaron significativamente en comparación con los niveles detectados en las células de control o en las células tratadas con los otros cementos, un evento celular que fue directamente relacionado con la citotoxicidad exhibida por este biomaterial. En un estudio de Stanislawski y cols. (148) la citotoxicidad inducida por TEGDMA, que es el monómero incluido en el SoloCem, sobre los fibroblastos gingivales humanos se asocia con un rápido agotamiento de glutatión seguido de una gran producción de ROS, aunque su mecanismo aún sigue siendo desconocido.

3. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

En cuanto a las limitaciones del estudio, existen en el mercado numerosos tipos y marcas de cementos, lo que da lugar a la imposibilidad de probarlos todos en un mismo estudio. Además cada vez las casas comerciales van variando las composiciones de estos y cambiando sus fórmulas, por lo que se dificulta mucho más esta labor.

Otra limitación es el hecho de ser un ensayo *in vitro*, por lo que debemos ser cautos al sacar conclusiones extrapolables a la práctica clínica. Los fibroblastos aislados en un medio de cultivo no reproducen las condiciones propias del medio oral, al obviarse tanto las barreras mecánicas como los componentes del sistema inmune, lo que da lugar a que estos sean limitados y necesiten de ensayos clínicos para complementarse y tener sus resultados mayor repercusión científica.



Otra de las limitaciones es la imposibilidad de realizar todas las pruebas existentes para comprobar la viabilidad celular, como podrían ser las pruebas de apoptosis, por ejemplo mediante citometría de flujo, inmunofluorescencia, la electroforesis de ADN o western blot para corroborar los ensayos de viabilidad celular.

Por último, se necesitarían más estudios similares al nuestro de algunos de los cementos de los que no se han realizado pruebas anteriores a este trabajo.



CONCLUSIONES



VII- CONCLUSIONES

- 1- El método de evaluación “in vitro” propuesto, constituye un sistema experimental adecuado para la evaluación de la citotoxicidad de los cementos de resina
- 2- La viabilidad celular fue mayor en presencia de Multilink seguida de Relyx, Panavia y SoloCem, que obtuvo los peores resultados.
- 3- La velocidad de migración de los fibroblastos fue significativamente menor en presencia de SoloCem, seguida de Panavia y Relyx. En presencia de Multilink no hubo diferencias significativas respecto al grupo control.
- 4- La morfología de las fibroblastos sembrados sobre todos los cementos fue correcta, excepto en presencia de SoloCem que presentó una baja densidad de células viables.
- 5- La adhesión celular sobre Relyx fue adecuada, sobre Panavia y Multilink correcta y sobre SoloCem fue muy limitada, evidenciando muerte celular. La morfología de los fibroblastos sobre Relyx y SoloCem muestra agregados esféricos e irregulares, y sobre Multilink y Panavia partículas irregulares de varios tamaños.
- 6- Los niveles de especies reactivas de oxígeno fueron mayores en presencia de SoloCem y Relyx que de Multilink y Panavia.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



VIII- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Misch CE. Contemporary implant dentistry. 3rd ed. ed. St. Louis: Mosby Elsevier; 2008.
2. Misch CE. Dental implant prosthetics. St. Louis, Mo.: Elsevier Mosby; 2005.
3. Lindhe J, Lang NP, Karring T. Clinical periodontology and implant dentistry. 5th ed. / edited by Jan Lindhe, Niklaus P. Lang, Thorkild Karring. ed. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008.
4. Tarnow DP, Emtiaz S, Classi A. Immediate loading of threaded implants at stage 1 surgery in edentulous arches: ten consecutive case reports with 1- to 5-year data. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997;12(3):319-24.
5. Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1969;3(2):81-100.
6. Vermeylen K, Collaert B, Lindén U, Björn AL, De Bruyn H. Patient satisfaction and quality of single-tooth restorations. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(1):119-24.
7. Schincaglia GP, Marzola R, Scapoli C, Scotti R. Immediate loading of dental implants supporting fixed partial dentures in the posterior mandible: a randomized controlled split-mouth study--machined versus titanium oxide implant surface. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007;22(1):35-46.
8. Srinivasan M, Meyer S, Mombelli A, Müller F. Dental implants in the elderly population: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2017;28(8):920-30.
9. Petersen PE, Yamamoto T. Improving the oral health of older people: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005;33(2):81-92.
10. Marcus SE, Drury TF, Brown LJ, Zion GR. Tooth retention and tooth loss in the permanent dentition of adults: United States, 1988-1991. *J Dent Res.* 1996;75 Spec No:684-95.
11. Boerrigter EM, Geertman ME, Van Oort RP, Bouma J, Raghoobar GM, van Waas MA, et al. Patient satisfaction with implant-retained mandibular overdentures. A comparison



with new complete dentures not retained by implants--a multicentre randomized clinical trial. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1995;33(5):282-8.

12. Geertman ME, van Waas MA, van 't Hof MA, Kalk W. Denture satisfaction in a comparative study of implant-retained mandibular overdentures: a randomized clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1996;11(2):194-200.

13. Andersson B, Odman P, Lindvall AM, Brånemark PI. Cemented single crowns on osseointegrated implants after 5 years: results from a prospective study on CeraOne. *Int J Prosthodont.* 1998;11(3):212-8.

14. Glauser R, Zembic A, Ruhstaller P, Windisch S. Five-year results of implants with an oxidized surface placed predominantly in soft quality bone and subjected to immediate occlusal loading. *J Prosthet Dent.* 2007;97(6 Suppl):S59-68.

15. Hemmings KW, Schmitt A, Zarb GA. Complications and maintenance requirements for fixed prostheses and overdentures in the edentulous mandible: a 5-year report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1994;9(2):191-6.

16. Pietrokovski J. The bony residual ridge in man. *J Prosthet Dent.* 1975;34(4):456-62.

17. Bowman SJ. Clinical Applications of the Miniscrew Anchorage System. *J Clin Orthod.* 2017;51(9):587-97.

18. Palmer RM, Smith BJ, Palmer PJ, Floyd PD. A prospective study of Astra single tooth implants. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(3):173-9.

19. Shemtov-Yona K, Rittel D. An Overview of the Mechanical Integrity of Dental Implants. *Biomed Res Int.* 2015;2015:547384.

20. Gehrke P, Bleuel K, Fischer C, Sader R. Influence of margin location and luting material on the amount of undetected cement excess on CAD/CAM implant abutments and cement-retained zirconia crowns: an in-vitro study. *BMC Oral Health.* 2019;19(1):111.

21. Abuhussein H, Pagni G, Rebaudi A, Wang HL. The effect of thread pattern upon implant osseointegration. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(2):129-36.

22. Javed F, Ahmed HB, Crespi R, Romanos GE. Role of primary stability for successful osseointegration of dental implants: Factors of influence and evaluation. *Interv Med Appl Sci.* 2013;5(4):162-7.

23. Wennerberg A, Albrektsson T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20 Suppl 4:172-84.



24. Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater.* 2007;23(7):844-54.
25. Elias CN, Meirelles L. Improving osseointegration of dental implants. *Expert Rev Med Devices.* 2010;7(2):241-56.
26. Smeets R, Stadlinger B, Schwarz F, Beck-Broichsitter B, Jung O, Precht C, et al. Impact of Dental Implant Surface Modifications on Osseointegration. *Biomed Res Int.* 2016;2016:6285620.
27. Alghamdi HS. Methods to Improve Osseointegration of Dental Implants in Low Quality (Type-IV) Bone: An Overview. *J Funct Biomater.* 2018;9(1).
28. Kordatzis K, Wright PS, Meijer HJ. Posterior mandibular residual ridge resorption in patients with conventional dentures and implant overdentures. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003;18(3):447-52.
29. Thomason JM, Feine J, Exley C, Moynihan P, Müller F, Naert I, et al. Mandibular two implant-supported overdentures as the first choice standard of care for edentulous patients--the York Consensus Statement. *Br Dent J.* 2009;207(4):185-6.
30. Paleari AG, Oliveira Junior NM, Marin DOM, Rodriguez LS, Arioli Filho JN, Pero AC, et al. One-year prospective clinical study comparing patient satisfaction and masticatory performance of mandibular overdentures supported by one versus two implants. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20160628.
31. Nogueira TE, Dias DR, Leles CR. Mandibular complete denture versus single-implant overdenture: a systematic review of patient-reported outcomes. *J Oral Rehabil.* 2017;44(12):1004-16.
32. Goodacre C, Goodacre B. Fixed vs removable complete arch implant prostheses: A literature review of prosthodontic outcomes. *Eur J Oral Implantol.* 2017;10 Suppl 1:13-34.
33. Maló P, de Araújo Nobre MA, Lopes AV, Rodrigues R. Immediate loading short implants inserted on low bone quantity for the rehabilitation of the edentulous maxilla using an All-on-4 design. *J Oral Rehabil.* 2015;42(8):615-23.
34. Maló PS, de Araújo Nobre MA, Ferro AS, Parreira GG. Five-year outcome of a retrospective cohort study comparing smokers vs. nonsmokers with full-arch mandibular implant-supported rehabilitation using the All-on-4 concept. *J Oral Sci.* 2018;60(2):177-86.



35. Engstrand P, Gröndahl K, Ohnell LO, Nilsson P, Nannmark U, Brånemark PI. Prospective follow-up study of 95 patients with edentulous mandibles treated according to the Brånemark Novum concept. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2003;5(1):3-10.
36. Aouini W, Lambert F, Vrielinck L, Vandenberghe B. Patient Eligibility for Standardized Treatment of the Edentulous Mandible: A Retrospective CBCT-Based Assessment of Mandibular Morphology. *J Clin Med.* 2019;8(5).
37. Lee DJ, Saponaro PC. Management of Edentulous Patients. *Dent Clin North Am.* 2019;63(2):249-61.
38. Jung RE, Zembic A, Pjetursson BE, Zwahlen M, Thoma DS. Systematic review of the survival rate and the incidence of biological, technical, and aesthetic complications of single crowns on implants reported in longitudinal studies with a mean follow-up of 5 years. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23 Suppl 6:2-21.
39. Gonçalves TM, Campos CH, Rodrigues Garcia RC. Mastication and jaw motion of partially edentulous patients are affected by different implant-based prostheses. *J Oral Rehabil.* 2014;41(7):507-14.
40. Swelem AA, Gurevich KG, Fabrikant EG, Hassan MH, Aqou S. Oral health-related quality of life in partially edentulous patients treated with removable, fixed, fixed-removable, and implant-supported prostheses. *Int J Prosthodont.* 2014;27(4):338-47.
41. Hameed MH, Khan FR, Ghafoor R, Azam SI. Marginal bone loss around cement and screw-retained fixed implant prosthesis. *J Clin Exp Dent.* 2018;10(10):e949-e54.
42. Shadid R, Sadaqa N. A comparison between screw- and cement-retained implant prostheses. A literature review. *J Oral Implantol.* 2012;38(3):298-307.
43. Assaf M, Gharbyeh AZA. Screw-retained crown restorations of single implants: A step-by-step clinical guide. *Eur J Dent.* 2014;8(4):563-70.
44. Lemos CA, de Souza Batista VE, Almeida DA, Santiago Júnior JF, Verri FR, Pellizzer EP. Evaluation of cement-retained versus screw-retained implant-supported restorations for marginal bone loss: A systematic review and meta-analysis. *J Prosthet Dent.* 2016;115(4):419-27.
45. Gómez-Polo M, Ortega R, Gómez-Polo C, Celemin A, Del Rio Highsmith J. Factors Affecting the Decision to Use Cemented or Screw-Retained Fixed Implant-Supported Prostheses: A Critical Review. *Int J Prosthodont.* 2018;31(1):43-54.



46. Lee H, Park S, Kwon KR, Noh G. Effects of cementless fixation of implant prosthesis: A finite element study. *J Adv Prosthodont.* 2019;11(6):341-9.
47. Rao S, Chowdhary R. Comparison of fracture toughness of all-ceramic and metal-ceramic cement retained implant crowns: an in vitro study. *J Indian Prosthodont Soc.* 2014;14(4):408-14.
48. de Brandão ML, Vettore MV, Vidigal Júnior GM. Peri-implant bone loss in cement- and screw-retained prostheses: systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2013;40(3):287-95.
49. Sailer I, Mühlemann S, Zwahlen M, Hämmerle CH, Schneider D. Cemented and screw-retained implant reconstructions: a systematic review of the survival and complication rates. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23 Suppl 6:163-201.
50. Vigolo P, Givani A, Majzoub Z, Cordioli G. Cemented versus screw-retained implant-supported single-tooth crowns: a 4-year prospective clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004;19(2):260-5.
51. Sherif S, Susarla HK, Kapos T, Munoz D, Chang BM, Wright RF. A systematic review of screw- versus cement-retained implant-supported fixed restorations. *J Prosthodont.* 2014;23(1):1-9.
52. Gotfredsen K, Wiskott A. Consensus report - reconstructions on implants. The Third EAO Consensus Conference 2012. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23 Suppl 6:238-41.
53. Lee A, Okayasu K, Wang HL. Screw- versus cement-retained implant restorations: current concepts. *Implant Dent.* 2010;19(1):8-15.
54. Wittneben JG, Millen C, Brägger U. Clinical performance of screw- versus cement-retained fixed implant-supported reconstructions--a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2014;29 Suppl:84-98.
55. Saleh M, Taşar-Faruk S. Comparing the marginal leakage and retention of implant-supported restorations cemented by four different dental cements. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2019;21(6):1181-8.
56. Lad PP, Kamath M, Tarale K, Kusugal PB. Practical clinical considerations of luting cements: A review. *J Int Oral Health.* 2014;6(1):116-20.
57. Almehmadi N, Kutkut A, Al-Sabbagh M. What is the Best Available Luting Agent for Implant Prosthesis? *Dent Clin North Am.* 2019;63(3):531-45.



58. Frisch E, Ratka-Krüger P, Weigl P, Woelber J. Extraoral Cementation Technique to Minimize Cement-Associated Peri-implant Marginal Bone Loss: Can a Thin Layer of Zinc Oxide Cement Provide Sufficient Retention? *Int J Prosthodont.* 2016;29(4):360-2.
59. Mehl C, Harder S, Wolfart M, Kern M, Wolfart S. Retrievability of implant-retained crowns following cementation. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(12):1304-11.
60. Ma S, Fenton A. Screw- versus cement-retained implant prostheses: a systematic review of prosthodontic maintenance and complications. *Int J Prosthodont.* 2015;28(2):127-45.
61. Sellers K, Powers JM, Kiat-Amnuay S. Retentive strength of implant-supported CAD-CAM lithium disilicate crowns on zirconia custom abutments using 6 different cements. *J Prosthet Dent.* 2017;117(2):247-52.
62. Chaar MS, Att W, Strub JR. Prosthetic outcome of cement-retained implant-supported fixed dental restorations: a systematic review. *J Oral Rehabil.* 2011;38(9):697-711.
63. Dede D, Armaganci A, Ceylan G, Cankaya S, Celik E. Influence of abutment material and luting cements color on the final color of all ceramics. *Acta Odontol Scand.* 2013;71(6):1570-8.
64. De Souza G, Braga RR, Cesar PF, Lopes GC. Correlation between clinical performance and degree of conversion of resin cements: a literature review. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(4):358-68.
65. Rinke S, Lattke A, Eickholz P, Kramer K, Ziebolz D. Practice-based clinical evaluation of zirconia abutments for anterior single-tooth restorations. *Quintessence Int.* 2015;46(1):19-29.
66. Mehl C, Harder S, Steiner M, Vollrath O, Kern M. Influence of cement film thickness on the retention of implant-retained crowns. *J Prosthodont.* 2013;22(8):618-25.
67. Kapoor R, Singh K, Kaur S, Arora A. Retention of Implant Supported Metal Crowns Cemented with Different Luting Agents: A Comparative Invitro Study. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(4):Zc61-4.
68. Schiessl C, Schaefer L, Winter C, Fuerst J, Rosentritt M, Zeman F, et al. Factors determining the retentiveness of luting agents used with metal- and ceramic-based implant components. *Clin Oral Investig.* 2013;17(4):1179-90.



69. Menini M, Pera F, Migliorati M, Pesce P, Pera P. Adhesive strength of the luting technique for passively fitting screw-retained implant-supported prostheses: an in vitro evaluation. *Int J Prosthodont.* 2015;28(1):37-9.
70. Woelber JP, Ratka-Krueger P, Vach K, Frisch E. Decementation Rates and the Peri-Implant Tissue Status of Implant-Supported Fixed Restorations Retained via Zinc Oxide Cement: A Retrospective 10-23-Year Study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2016;18(5):917-25.
71. Rinke S, Roediger M, Eickholz P, Lange K, Ziebolz D. Technical and biological complications of single-molar implant restorations. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(9):1024-30.
72. Worni A, Gholami H, Marchand L, Katsoulis J, Mericske-Stern R, Enkling N. Retrievability of implant-supported crowns when using three different cements: a controlled clinical trial. *Int J Prosthodont.* 2015;28(1):22-9.
73. Millen C, Brägger U, Wittneben JG. Influence of prosthesis type and retention mechanism on complications with fixed implant-supported prostheses: a systematic review applying multivariate analyses. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2015;30(1):110-24.
74. Pjetursson BE, Asgeirsson AG, Zwahlen M, Sailer I. Improvements in implant dentistry over the last decade: comparison of survival and complication rates in older and newer publications. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2014;29 Suppl:308-24.
75. Pjetursson BE, Thoma D, Jung R, Zwahlen M, Zembic A. A systematic review of the survival and complication rates of implant-supported fixed dental prostheses (FDPs) after a mean observation period of at least 5 years. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23 Suppl 6:22-38.
76. Linkevicius T, Puisys A, Vindasiute E, Linkeviciene L, Apse P. Does residual cement around implant-supported restorations cause peri-implant disease? A retrospective case analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(11):1179-84.
77. Agustín-Panadero R, Bustamante-Hernández N, Labaig-Rueda C, Fons-Font A, Fernández-Estevan L, Solá-Ruiz MF. Influence of Biologically Oriented Preparation Technique on Peri-Implant Tissues; Prospective Randomized Clinical Trial with Three-Year Follow-Up. Part II: Soft Tissues. *J Clin Med.* 2019;8(12).
78. Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. Antimicrobial treatment of peri-implant diseases. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004;19 Suppl:128-39.
79. Wilson TG, Jr. The positive relationship between excess cement and peri-implant disease: a prospective clinical endoscopic study. *J Periodontol.* 2009;80(9):1388-92.



80. Linkevicius T, Vindasiute E, Puisys A, Peciuliene V. The influence of margin location on the amount of undetected cement excess after delivery of cement-retained implant restorations. *Clin Oral Implants Res.* 2011;22(12):1379-84.
81. Korsch M, Marten SM, Walther W, Vital M, Pieper DH, Dötsch A. Impact of dental cement on the peri-implant biofilm-microbial comparison of two different cements in an in vivo observational study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2018;20(5):806-13.
82. Yildirim B. Effect of porcelain firing and cementation on the marginal fit of implant-supported metal-ceramic restorations fabricated by additive or subtractive manufacturing methods. *J Prosthet Dent.* 2020.
83. Present S, Levine RA. Techniques to control or avoid cement around implant-retained restorations. *Compend Contin Educ Dent.* 2013;34(6):432-7.
84. Dumbrigue HB, Abanomi AA, Cheng LL. Techniques to minimize excess luting agent in cement-retained implant restorations. *J Prosthet Dent.* 2002;87(1):112-4.
85. Wolfart M, Wolfart S, Kern M. Retention forces and seating discrepancies of implant-retained castings after cementation. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006;21(4):519-25.
86. Frisch E, Ratka-Krüger P, Weigl P, Woelber J. Minimizing excess cement in implant-supported fixed restorations using an extraoral replica technique: a prospective 1-year study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2015;30(6):1355-61.
87. Santosa RE, Martin W, Morton D. Effects of a cementing technique in addition to luting agent on the uniaxial retention force of a single-tooth implant-supported restoration: an in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2010;25(6):1145-52.
88. Wang W, Chang J, Wang HM, Gu XH. Effects of precementation on minimizing residual cement around the marginal area of dental implants. *J Prosthet Dent.* 2020;123(4):622-9.
89. Patel D, Invest JC, Tredwin CJ, Setchell DJ, Moles DR. An analysis of the effect of a vent hole on excess cement expressed at the crown-abutment margin for cement-retained implant crowns. *J Prosthodont.* 2009;18(1):54-9.
90. Jimenez RA, Vargas-Koudriavtsev T. Effect of Preseating, Screw Access Opening, and Vent Holes on Extrusion of Excess Cement at the Crown-Abutment Margin and Associated Tensile Force for Cement-Retained Implant Restorations. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2016;31(4):807-12.



91. Roberts EE, Bailey CW, Ashcraft-Olmscheid DL, Vandewalle KS. Fracture Resistance of Titanium-Based Lithium Disilicate and Zirconia Implant Restorations. *J Prosthodont.* 2018;27(7):644-50.
92. Wadhvani C, Rapoport D, La Rosa S, Hess T, Kretschmar S. Radiographic detection and characteristic patterns of residual excess cement associated with cement-retained implant restorations: a clinical report. *J Prosthet Dent.* 2012;107(3):151-7.
93. Korsch M, Robra BP, Walther W. Cement-associated signs of inflammation: retrospective analysis of the effect of excess cement on peri-implant tissue. *Int J Prosthodont.* 2015;28(1):11-8.
94. Standardization. IOF. 10993-5. Biological Evaluation of Medical Devices-Part 5: Test for in vitro cytotoxicity. 2009.
95. Krewski D, Acosta D, Jr., Andersen M, Anderson H, Bailar JC, 3rd, Boekelheide K, et al. Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2010;13(2-4):51-138.
96. Browne RM. The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials--does it have a role? *Int Endod J.* 1988;21(2):50-8.
97. Buskermolen JK, Roffel S, Gibbs S. Stimulation of oral fibroblast chemokine receptors identifies CCR3 and CCR4 as potential wound healing targets. *J Cell Physiol.* 2017;232(11):2996-3005.
98. Liu M, Zhou J, Yang Y, Zheng M, Yang J, Tan J. Surface modification of zirconia with polydopamine to enhance fibroblast response and decrease bacterial activity in vitro: A potential technique for soft tissue engineering applications. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2015;136:74-83.
99. Rohr N, Bertschinger N, Fischer J, Filippi A, Zitzmann NU. Influence of Material and Surface Roughness of Resin Composite Cements on Fibroblast Behavior. *Oper Dent.* 2020.
100. López-García S, Pecci-Lloret MP, García-Bernal D, Guerrero-Gironés J, Pecci-Lloret MR, Rodríguez-Lozano FJ. Are Denture Adhesives Safe for Oral Cells? *J Prosthodont.* 2020.
101. Rodriguez LC, Saba JN, Chung KH, Wadhvani C, Rodrigues DC. In vitro effects of dental cements on hard and soft tissues associated with dental implants. *J Prosthet Dent.* 2017;118(1):31-5.



102. Kavuncu G, Yilmaz AM, Karademir Yilmaz B, Yilmaz Atali P, Altunok EC, Kuru L, et al. Cytotoxicity of Different Nano Composite Resins on Human Gingival and Periodontal Ligament Fibroblast Cell Lines: An In Vitro Study. *Biomedicines*. 2020;8(3).
103. Standardization. IOF. 10993-12. Biological evaluation of Medical Devices—Part 12: Sample Preparation and Reference Materials. 2007.
104. Marvin JC, Gallegos SI, Parsaei S, Rodrigues DC. In Vitro Evaluation of Cell Compatibility of Dental Cements Used with Titanium Implant Components. *J Prosthodont*. 2019;28(2):e705-e12.
105. Rohr N, Fischer J. Tooth surface treatment strategies for adhesive cementation. *J Adv Prosthodont*. 2017;9(2):85-92.
106. Glauser S, Astasov-Frauenhoffer M, Müller JA, Fischer J, Waltimo T, Rohr N. Bacterial colonization of resin composite cements: influence of material composition and surface roughness. *Eur J Oral Sci*. 2017;125(4):294-302.
107. Oguz EI, Hasanreisoglu U, Uctasli S, Özcan M, Kiyani M. Effect of various polymerization protocols on the cytotoxicity of conventional and self-adhesive resin-based luting cements. *Clin Oral Investig*. 2020;24(3):1161-70.
108. Peters OA. Research that matters - biocompatibility and cytotoxicity screening. *Int Endod J*. 2013;46(3):195-7.
109. Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*. 2008;29(20):2941-53.
110. Rodríguez-Lozano FJ, Serrano-Belmonte I, Pérez Calvo JC, Coronado-Parra MT, Bernabeu-Esclapez A, Moraleda JM. Effects of two low-shrinkage composites on dental stem cells (viability, cell damaged or apoptosis and mesenchymal markers expression). *J Mater Sci Mater Med*. 2013;24(4):979-88.
111. Soares A, Scelza MZ, Spoladore J, Gallito MA, Oliveira F, Moraes RCM, et al. Comparison of primary human gingival fibroblasts from an older and a young donor on the evaluation of cytotoxicity of denture adhesives. *J Appl Oral Sci*. 2018;26:e20160594.
112. Bordin S, Flemmig TF, Verardi S. Role of fibroblast populations in peri-implantitis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24(2):197-204.
113. Wasiluk G, Chomik E, Gehrke P, Pietruska M, Skurska A, Pietruski J. Incidence of undetected cement on CAD/CAM monolithic zirconia crowns and customized CAD/CAM implant abutments. A prospective case series. *Clin Oral Implants Res*. 2017;28(7):774-8.



114. Coecke S, Balls M, Bowe G, Davis J, Gstraunthaler G, Hartung T, et al. Guidance on good cell culture practice. a report of the second ECVAM task force on good cell culture practice. *Altern Lab Anim.* 2005;33(3):261-87.
115. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet.* 2004;364(9429):149-55.
116. Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD. Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. *Cold Spring Harb Protoc.* 2018;2018(6).
117. Kong N, Jiang T, Zhou Z, Fu J. Cytotoxicity of polymerized resin cements on human dental pulp cells in vitro. *Dent Mater.* 2009;25(11):1371-5.
118. Weinreb M, Nemcovsky CE. In vitro models for evaluation of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontol 2000.* 2015;68(1):41-54.
119. Yarrow JC, Perlman ZE, Westwood NJ, Mitchison TJ. A high-throughput cell migration assay using scratch wound healing, a comparison of image-based readout methods. *BMC Biotechnol.* 2004;4:21.
120. Staton CA, Reed MW, Brown NJ. A critical analysis of current in vitro and in vivo angiogenesis assays. *Int J Exp Pathol.* 2009;90(3):195-221.
121. Kam Y, Guess C, Estrada L, Weidow B, Quaranta V. A novel circular invasion assay mimics in vivo invasive behavior of cancer cell lines and distinguishes single-cell motility in vitro. *BMC Cancer.* 2008;8:198.
122. Yang PF, Song M, Grove DA, Ellen RP. Filamentous actin disruption and diminished inositol phosphate response in gingival fibroblasts caused by *Treponema denticola*. *Infect Immun.* 1998;66(2):696-702.
123. Llena C, Collado-González M, García-Bernal D, Oñate-Sánchez RE, Martínez CM, Moraleda JM, et al. Comparison of diffusion, cytotoxicity and tissue inflammatory reactions of four commercial bleaching products against human dental pulp stem cells. *Sci Rep.* 2019;9(1):7743.
124. Hou J, Han ZP, Jing YY, Yang X, Zhang SS, Sun K, et al. Autophagy prevents irradiation injury and maintains stemness through decreasing ROS generation in mesenchymal stem cells. *Cell Death Dis.* 2013;4(10):e844.
125. Zhang CY, Niu G, Jin YY, Yu H, Cheng H. [Cytotoxicity of 3 resin cements to human gingival fibroblasts]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue.* 2017;26(6):594-8.



126. Alkhadashi A, Güven M, Erol F, Yıldırım G. The Effect of Different Combinations of Surface Treatments and Bonding Agents on the Shear Bond Strength Between Titanium Alloy and Lithium Disilicate Glass-Ceramic. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2020;40(2):271-6.
127. Bankoğlu Güngör M, Karakoca Nemli S. The Effect of Resin Cement Type and Thermomechanical Aging on the Retentive Strength of Custom Zirconia Abutments Bonded to Titanium Inserts. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2018;33(3):523–9.
128. Şişmanoğlu S, Demirci M, Schweikl H, Ozen-Eroglu G, Cetin-Aktas E, Kuruca S, et al. Cytotoxic effects of different self-adhesive resin cements: Cell viability and induction of apoptosis. *J Adv Prosthodont*. 2020;12(2):89-99.
129. Agnihotri R, Gaur S, Albin S. Nanometals in Dentistry: Applications and Toxicological Implications-a Systematic Review. *Biol Trace Elem Res*. 2020;197(1):70-88.
130. Lee JH, Lee HH, Kim KN, Kim KM. Cytotoxicity and anti-inflammatory effects of zinc ions and eugenol during setting of ZOE in immortalized human oral keratinocytes grown as three-dimensional spheroids. *Dent Mater*. 2016;32(5):e93-104.
131. Gong V, França R. Nanoscale chemical surface characterization of four different types of dental pulp-capping materials. *J Dent*. 2017;58:11-8.
132. Cangul S, Adiguzel O, Tekin S. Comparison of Cytotoxicity of Four Different Adhesive Materials Before and After Polymerisation. *Oral Health Prev Dent*. 2020;18(1):43-51.
133. Abuarqoub D, Aslam N, Jafar H, Abu Harfil Z, Awidi A. Biocompatibility of Biodentine™ (®) with Periodontal Ligament Stem Cells: In Vitro Study. *Dent J (Basel)*. 2020;8(1).
134. Schmid-Schwab M, Franz A, König F, Bristela M, Lucas T, Piehslinger E, et al. Cytotoxicity of four categories of dental cements. *Dent Mater*. 2009;25(3):360-8.
135. Becher R, Kopperud HM, Al RH, Samuelsen JT, Morisbak E, Dahlman HJ, et al. Pattern of cell death after in vitro exposure to GDMA, TEGDMA, HEMA and two compomer extracts. *Dent Mater*. 2006;22(7):630-40.
136. Moharamzadeh K, Van Noort R, Brook IM, Scutt AM. Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *Dent Mater*. 2007;23(1):40-4.
137. Hanks CT, Strawn SE, Wataha JC, Craig RG. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J Dent Res*. 1991;70(11):1450-5.
138. Schmalz G. The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. *Eur J Oral Sci*. 1998;106(2 Pt 2):696-706.



139. Leprince JG, Zeitlin BD, Tolar M, Peters OA. Interactions between immune system and mesenchymal stem cells in dental pulp and periapical tissues. *Int Endod J.* 2012;45(8):689-701.
140. Welander M, Abrahamsson I, Berglundh T. The mucosal barrier at implant abutments of different materials. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(7):635-41.
141. Hartlev J, Kohberg P, Ahlmann S, Andersen NT, Schou S, Isidor F. Patient satisfaction and esthetic outcome after immediate placement and provisionalization of single-tooth implants involving a definitive individual abutment. *Clin Oral Implants Res.* 2014;25(11):1245-50.
142. Cabanes-Gumbau G, Pascual-Moscardó A, Peñarrocha-Oltra D, García-Mira B, Aizcorbe-Vicente J, Peñarrocha-Diago MA. Volumetric variation of peri-implant soft tissues in convergent collar implants and crowns using the biologically oriented preparation technique (BOPT). *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2019;24(5):e643-e51.
143. Rompen E, Raepsaet N, Domken O, Touati B, Van Dooren E. Soft tissue stability at the facial aspect of gingivally converging abutments in the esthetic zone: a pilot clinical study. *J Prosthet Dent.* 2007;97(6 Suppl):S119-25.
144. Lin-Gibson S, Sung L, Forster AM, Hu H, Cheng Y, Lin NJ. Effects of filler type and content on mechanical properties of photopolymerizable composites measured across two-dimensional combinatorial arrays. *Acta Biomater.* 2009;5(6):2084-94.
145. Pires CW, Botton G, Cadoná FC, Machado AK, Azzolin VF, da Cruz IB, et al. Induction of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity by root filling pastes used in primary teeth. *Int Endod J.* 2016;49(8):737-45.
146. de Oliveira Mendes ST, Ribeiro Sobrinho AP, de Carvalho AT, de Souza Côrtes MI, Vieira LQ. In vitro evaluation of the cytotoxicity of two root canal sealers on macrophage activity. *J Endod.* 2003;29(2):95-9.
147. de Gomes PS, Figueiral MH, Fernandes MH, Scully C. Cytotoxicity of denture adhesives. *Clin Oral Investig.* 2011;15(6):885-93.
148. Stanislawski L, Lefevre M, Bourd K, Soheili-Majd E, Goldberg M, Périanin A. TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species. *J Biomed Mater Res A.* 2003;66(3):476-82.




ANEXOS




IX- ANEXOS

ANEXO I COMITÉ ÉTICO




UNIVERSIDAD DE MURCIA

Instituto de Investigación y Transferencia



CEI

Comisión de Ética de Investigación



CMM

CAMPUS MARE NOSTRUM

**INFORME DE LA COMISIÓN DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN
DE LA
UNIVERSIDAD DE MURCIA**

Jaime Peris Riera, Catedrático de Universidad y Secretario de la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia,

CERTIFICA:

Que D. Francisco Javier Rodríguez Lozano ha presentado el Proyecto de Investigación titulado "Comparación de células madre de ligamento y pulpa dental de pacientes con síndromes genéticos y pacientes sanos", a la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia.

Que dicha Comisión analizó toda la documentación presentada, y de conformidad con lo acordado el día seis de marzo de dos mil diecinueve¹, por unanimidad, se emite INFORME FAVORABLE, desde el punto de vista ético de la Investigación.


Y para que conste y tenga los efectos que correspondan firmo esta certificación con el visto bueno del Presidente de la Comisión.

Vº Bº
EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN
DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN DE LA
UNIVERSIDAD DE MURCIA

Fdo.: Francisco Esquembre Martínez

ID: 21990018

¹A los efectos de lo establecido en el art. 19.5 de la Ley 40/2015 de 1 de octubre de Régimen Jurídico del Sector Público (B.O.E. 03-10), se advierte que el acta de la sesión citada está pendiente de aprobación



Código seguro de verificación: 85b0PM102-wNR80d15-x0RT-SPoI-By8eTNGE

CODIGO ELECTRONICO... Página 1 de 1



ANEXO II

HOJA EXPLICATIVA AL PARTICIPANTE

Proyecto de Investigación titulado: “Efectos biológicos de cuatro cementos definitivos usados en implantología sobre los fibroblastos gingivales humanos”.

Investigadores principales: D. José Luis Guerrero Gironés, Dr. Francisco Javier Rodríguez Lozano.

Promotor: Servicio de Doctorado en Integración y Modulación de Señales en Biomedicina (Universidad de Murcia).

Se solicita su participación en este proyecto de investigación, **cuyo objetivo principal** es profundizar en el conocimiento de la biocompatibilidad de cementos de resina usados en implantología.

En este estudio participa el servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca y el Laboratorio de Investigación Biosanitaria (LAIB) de la Universidad de Murcia

Se estima que participen un total de 10 pacientes de dicho servicio hospitalario.

Su participación en este estudio no implica que obtenga un beneficio económico. Sin embargo, la identificación de posibles factores citotóxicos relacionados con la utilización de estos cementos podría beneficiar el curso de la terapia implantológica a nivel clínico. Su participación en el estudio es totalmente voluntaria, y si usted decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que usted precise y la relación con el equipo médico que le atiende no va a verse afectada.

Si usted decide participar, se le realizará una historia clínica breve y la exodoncia de un/varios cordal/es programada por su dentista/facultativo y se extraerá el tejido gingival que rodea a la/las pieza/as exodonciada/as para obtener las muestras de células gingivales. La toma de muestras no supone ningún riesgo para su salud ya que se realiza en un laboratorio de manera *in vitro* a partir de los cordales ya exodonciados.

Se le pedirá su consentimiento para que con sus cordales exodonciados se hagan 2 cosas:

1. Que acepte que se obtengan células gingivales a partir de los tejidos circundantes a sus cordales para la realización de este estudio.
2. Que autorice al investigador a almacenar su muestra para la realización de otros estudios similares al presente, con técnicas similares y con los mismos u otros cementos que se desarrollen en el futuro. Si usted acepta autorizar este almacenamiento, se eliminarán de la muestra todos los vínculos con su identidad, antes de guardarla, y no será posible llegar a conocer su identidad a partir de ella.

Usted debe otorgar su consentimiento informado por escrito.



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de Investigación titulado: “Efectos biológicos de cuatro cementos definitivos usados en implantología sobre los fibroblastos gingivales humanos”.

Investigadores principales: D. José Luis Guerrero Gironés, Dr. Francisco Javier Rodríguez Lozano

Promotor: Servicio de Doctorado en Integración y Modulación de Señales en Biomedicina (Universidad de Murcia).

1. Yo.....declar o bajo mi responsabilidad que he leído la hoja de información sobre el estudio y acepto participar en este estudio.

2. Se me ha entregado una copia de la hoja de información al paciente y una copia de este consentimiento informado, fechado y firmado. Se me han explicado las características y el objetivo del estudio y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.

3. Sé que se mantendrá en secreto mi identidad y que se identificará mi/s cordal/es con un número codificado.

4. Soy libre de retirarme del estudio en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicación y sin que repercuta negativamente sobre mi tratamiento médico futuro. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra codificada. Si se hubiera retirado previamente el vínculo de identificación de la muestra, no se podrá relacionar conmigo, de forma que no se podrá destruir.

5. Entiendo que el objetivo del estudio es evaluar la biocompatibilidad de células gingivales humanas frente a cementos usados en implantología y que los resultados del mismo no se comunicarán ni a mí ni a mi médico, excepto en el caso de que dichos hallazgos tengan alguna implicación significativa para la salud de los participantes.

Consiento en participar voluntariamente en este estudio.

Fecha:

Firma del paciente:.....

Constato que he explicado las características y el objetivo del estudio y sus apartados y los riesgos y beneficios potenciales al sujeto cuyo nombre aparece escrito más arriba. El sujeto consiente en participar por medio de su firma fechada en persona.

Fecha:

Firma del facultativo: D. José Luis Guerrero Gironés