

UNIVERSIDAD DE
MURCIA



Universidad de Murcia

Facultad de Medicina

**ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO,
RADIOLÓGICO Y MECÁNICO DE IMPLANTES
DE ZIRCONIO MODIFICADOS POR LÁSER DE
FEMTOSEGUNDO EN CARGA INMEDIATA
VERSUS CARGA NO INMEDIATA.
ESTUDIO EXPERIMENTAL EN PERROS FOX
HOUND A TRES MESES.**

Tesis Doctoral

Antonio Aguilar-Salvatierra Raya

2012

D. VICENTE VICENTE ORTEGA, Presidente de la Comisión Académica del Programa Oficial de Posgrado “BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA DEL ENVEJECIMIENTO”, del Departamento de Dermatología, Estomatología, Radiología y Medicina Física,

CERTIFICA:

Que la Comisión Académica, en su reunión ordinaria celebrada el día **XX de XXXXXXX** de 2012, ha aprobado por unanimidad la Memoria de Tesis Doctoral titulada **“ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO, RADIOLÓGICO Y MECÁNICO DE IMPLANTES DE ZIRCONIO MODIFICADOS POR LÁSER DE FEMTOSEGUNDO EN CARGA INMEDIATA VERSUS CARGA NO INMEDIATA. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN PERROS FOX HOUND A TRES MESES”**, que ha sido realizada por D. **ANTONIO AGUILAR-SALVATIERRA RAYA**, bajo la dirección del Dr. José Luis Calvo Guirado, Profesor Titular de Universidad en el área de Estomatología, el Dr. Gerardo Gómez Moreno, Profesor Titular en el área de Estomatología de la Universidad de Granada y el Dr. Javier Guardia Muñoz, y se da la conformidad para que sea presentada ante la Comisión de Doctorado.

Murcia, 10 de mayo de 2012

EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA

D. JOSÉ LUIS CALVO GUIRADO, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD DEL ÁREA DE ESTOMATOLOGÍA, EN EL DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA, ESTOMATOLOGÍA, RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA,

AUTORIZA:

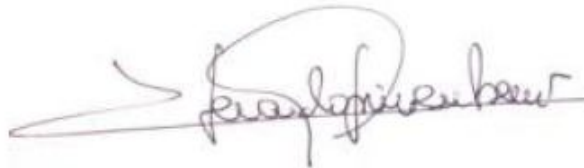
La presentación de la Tesis Doctoral titulada **“ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO, RADIOLÓGICO Y MECÁNICO DE IMPLANTES DE ZIRCONIO MODIFICADOS POR LÁSER DE FEMTOSEGUNDO EN CARGA INMEDIATA VERSUS CARGA NO INMEDIATA. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN PERROS FOX HOUND A TRES MESES”**, que ha sido realizada por D. **ANTONIO AGUILAR-SALVATIERRA RAYA**, bajo mi inmediata dirección y supervisión, en el Departamento de Dermatología, Estomatología y Radiología y Medicina Física, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

Murcia, 10 de mayo de 2012

D. GERARDO GÓMEZ MORENO, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD
EN EL DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE
GRANADA

AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada **“ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO, RADIOLÓGICO Y MECÁNICO DE IMPLANTES DE ZIRCONIO MODIFICADOS POR LÁSER DE FEMTOSEGUNDO EN CARGA INMEDIATA VERSUS CARGA NO INMEDIATA. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN PERROS FOX HOUND A TRES MESES”**, que ha sido realizada por D. **ANTONIO AGUILAR-SALVATIERRA RAYA**, bajo mi inmediata dirección y supervisión, en el Departamento de Dermatología, Estomatología y Radiología y Medicina Física, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Gerardo Gómez Moreno', with a long horizontal stroke extending to the left.

Granada, 10 de mayo de 2012

D. JAVIER GUARDIA MUÑOZ, DOCTOR EN ODONTOLOGÍA POR LA
UNIVERSIDAD DE GRANADA, EN EL DEPARTAMENTO DE
ESTOMATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada **“ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO, RADIOLÓGICO Y MECÁNICO DE IMPLANTES DE ZIRCONIO MODIFICADOS POR LÁSER DE FEMTOSEGUNDO EN CARGA INMEDIATA VERSUS CARGA NO INMEDIATA. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN PERROS FOX HOUND A TRES MESES”**, que ha sido realizada por D. **ANTONIO AGUILAR-SALVATIERRA RAYA**, bajo mi inmediata dirección y supervisión, en el Departamento de Dermatología, Estomatología y Radiología y Medicina Física, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. Guardia Muñoz', enclosed within a large, loopy oval shape.

Granada, 10 de mayo de 2012

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mis más profundos agradecimientos a las personas que en mayor o menor medida han contribuido a que la realización de esta tesis doctoral se haga realidad:

Al profesor José Luis Calvo Guirado, al que nunca podré corresponder como merecería tantos años de conocimiento y sabiduría para mi formación. Por si no fuera suficiente la deuda de gratitud que con él tengo contraída, me ha distinguido al dirigir este trabajo, y me honra cada día con su personal trato y afecto.

Al profesor Gerardo Gómez Moreno, sin tu ayuda y amistad no hubiera comenzado el camino de la investigación que espero pueda ser largo junto a tan gran maestro. Es un honor estar cerca de alguien tan grande en lo personal y un maestro excepcional.

También quisiera mostrar mi gratitud y más sincero cariño al doctor Javier Guardia Muñoz, por tener siempre la puerta abierta para resolver dudas, atender quejas y en general, ayudarme en todo tipo de problemas que han surgido en el desarrollo del trabajo.

A mis compañeros María Ramos Oltra y Carlos Pérez-Albacete, sin vuestra ayuda no habría podido conseguir este bonito fin.

A los profesores Rafael Delgado, José Maté, Bruno Negri y M^a Piedad Ramírez por su amistad y colaboración incondicional.

A mis padres José y María del Carmen y mi hermano José María, porque con su esfuerzo, su apoyo y comprensión han hecho posible que llegue este día.

A mis compañeros y amigos, Maribel, Vanesa, Santiago, Myrian, Antonio, Inma, David, Loli, que me han ayudado tanto con sus ánimos.

A mis compañeros del VIII Master de Odontología Integrada, Implantología y Biomateriales de la Universidad de Murcia, por ayudar en los momentos de estrés a seguir adelante.

A todos los que me ayudaron en la realización del trabajo experimental, en el Animalario de la Universidad de Murcia, en el Servicio de Microscopia, en el Análisis de Imagen y en el Servicio de Estadística.

A la Compañía de implantes Bredent, por su valioso apoyo.

A todos, Muchas Gracias de corazón.

*Las ciencias tienen las raíces amargas,
pero muy dulces los frutos.*

Aristóteles (384 AC-322 AC)

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
1.1. Generalidades.....	2
1.2. Carga convencional.....	9
1.3. Carga inmediata.....	11
1.4. Implantes de materiales cerámicos. Implantes de zirconia.....	18
1.4.1. Características del zirconio.....	19
1.4.2. Biocompatibilidad del zirconio.....	21
1.4.3. Zirconia como biomaterial.....	22
1.4.4. Métodos de texturización de la superficie de los implantes.....	23
1.4.5. Microtexturizado por láser de los implantes zirconia.....	25
2. Antecedentes y justificación.....	29
3. Objetivos.....	34
4. Material y métodos	36
4.1. Animales de experimentación.....	37
4.2. Implantes utilizados.....	38
4.3. Diseño del estudio.....	39
4.3.1. Procedimientos de Fase 1.....	40
4.3.2. Procedimientos de Fase 2.....	44
4.3.3. Procedimientos de Fase 3.....	53
4.3.4. Parámetros radiológicos.....	55
4.3.5. Parámetros histomorfométricos.....	56
4.3.6. Expectometría por rayos X de los elementos químicos con microscopía electrónica de barrido.....	57

4.3.7. Análisis de las muestras por microscopía óptica.....	64
4.3.8. Análisis estadístico.....	66
5. Resultados.....	67
5.1. Resultados.....	68
5.2. Bone-to-implant contact (BIC).....	69
5.3. Reabsorción de hueso crestral.....	72
5.4. Estabilidad del implante.....	73
5.5. Análisis de elementos.....	75
6. Discusión.....	76
7. Conclusiones.....	85
8. Anexo	87
9. Bibliografía.....	89

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- **BIC**, Bone-to-implant contact: Contacto hueso-implante
- **BMPs**, Proteína Morfogénica Ósea
- **CBL**, Perdida de hueso crestal
- **EDX**, Espectrometría de energía dispersa de rayos X
- **IGF I y II**, Factor de crecimiento semejante a insulina I y II
- **IL-1**, Interleuquina 1
- **ISQ**, Implant Stability Quotient: Cociente de estabilidad del implante
- **M1**, Primer molar mandibular derecho e izquierdo
- **MEB**, Microscopio electrónico de barrido
- **Ncm**, Newton por centímetro
- **P1**, Primer premolar mandibular derecho e izquierdo
- **P2**, Segundo premolar mandibular derecho e izquierdo
- **P3**, Tercer premolar mandibular derecho e izquierdo
- **P4**, Cuarto premolar mandibular derecho e izquierdo
- **PDGF**, Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
- **PTH**, Paratohormona
- **PTV**, Valores Periotest[®]
- **TGF- β** , Factor de crecimiento transformante *beta*
- **Y-TZP**, Yttrium-stabilized tetragonal polycrystals: óxido de zirconio parcialmente estabilizado con itrio
- **ZrO₂**, Dióxido de zirconio

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Implante osteointegrado en el hueso mandibular.
- Figura 2. Policristales. En blanco zirconio y en negro itrio.
- Figura 3: Fases de óxido de zirconio (<http://www.textoscientificos.com/>).
- Figura 4. Surcos creados en la superficie del implante mediante láser de femtosegundo.
- Figura 5. A (Detalle del surco creado por láser); B (Imagen del fondo del surco, 2500x).
- Figura 6. Tipo de implante utilizado, se observan en la imagen de microscopía electrónica de barrido los surcos creados con el láser.
- Figura 7. Premolares y molar mandibular utilizados en el estudio.
- Figura 8. Odontosección de las piezas en el momento de las exodoncias.
- Figura 9. Presentación comercial de los fármacos usados en la cirugía.
- Figura 10. Monitor para controlar las constantes vitales del animal.
- Figura 11. Radiovisiografía de premolares mandibulares.
- Figura 12. Antibiótico y antiinflamatorio usado en el post-operatorio.
- Figura 13. Disposición de los implantes en la mandíbula del perro.
- Figura 14: Disposición sobre el hueso de los lugares de colocación de los implantes.
- Figura 15. Lechos preparados para la colocación de los implantes.
- Figura 16. Colocación del implante de zirconia, tratado con el láser en todo el cuerpo del implante.
- Figura 17. Posición final de los 4 implantes colocados en una hemimandíbula.

- Figura 18. Cofias de plástico Bredent Médical® colocados sobre los implantes para recibir la prótesis.
- Figura 19. Ferulización de las cofias con resina plástica previa a la realización de la prótesis.
- Figura 20. Ajuste de la oclusión de la prótesis para la carga inmediata sobre el Pi-Ku-Plast®.
- Figura 21. Diferentes imágenes radiográficas de los implantes colocados en el hueso mandibular.
- Figura 22. Perio-test® utilizado para la determinación de la estabilidad de los implantes.
- Figura 23. Realización clínica de las mediciones con el Perio-test®.
- Fig. 24 Presentación de los fármacos usados en el sacrificio del animal.
- Figura 25. Pieza quirúrgica tras la extirpación de la hemimandíbula.
- Figura 26. Determinación de la altura de la cresta ósea. A (altura del hueso crestal en el momento de la colocación de los implantes); B (Disminución de la cresta ósea durante el tiempo en boca del implante).
- Figura 27. Mediciones del BIC (a) BIC I, (b) BIC II, (c) BIC III.
- Figura 28. Análisis de elementos sobre la superficie del cuello del implante. A: muestra del implante analizada, I (implante), H (hueso), Flecha (área en que se realizó en análisis de elementos. B: Concentración de carbono en la muestra. C: Concentración de oxígeno en la muestra. D: Concentración de itrio en la muestra. E: Concentración de zirconio en la muestra.

- Figura 29. Análisis de elementos sobre la superficie del cuerpo del implante. A: muestra del implante analizada, I (implante), H (hueso), Flecha (área en que se realizó en análisis de elementos. B: representación gráfica de los elementos analizados. C: concentración de carbono en la muestra. D: concentración de oxígeno en la muestra. E: concentración de itrio en la muestra. F: concentración de zirconio en la muestra.
- Figura 30. Análisis de elementos sobre la superficie del ápice del implante. A: muestra del implante analizada, I (implante), H (hueso), Flecha (área en que se realizó en análisis de elementos. B: Concentración de carbono en la muestra. C: Concentración de oxígeno en la muestra. D: Concentración de itrio en la muestra. E: Concentración de zirconio en la muestra.
- Figura 31. Imágenes del cuello del implante de zirconia a diferentes aumentos. A: 20X; B: 75X; C: 150X.
- Figura 32. Imágenes del cuerpo del implante de zirconia a diferentes aumentos. A: 20X; B: 75X; C: 150X.
- Figura 33. Imágenes del ápice del implante de zirconia a diferentes aumentos. A: 20X; B: 75X; C: 150X.
- Figura 34. Imagen tomada del microscopio óptico en la que se aprecia el contacto del hueso con la superficie tratada por el láser.
- Figura 35. Detalle del contacto íntimo hueso-implante.
- Figura 36. Porcentaje de contacto óseo en los implantes en carga inmediata y convencional a 1 y 3 meses.

- Figura 37. Imagen a 150X donde se aprecia como el hueso penetra en el interior de los microsurcos creados en la superficie del implante.
- Figura 38. Imagen sin retrodispersión que muestra a 800X y 1500X la penetración del hueso en los microsurcos del implante.
- Figura 39. Imagen del ápice a 150X que muestra la entrada del hueso en el espacio interrosca. I: Implante; H: Hueso.
- Figura 40. Formación de hueso nuevo en la superficie del implante. Detalle de la gran cantidad de células existentes.
- Figura 41. Muestra de la remodelación ósea en la parte más externa de las roscas.
- Figura 42. Distancia de reabsorción de hueso crestal (en milímetros) en los implantes en carga inmediata y convencional a 1 y 3 meses.
- Figura 43. Valores medios de estabilidad de los implantes. Grupo de animales que fue sacrificado a 1 mes.
- Figura 44. Valores medios de estabilidad de los implantes. Grupo de animales que fue sacrificado a los 3 meses.

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1. Principales proteínas constituyentes de la matriz ósea.
- Tabla 2. Parámetros analizados a un mes.
- Tabla 3. Parámetros analizados a tres meses.
- Tabla 4. Porcentaje de elementos detectados mediante EDX por microscopio electrónico de barrido al primer mes para los grupos con carga y sin carga.
- Tabla 5. Porcentaje de elementos detectados mediante análisis de elementos (EDX) del microscopio electrónico de barrido al tercer mes para los grupos con carga y sin carga.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades.

- **Fisiología ósea**

El tejido óseo es una variedad de tejido conectivo que consiste esencialmente en una matriz extracelular mineralizada y células especializadas: osteoblastos, osteocitos y osteoclastos.

La sustancia osteoide o componente orgánico de la matriz, producida por los osteoblastos, está constituida en un 90% por fibras de colágeno tipo I, que representa la proteína estructural fundamental de la matriz ósea. El 10% restante lo componen una serie de proteínas no colágenas de menor tamaño que modulan la mineralización y la unión de las células a la matriz, y entre las que destacan (Tabla 1):

- Fosfatasa alcalina: producida por los osteoblastos, es una enzima que libera fosfato inorgánico a partir de ésteres fosfóricos con un pH óptimo de 8,6. Merced a ello, por un lado incrementa la concentración de iones fosfatos necesarios para la mineralización de la matriz orgánica; por otro, bloquea la acción inhibidora que los ésteres fosfóricos poseen sobre la mineralización.
- Glucoproteínas con secuencia RGD (Arg-Gly-Asp): osteopontina, osteonectina, fibronectina, trombospondina y las sialoproteínas óseas contienen repetida la secuencia RGD (Arg-Gly-Asp), que es reconocida específicamente por las integrinas de osteoblastos y osteoclastos. Constituye un sistema de reconocimiento que permite el anclaje de las células óseas a la matriz y su migración sobre ella, base de los procesos de mineralización, remodelado y reparación del hueso.
- Proteoglucanos: constituidos por un núcleo proteico en el que se engarzan glucosaminoglucanos, son macromoléculas sintetizadas por los osteoblastos.

En la matriz osteoide existen al menos cuatro tipos de estas moléculas: condroitín sulfato (el proteoglucano de mayor tamaño, presente sobre todo en las áreas de formación de hueso, donde sirve para reservar espacio para el hueso maduro); hialuronano (que interviene en la morfogénesis ósea); decorina y biglucano (dos pequeños proteoglucanos que actúan como moduladores de factores de crecimiento).

- Proteínas con ácido γ -carboxiglutámico (osteocalcina y proteína del osteoide con ácido γ -carboxiglutámico): este aminoácido modificado se combina con dos iones Ca^{2+} entre sus dos grupos carbonilo. Los osteoblastos sintetizan osteocalcina (una proteína cuyas concentraciones en plasma guardan cierta correlación con la mineralización) y la proteína del osteoide con ácido γ -carboxiglutámico, que inhibe la mineralización del colágeno en tejidos no óseos.
- Proteínas séricas retenidas en el mineral óseo: en el tejido óseo se hallan cantidades significativas de albúmina, inmunoglobulinas, hemoglobina, α 1-antitripsina, β 2-microglobulina, α 2-SH-glicoproteína y lipoproteína Apo A-1.

La fase inorgánica está compuesta por pequeños cristales de un mineral de carácter alcalino, la hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$. Estos cristales se incrustan entre las fibras de colágeno para formar un tejido que reúne las características adecuadas de rigidez, flexibilidad y resistencia ^{1,2}.

- **Osteoblastos y osteocitos**

Al microscopio óptico, los osteoblastos maduros son células grandes de forma cuboidea, de 20-30 μm de diámetro mayor, con un núcleo ovalado y citoplasma

¹ Arnett TR. Manual Práctico de Osteoporosis y Enfermedades del Metabolismo Mineral. Madrid: Jarpyo Editores; 2004. p. 1-6.

² Prieto S. Fisiología Humana. Madrid: McGraw-Hill; 2005. p. 981-94.

basófilo azulado por su abundante ARN. Con el microscopio electrónico muestran un notable retículo endoplásmico rugoso, propio de las células que desarrollan una intensa síntesis proteica.

Proteínas de la matriz osteoide	
1.	Colágeno tipo I (90%)
2.	Proteínas no colágenas (10%):
a)	Glucoproteínas:
	<ul style="list-style-type: none"> • Fosfatasa alcalina • Glucoproteínas con secuencia RGD (osteopontina, osteonectina, fibronectina, trombospondina, sialoproteínas óseas)
b)	Proteoglucanos
c)	Proteínas con ácido γ -carboxiglutámico (osteocalcina, proteína del osteoide con ácido γ -carboxiglutámico)
d)	Proteínas séricas retenidas en el hueso

Tabla 1. Principales proteínas constituyentes de la matriz ósea.

Embriológicamente los osteoblastos derivan de células progenitoras multipotenciales del estroma medular. Estas células originan osteoblastos, además de fibroblastos, condrocitos, adipocitos y células musculares, algunas de cuyas características fenotípicas son semejantes a las del osteoblasto.

El desarrollo de los osteoblastos está controlado por dos genes:

- a) El CBF A1 (core-binding factor A1), codificador del factor de transcripción así denominado, específico de los progenitores del osteoblasto; este factor regula la expresión de genes de proteínas específicas de esta célula, como osteopontina, osteocalcina, colágeno tipo I, sialoproteínas óseas y el ligando del receptor-activador del factor nuclear- κ B (RANK-L).

b) El gen *Ihh* (Indian hedgehog), igualmente necesario para el desarrollo embrionario del hueso y la actividad de los osteoblastos³.

Los osteoblastos son células secretoras metabólicamente activas que expresan proteínas como la osteocalcina y osteopontina, la osteonectina y otros proteoglicanos y factores señalizadores solubles (BMPs, TGF- β , IGF I y II, IL-1 y PDGF). La expresión de estos productos por parte de los osteoblastos ocurre durante la embriogénesis ósea y durante su mantenimiento (remodelación) y reparación. Las señales que dirigen la mineralización osteoide todavía no han sido identificadas. Es probable que la acumulación de proteínas a las cuales se une el calcio, sea el inicio del proceso de mineralización⁴.

Aunque los osteoblastos están polarizados hacia el hueso, la liberación de las proteínas de la matriz osteoide no se limita a su polo basal, sino que muchos de ellos van quedando envueltos en tal matriz, convirtiéndose en osteocitos incluidos en las lagunas que se forman en ella. Junto con ese destino, los osteoblastos pueden derivar a osteocitos de superficie, también conocidos como células limitantes o de revestimiento. Ambos tipos de osteocitos poseen receptores para paratohormona (PTH) y expresan in vivo ARNm de: actina- β , factores de transcripción c-fos y c-jun, colágeno y proteínas no colágenas, así como el ARNm del factor de crecimiento semejante a insulina I (IGF-I).

En el hueso ya formado, los osteocitos incluidos en las lagunas u osteoplasmas en la matriz mineralizada, poseen forma estrellada, con numerosas y finas prolongaciones, y están comunicados entre sí por una red de canales, o conductos calcóforos, bañada

3 Yamaguchi A, Komori T, Suda T. Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and *Cbfa1*. *Endocr Rev* 2000;21:393-411.

4 McCarthy TL, Ji C, Centrella M. Links among growth factors, hormones, and nuclear factors with essential roles in bone formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000;11:409-22.

por el denominado fluido óseo. Tal red de canales se forma antes de que se mineralice la matriz osteoide. Con microscopía electrónica se ha observado que en el interior de esos canales los osteocitos contactan mediante sus prolongaciones, lo que permite su comunicación con la superficie del hueso. Precisamente, un papel fisiológico primordial de los osteocitos es la detección de estímulos mecánicos y variaciones de tensión y morfología del hueso producidas por las cargas que soportan en su superficie, así como su traducción en el remodelado óseo.

Cuando se produce la reabsorción del hueso por los osteoclastos, los osteocitos quedan fuera de las lagunas como células de revestimiento en reposo.

- **Osteointegración y biología ósea en implantología oral**

Las enormes posibilidades terapéuticas que ofrece han hecho de la implantología oral la rama de la Odontología que más se ha desarrollado en los últimos 15 años.

Un requisito imprescindible para el éxito del tratamiento implantológico es la unión firme, estable y duradera del implante bucal al sustrato óseo que lo engloba para luego poder construir sobre él una prótesis dental.

Los dientes ausentes y los tejidos bucales de soporte se han reemplazado tradicionalmente con prótesis tanto fijas como removibles para restaurar la capacidades funcionales y estéticas de los pacientes. En ocasiones, los pacientes no están satisfechos con las prótesis provisionales y no siempre es posible colocar una prótesis fija si el número de dientes pilares remanentes es insuficiente.

Desde la década de los 70, los implantes dentales osteointegrados constituyen una alternativa para reemplazar los dientes ausentes.⁵ Los implantes dentales se insertan en el hueso de los maxilares para soportar una prótesis dental (Figura 1) y son retenidos debido a la integración ósea en su superficie (osteointegración).⁶

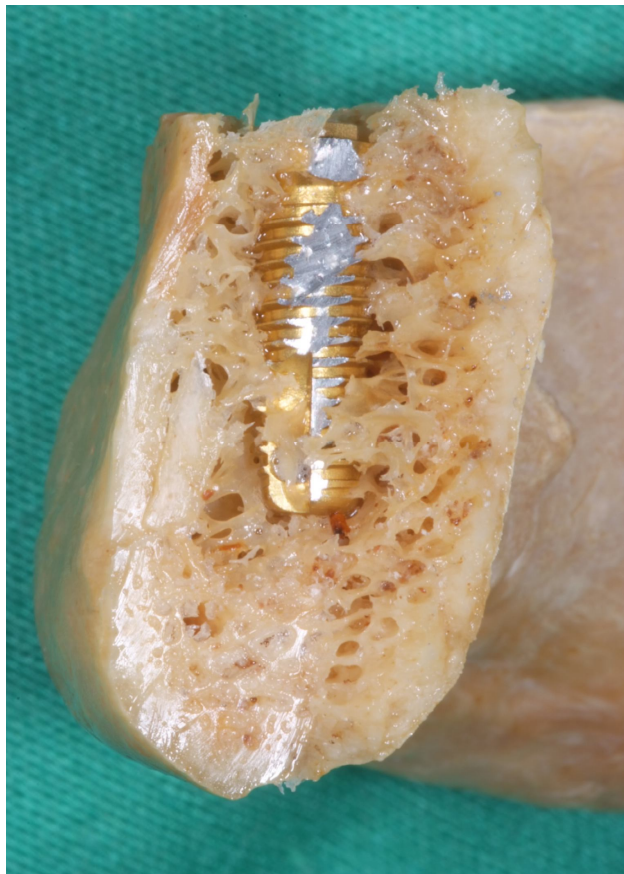


Figura 1. Implante osteointegrado en el hueso mandibular. Cortesía de Prof. Calvo-Guirado.

La estabilidad primaria del implante y la falta de micromovimientos se consideran dos de los factores principales necesarios para el logro de éxito elevado predecible de los

5 Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* 1977;16:1-132.

6 Esposito M, Grusovin MG, Achille H, Coulthard P, Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: different times for loading dental implants. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;CD003878.

implantes orales osteointegrados.⁷ Un implante dental osteointegrado con éxito se ancla directamente al hueso; sin embargo, en presencia de movimientos, puede producir una interfase de partes blandas conocida como fibrointegración, que es muy negativa ya que puede encapsular el implante y provocar su fracaso.⁸ Para disminuir el riesgo de fibrointegración del implante, se recomienda mantener los implantes libres de carga durante el período de cicatrización (tres a cuatro meses en mandíbula y seis a ocho meses en maxilar superior).⁵

En general, durante el período de cicatrización se usan prótesis provisionales; sin embargo, muchos pacientes encuentran estas prótesis temporales bastante incómodas, por lo que resulta beneficioso reducir el período de cicatrización sin amenazar el éxito del implante. En 1990 se publicó el primer ensayo clínico longitudinal en el que se sugirió que los implantes dentales podrían cargarse de inmediato en mandíbula.⁹

Actualmente, los implantes de carga inmediata y temprana se utilizan comúnmente, en mandíbulas con buena calidad de densidad ósea, lo que conlleva una buena estabilidad primaria.¹⁰ Algunos autores también propugnan que el uso de alguna preparación específica de la superficie intraósea del implante puede reducir el tiempo

7 Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 1981;52:155-70.

8 Brunski JB, Moccia AF, Jr., Pollack SR, Korostoff E, Trachtenberg DI. The influence of functional use of endosseous dental implants on the tissue-implant interface. I. Histological aspects. *J Dent Res* 1979;58:1953-69.

9 Schnitman PA, Wohrle PS, Rubenstein JE. Immediate fixed interim prostheses supported by two-stage threaded implants: methodology and results. *J Oral Implantol* 1990;16:96-105.

10 Branemark PI, Engstrand P, Ohnrell LO, Grondahl K, Nilsson P, Hagberg K, Darle C, Lekholm U. Branemark Novum: a new treatment concept for rehabilitation of the edentulous mandible. Preliminary results from a prospective clinical follow-up study. *Clin Implant Dent Relat Res* 1999;1:2-16.

de cicatrización y mejorar el contacto hueso-implante.¹¹ Para disminuir el riesgo de que los implantes de carga inmediata sufran un fracaso temprano, se han sugerido varias pautas; entre las que destacan: la preparación previa del lecho implantario para lograr una estabilidad primaria alta; el uso de una prótesis temporal sin carga oclusal durante los dos primeros meses de cicatrización; o la carga progresiva de las prótesis. Se ha observado el éxito de los implantes de carga inmediata en mandíbula, mientras que en el maxilar superior parecer ser más discutido.^{12,13}

Sería útil saber si hay diferencias en las tasas de éxito entre los implantes de carga inmediata comparados con los de carga convencional, sobretodo en el caso de los implantes de zirconia, ya que este material resulta todavía una incógnita en relación a sus tiempos de carga, lo ha constituido el principal objeto de estudio de nuestro trabajo de investigación.

1.2. Carga convencional.

La carga convencional o no inmediata consiste en la obtención de un período de curación ósea, tras la inserción de los implantes libres de carga masticatoria directa. Esta condición fue establecida por Brånemark y cols. para conseguir la osteointegración.⁵ Tras su colocación, los implantes son recubiertos por la mucosa

11 Rocuzzo M, Aglietta M, Bunino M, Bonino L. Early loading of sandblasted and acid-etched implants: a randomized-controlled double-blind split-mouth study. Five-year results. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:148-52.

12 Cannizzaro G, Leone M. Restoration of partially edentulous patients using dental implants with a microtextured surface: a prospective comparison of delayed and immediate full occlusal loading. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:512-22.

13 Testori T, Bianchi F, Del Fabbro M, Szmukler-Moncler S, Francetti L, Weinstein RL. Immediate non-occlusal loading vs. early loading in partially edentulous patients. *Pract Proced Aesthet Dent* 2003;15:787-94.

gingival “implantes sumergidos” y después de un periodo de curación que variaba entre 3 y 6 meses tras la primera cirugía (dependiendo de la densidad ósea que facilite la correcta estabilidad), los implantes se conectan a la cavidad oral mediante pilares transmucosos. Esta técnica se conoce como “implantes en dos fases quirúrgicas”. Dado que la restauración protésica se realiza sobre los pilares, la aplicación de la carga masticatoria directa sobre los implantes se distancia entre 4 y 8 meses desde la colocación quirúrgica de los mismos.

Varios autores han publicado una modificación del protocolo descrito por Brånemark utilizando implantes no sumergidos y períodos de curación ósea de 3 a 6 meses de duración consiguiendo tasas de éxito adecuadas.^{14, 15} Estos implantes (ITI®) se colocaron en lugares con una calidad de hueso tipo 2 de la clasificación de Lekholm y Zarb (una gruesa capa de hueso compacto rodea un núcleo de alta densidad de hueso trabecular).¹⁶

Posteriormente, se han obtenido los mismos resultados utilizando implantes Brånemark, también con preferencia en zonas mandibulares.¹⁷ Estos protocolos utilizan un solo tiempo quirúrgico, “implantes en una fase quirúrgica”, para colocar implantes roscados con un cuello liso a modo de pilar transmucoso o implantes junto a su pilar en la misma cirugía, que se conocen como “implantes no sumergidos” (Figura 2).

14 Buser D, Weber HP, Bragger U, Balsiger C. Tissue integration of one-stage ITI implants: 3-year results of a longitudinal study with Hollow-Cylinder and Hollow-Screw implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1991;6:405-12.

15 Mericske-Stern R, Milani D, Mericske E, Olah A. Periotest measurements and osseointegration of mandibular ITI implants supporting overdentures. A one-year longitudinal study. *Clin Oral Implants Res* 1995;6:73-82.

16 Lekholm U, Zarb GA. Patient selection and preparation. *Tissue-integrated prostheses*. Chicago: Quintessence; 1985.

17 Ericsson I, Randow K, Nilner K, Petersson A. Some clinical and radiographical features of submerged and non-submerged titanium implants. A 5-year follow-up study. *Clin Oral Implants Res* 1997;8:422-6.

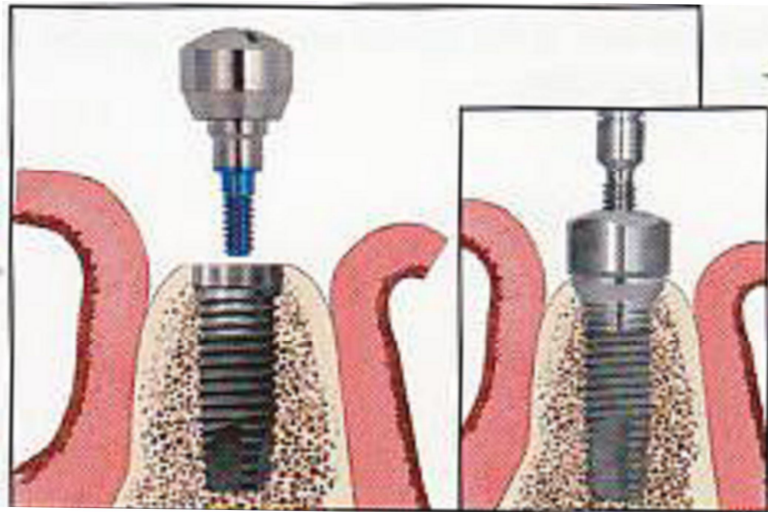


Figura 2. Colocación del pilar de cicatrización en los casos de implantes de una fase quirúrgica o no sumergidos

Durante el tiempo de curación ósea, los implantes o implantes más pilares colocados en una fase pueden estar sujetos a diferentes grados de carga masticatoria. Aquellos implantes que se colocan entre dientes naturales y se proveen de un pilar corto, habitualmente no reciben carga masticatoria “sin carga” o con una mínima carga durante el período de cicatrización. Lo mismo puede ocurrir con aquellos implantes/pilares que se colocan en tramos edéntulos de gran dimensión vertical, y en los que no se utiliza prótesis provisional, o cuando la prótesis provisional es dentosoportada e impide el contacto del implante/pilar subyacente con el diente antagonista.

1.3. Carga inmediata

En los últimos años de la década de los 70, Ledermann publicó los primeros estudios sobre carga inmediata, en ellos ferulizaba cuatro implantes intermentonianos

con una barra y colocaba una sobredentadura el mismo día de la intervención.¹⁸ Si bien, este tratamiento no se realizaba de forma protocolizada. En 1985 Brånemark, define la osteointegración como “la conexión directa, funcional y estructural, entre el hueso vital y la superficie del implante”.¹⁹

Sin embargo Schroeder, siguiendo el mismo método de Ledermann, demostró histológicamente una unión íntima entre el hueso y el implante.²⁰ Tras esto, Babbush y cols., Buser y cols., Schnitman y cols., consiguieron a medio y largo plazo, un éxito de 88% a 97% para implantes con carga inmediata en zona mandibular anterior.^{21,22,33}

Por todo esto, el protocolo implantológico inicial de Brånemark y cols., fue cuestionado por Szmukler-Moncler y cols.,²³ que consideraron que el tiempo de espera de 3-6 meses propuesto carecía de base científica. En un trabajo posterior,²⁴ se analizaron las circunstancias iniciales adversas para la carga inmediata y como la suma de éstas daban lugar a un exceso de micro-movimiento que alteraba la osteointegración normal.

18 Ledermann P. Bar-prosthetic management of the edentulous mandible by means of plasma-coated implantation with titanium screws. *Dtsch Zahnarztl Z* 1979;34:907-11.

19 Branemark PI, Zarb G, Albrektsson T. *Tissue-integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry*. Chicago: Quintessence; 1985.

20 Schroeder A. The ITI hollow-cylinder implant. *Internationales Team für orale Implantologie. Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1985;95:876-8.

21 Babbush CA, Kent JN, Misiek DJ. Titanium plasma-sprayed (TPS) screw implants for the reconstruction of the edentulous mandible. *J Oral Maxillofac Surg* 1986;44:274-82.

22 Buser DA, Schroeder A, Sutter F, Lang NP. The new concept of ITI hollow-cylinder and hollow-screw implants: Part 2. Clinical aspects, indications, and early clinical results. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1988;3:173-81.

23 Szmukler-Moncler S, Salama H, Reingewirtz Y, Dubruille JH. Timing of loading and effect of micromotion on bone-dental implant interface: review of experimental literature. *J Biomed Mater Res* 1998;43:192-203.

24 Szmukler-Moncler S, Piattelli A, Favero GA, Dubruille JH. Considerations preliminary to the application of early and immediate loading protocols in dental implantology. *Clin Oral Implants Res* 2000;11:12-25.

En la misma línea, estudios experimentales posteriores, realizados por diversos autores, reafirmaron esta teoría.^{25,26}

Nkenke y cols. tras 6 meses de seguimiento, analizaron los resultados de los parámetros histomorfométricos valorados (contacto hueso-implante y área de hueso periimplantario) en implantes con carga inmediata a nivel de maxilar superior utilizando minipigs.²⁷ Sus resultados fueron similares a los obtenidos con implantes cargados tras un periodo libre de carga superior a 5 meses. Se sabe que micromovimientos mayores de 150 μ se consideran excesivos y perjudiciales para la osteointegración. Pero por el contrario, micromovimientos menores de 50 μ son bien tolerados. Por tanto, el umbral crítico, dependiendo de la morfología del implante y de su superficie estaría entre 50 y 150 μ .^{28,29}

En la actualidad, al referirnos a carga inmediata hablamos de aquella situación en la que una vez insertado el implante en el hueso, se realizan las prótesis implantosoportadas, de forma que el implante recibe carga funcional en un periodo de tiempo inferior a 48 horas a partir de la colocación de los implantes. En la restauración inmediata, la prótesis se colocaría en el mismo periodo de tiempo fuera de oclusión y hablaríamos de carga precoz cuando la carga de los implantes se efectúa entre 48

25 Piattelli A, Corigliano M, Scarano A, Costigliola G, Paolantonio M. Immediate loading of titanium plasma-sprayed implants: an histologic analysis in monkeys. *J Periodontol* 1998;69:321-7.

26 Romanos GE, Toh CG, Siar CH, Swaminathan D. Histologic and histomorphometric evaluation of peri-implant bone subjected to immediate loading: an experimental study with *Macaca fascicularis*. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:44-51.

27 Nkenke E, Fenner M, Vairaktaris EG, Neukam FW, Radespiel-Troger M. Immediate versus delayed loading of dental implants in the maxillae of minipigs. Part II: histomorphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:540-6.

28 Maniatopoulos C, Pilliar RM, Smith DC. Threaded versus porous-surfaced designs for implant stabilization in bone-endodontic implant model. *J Biomed Mater Res* 1986;20:1309-33.

29 Brunski JB. In vivo bone response to biomechanical loading at the bone/dental-implant interface. *Adv Dent Res* 1999;13:99-119.

horas y 3 meses tras su colocación.³⁰ Desde hace mucho tiempo la carga inmediata tiene interés porque acorta los tiempos de tratamiento y evita la provisionalidad. El refinamiento de los protocolos clínicos, la aplicación de unos principios biomecánicos adecuados, las mejoras en el diseño del implante y el desarrollo de nuevas superficies ha dado lugar a la introducción de esta modalidad.³¹

Así, los principales criterios a cumplir para la realización de carga inmediata son:

- **Ubicación del implante**

El tratamiento en la zona anterior mandibular, con carga inmediata, tiene un éxito superior al 93%, para un mínimo de cuatro implantes en la región intermentoniana. Rungcharassaeng y cols., no tuvieron ningún fracaso a los 12 meses, en 5 pacientes, con 4 implantes cada uno.³² Ganeles y cols., refirieron un solo fracaso en 161 implantes mandibulares, de 5 a 8 implantes por paciente, en 27 casos, con un control promedio de 25 meses.³³

En la zona posterior mandibular los índices de éxito no son tan favorables; Schnitman y cols., de 28 implantes mandibulares perdieron 4 (15,3%), en un período de 10 años;

30 Chiapasco M. Early and immediate restoration and loading of implants in completely edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:76-91.

31 Monje Gil F, Moreno García C, Serrano Gil H, Maestre O, Morillo Sánchez AJ, Mateo Arias J, Ruiz Laza L, Quiros Álvarez P, Manzano Solo de Zaldivar D. Immediate loading of implants in the maxilla. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac* 2007;29:215-27.

32 Rungcharassaeng K, Lozada JL, Kan JY, Kim JS, Campagni WV, Munoz CA. Peri-implant tissue response of immediately loaded, threaded, HA-coated implants: 1-year results. *J Prosthet Dent* 2002;87:173-81.

33 Ganeles J, Rosenberg MM, Holt RL, Reichman LH. Immediate loading of implants with fixed restorations in the completely edentulous mandible: report of 27 patients from a private practice. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16:418-26.

plantean un pronóstico reservado, a largo plazo, en carga inmediata de implantes mandibulares distales a la zona mentoniana.³⁴

El maxilar superior suele presentar una cantidad y calidad ósea menor que la mandíbula. Grunder y cols., refirieron un éxito del 92.4%, a los 3 años.³⁵ Para Glauser y cols., la zona maxilar posterior es la de mayor riesgo para la carga inmediata, tras perder en un año el 34% de 76 implantes colocados en esta zona, debido a la deficiente calidad ósea.³⁶

- **Estado de cicatrización del lecho óseo receptor**

La mayoría de trabajos de investigación realizan la carga inmediata en zonas de hueso maduro; sin embargo, otros la plantean sobre implantes colocados en el momento mismo de la exodoncia o en alveolos frescos post-exodoncia. De ellos se desprende que no hay diferencias significativas entre los implantes dentales que se realizan sobre un lecho cicatrizado o post-exodoncia.

La colocación de implantes dentales de forma inmediata tras la exodoncia, podría disminuir la pérdida ósea que conlleva la pérdida dentaria, lo que evita en ocasiones técnicas más complejas para restaurar el futuro lecho del implante. Asimismo, la implantación inmediata permite acortar el tiempo de tratamiento, lo que constituye uno de los objetivos actuales. Se ha demostrado, que las tasas de supervivencia de

34 Schnitman PA, Wohrle PS, Rubenstein JE, DaSilva JD, Wang NH. Ten-year results for Branemark implants immediately loaded with fixed prostheses at implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12:495-503.

35 Grunder U, Polizzi G, Goene R, Hatano N, Henry P, Jackson WJ, Kawamura K, Kohler S, Renouard F, Rosenberg R, Triplett G, Werbitt M, Lithner B. A 3-year prospective multicenter follow-up report on the immediate and delayed-immediate placement of implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:210-6.

36 Glauser R, Ree A, Lundgren A, Gottlow J, Hammerle CH, Scharer P. Immediate occlusal loading of Branemark implants applied in various jawbone regions: a prospective, 1-year clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2001;3:204-13.

implantes inmediatos tras exodoncias de dientes con fracturas radiculares, perforaciones o con una combinación de problemas endodónticos y periodontales es similar a los implantes colocados en zonas ya cicatrizadas.^{37,38,39}

- **Características del implante**

Las características del implante que favorecen la carga inmediata son: los implantes roscados y la superficie rugosa. El grabado ácido y el arenado son los métodos elegidos por la mayoría de los autores.⁴⁰ En cuanto a la longitud del implante, algunos autores han descrito fallos debidos a la utilización de implantes cortos, sobre todo cuando son colocados en zonas con hueso limitado. Se ha sugerido una longitud mínima para la realización de carga inmediata de 10 mm.^{41,42} Sin embargo, Jaffin y cols., usaron una longitud mínima de implante de 8 mm colocando entre 6 y 8 implantes en maxilares atróficos consiguiendo una tasa de éxito de 92,2% al año de seguimiento.⁴³ Otros autores han utilizado un implante más ancho cuando no se

37 Nikellis I, Levi A, Nicolopoulos C. Immediate loading of 190 endosseous dental implants: a prospective observational study of 40 patient treatments with up to 2-year data. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:116-23.

38 Novaes AB, Jr., Marcaccini AM, Souza SL, Taba M, Jr., Grisi MF. Immediate placement of implants into periodontally infected sites in dogs: a histomorphometric study of bone-implant contact. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:391-8.

39 Novaes AB, Jr., Vidigal Junior GM, Novaes AB, Grisi MF, Polloni S, Rosa A. Immediate implants placed into infected sites: a histomorphometric study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;13:422-7.

40 Degidi M, Piattelli A. Comparative analysis study of 702 dental implants subjected to immediate functional loading and immediate nonfunctional loading to traditional healing periods with a follow-up of up to 24 months. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:99-107.

41 Uribe R, Penarrocha M, Balaguer J, Fulgueiras N. Immediate loading in oral implants. Present situation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10:143-53.

42 Attard NJ, Zarb GA. Immediate and early implant loading protocols: a literature review of clinical studies. *J Prosthet Dent* 2005;94:242-58.

43 Jaffin RA, Kumar A, Berman CL. Immediate loading of dental implants in the completely edentulous maxilla: a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:721-30.

obtiene estabilidad primaria mediante el implante inicial. Los nuevos diseños de implantes (modificaciones de las espiras o modelos expansivos) han mejorado las perspectivas de la carga inmediata en ambos maxilares, si bien no han sido todavía científicamente comparados con otros implantes de otros diseños en estudios en humanos realizados a largo plazo.^{44,45}

- **Torque**

El torque entendido como la resistencia friccional necesaria para insertar un implante hasta el nivel deseado, refleja las condiciones del hueso cortical y medular, por ese motivo en altos valores de torque de inserción se asume una adecuada calidad ósea a nivel de la cortical o un hueso trabecular denso. Calandriello y cols., indican como requerimiento, para la carga inmediata, un mínimo torque de inserción de 60 Ncm para implantes unitarios, 45 Ncm para implantes que soportan restauraciones de arcos parciales, y 32 Ncm para restauraciones de arcos completos.⁴⁶

Degidi y Piatelli, realizaron un estudio consistente en un análisis comparativo, entre implantes sometidos a carga inmediata funcional y carga inmediata no funcional frente a un grupo control sometido a carga convencional.⁴⁰ Estos autores mantienen que es necesario un torque mayor de 25 Ncm y un cociente de estabilidad del implante mayor

44 De Bruyn H, Collaert B. Early loading of machined-surface Branemark implants in completely edentulous mandibles: healed bone versus fresh extraction sites. *Clin Implant Dent Relat Res* 2002;4:136-42.

45 Malo P, Rangert B, Nobre M. "All-on-Four" immediate-function concept with Branemark System implants for completely edentulous mandibles: a retrospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003;5:2-9.

46 Calandriello R, Tomatis M. Simplified treatment of the atrophic posterior maxilla via immediate/early function and tilted implants: A prospective 1-year clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005;7:1-12.

de 60 unidades ISQ (Implant Stability Quotient) medido mediante frecuencia de resonancia (Resonance frequency, Osstell[®], Göteborg, Suecia).

La estabilidad primaria del implante es un requisito fundamental en la carga inmediata. Han sido sugeridos varios métodos de medida de la misma (torque e ISQ).

- **Estabilidad inicial**

Se considera que se logra un mayor grado de estabilidad primaria con implantes roscados de superficie rugosa. Similar es el criterio de May y Romanos, para los cuales la retención macromecánica y micromecánica del implante es importante para su carga inmediata.⁵³

Horiuchi y cols., consideraron cargar de forma inmediata sólo aquellos implantes colocados con un torque igual o mayor a 40 N/cm, mientras que los que tenían valores inferiores otras fueron sumergidos. Malo y cols., excluyeron en su protocolo de carga inmediata los implantes insertados con un torque menor a 32 N/cm.^{47,48}

1.4. Implantes de materiales cerámicos. Implantes de zirconia

En los últimos años las cerámicas de alta resistencia han llegado a ser atractivas como nuevos materiales para implantes dentales. Son inertes, exhiben mínima liberación de iones comparadas con implantes metálicos y presentan excelentes propiedades físicas. El óxido de zirconio parcialmente estabilizado con itrio

47 Horiuchi K, Uchida H, Yamamoto K, Sugimura M. Immediate loading of Branemark system implants following placement in edentulous patients: a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000;15:824-30.

48 Malo P, Rangert B, Dvarsater L. Immediate function of Branemark implants in the esthetic zone: a retrospective clinical study with 6 months to 4 years of follow-up. *Clin Implant Dent Relat Res* 2000;2:138-46.

(Y-TZP Yttrium-stabilized tetragonal polycrystals) (Figura 2) parece ofrecer ventajas sobre el óxido de aluminio debido a su alta resistencia a la fractura y alta resistencia a la flexión.^{49,50}

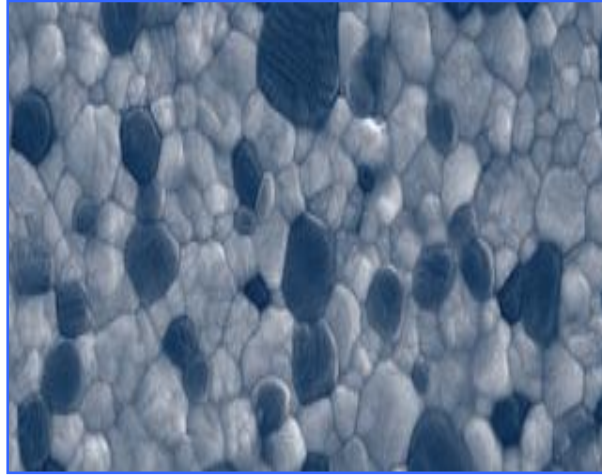


Figura 2. Policristales. En blanco zirconio y en negro itrio

1.4.1. Características del zirconio

El dióxido de zirconio (ZrO_2), también conocido como zirconia (no se debe confundir con el zircón), es un óxido cristalino blanco de zirconio. En su forma más natural, con una estructura cristalina monoclinica, es el mineral baddeleyita. El óxido de zirconio fue descubierto en el año 1789 por el alemán M.H. Klaproth, su nombre procede del idioma persa “Zargon” y significa “Dorado”.

El óxido de zirconio se obtiene principalmente del zirconio que se encuentra en la roca volcánica, siendo sus principales productores Australia, Estados Unidos, India y el sur de África. El óxido de zirconio puro a presiones atmosféricas exhibe tres organismos polimorfos cristalinos bien definidos, las fases:

49 Piconi C, Maccauro G, Muratori F, Brach Del Prever E. Alumina and zirconia ceramics in joint replacements. *J Appl Biomater Biomech* 2003;1:19-32.

50 Sennerby L, Dasmah A, Larsson B, Iverhed M. Bone tissue responses to surface-modified zirconia implants: A histomorphometric and removal torque study in the rabbit. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005;7:13-20.

- Monocíclica o monoclinica.
- Tetragonales.
- Cúbicas.

La fase monocíclica es estable hasta 1170 °C donde se transforma a la fase tetragonal. A 2370 °C la fase tetragonal se transforma a la fase cúbica que existe hasta 2680 °C, el punto de fusión de la zirconia. (Figura 3)

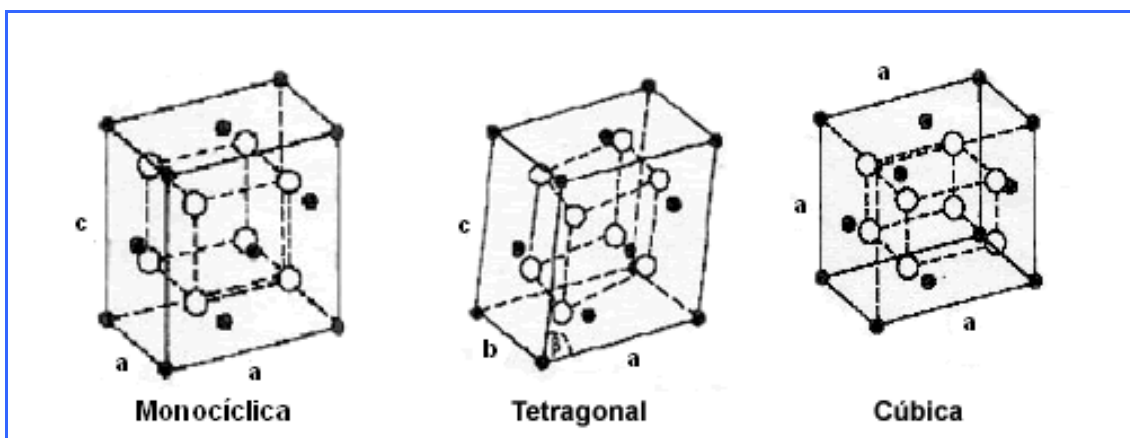


Figura 3: Fases de óxido de zirconio (<http://www.textoscientificos.com/>)

La transformación desde la fase tetragonal a la monoclinica concluye con un aumento del volumen del 3-5%. Al realizar aleaciones de zirconio puro con óxidos estabilizadores como CaO, MgO, Y₂O₃, o CeO₂, la estructura tetragonal se conserva a temperatura ambiente y por lo tanto se consigue el control del estrés y control del volumen del material así como diferentes tipos de zirconio,

Los pilares de óxido de zirconio tienen una resistencia contra roturas de 672 N *in vitro* aunque se ha demostrado que sus valores *in vivo* descienden hasta 403 N.⁵¹

51 Oliva J, Oliva X, Oliva JD. Five-year success rate of 831 consecutively placed Zirconia dental implants in humans: a comparison of three different rough surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25:336-44.

1.4.2. Biocompatibilidad del zirconio

El zirconio es un material inerte que ha demostrado una alta biocompatibilidad en los test *in vivo* e *in vitro*.⁵² Al evaluar el comportamiento *in vivo* de Y-TZP implantado en músculo para-espinal y tibia de conejo, comparado con alúmina, a corto y medio plazo, los resultados fueron similares y no hubo ninguna reacción adversa. Los test *in vitro* concluyeron que el zirconio no tiene efecto citotóxico en fibroblastos, además descubrieron que el Y-TZP no tiene efectos oncogénicos ni mutagénicos y puede considerarse como un material de elección para aplicaciones biomédicas.⁵³ La aparición de efectos negativos a corto y largo plazo también han sido estudiados *in vivo* en animales demostrando la ausencia de efectos locales como inflamación, irritación, formación de tejido de granulación o sistémicos como reacciones alérgicas a cuerpo extraño, después de la implantación de zirconio en músculos o huesos.⁵⁴

También se ha analizado la respuesta del hueso en monos en los que se insertaron implantes de zirconia con y sin carga oclusal, después de 24 meses de carga los implantes permanecían inmóviles. No presentaron fractura ni problemas mecánicos.⁵⁵

Una vez demostrada la seguridad del uso de este material se evaluó, tal y como ocurre en el caso de los implantes de titanio, la posibilidad de modificar la superficie de los implantes. Así, Sennerby y cols., modificaron la superficie de implantes de zirconia aumentando la rugosidad superficial mediante dos tratamientos de arenado superficial

52 Christel PS. Zirconia: the second generation of ceramics for total hip replacement. Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst 1989;49:170-7.

53 Covacci V, Bruzzese N, Maccauro G, Andreassi C, Ricci GA, Piconi C, Marmo E, Burger W, Cittadini A. In vitro evaluation of the mutagenic and carcinogenic power of high purity zirconia ceramic. Biomaterials 1999;20:371-6.

54 Piconi C, Maccauro G. Zirconia as a ceramic biomaterial. Biomaterials 1999;20:1-25.

55 Akagawa Y, Hosokawa R, Sato Y, Kamayama K. Comparison between freestanding and tooth-connected partially stabilized zirconia implants after two years' function in monkeys: a clinical and histologic study. J Prosthet Dent 1998;80:551-8.

con diferentes granulometrías de alúmina y los insertaron en tibias de conejos. Tras 6 meses de cicatrización se confirmó la integración de los mismos. Evaluaron los implantes mediante pruebas de torque reverso con valores de 88 N/cm² en titanio y de 95 N/cm² en zirconia, siendo ligeramente mayor en zirconia a la hora de retirar los implantes.⁵⁰

1.4.3. Zirconia como biomaterial

La estética que se puede conseguir con las coronas sobre implantes puede llegar a ser óptima, pero existe la posibilidad de que el color gris del implante de titanio o del mismo pilar sea percibido a través de una mucosa peri-implantaria delgada, empeorando el resultado estético.

Hay evidencias de que los metales incluido el titanio son capaces de inducir reacciones inespecíficas de inmunomodulación y autoinmunidad,⁵⁶ y en algunos casos resultados de test *in vitro* de alta sensibilidad al titanio,^{57,58,59} recientemente se han descrito posibles reacciones de alergia al titanio.^{60,61} Por todo ello y gracias al desarrollo tecnológico, se deben realizar esfuerzos en la creación de implantes de otros materiales, como la zirconia, más afines al paciente, pero manteniendo todas las características que aseguren el cumplimiento de los criterios de éxito de los implantes

56 Stejskal J, Stejskal VD. The role of metals in autoimmunity and the link to neuroendocrinology. *Neuro Endocrinol Lett* 1999;20:351-64.

57 Lalor PA, Revell PA, Gray AB, Wright S, Railton GT, Freeman MA. Sensitivity to titanium. A cause of implant failure? *J Bone Joint Surg Br* 1991;73:25-8.

58 Valentine-Thon E, Schiwara HW. Validity of MELISA for metal sensitivity testing. *Neuro Endocrinol Lett* 2003;24:57-64.

59 Muller K, Valentine-Thon E. Hypersensitivity to titanium: clinical and laboratory evidence. *Neuro Endocrinol Lett* 2006;27:31-5.

60 Sicilia A, Cuesta S, Coma G, Arregui I, Guisasola C, Ruiz E, Maestro A. Titanium allergy in dental implant patients: a clinical study on 1500 consecutive patients. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:823-35.

61 Egusa H, Ko N, Shimazu T, Yatani H. Suspected association of an allergic reaction with titanium dental implants: a clinical report. *J Prosthet Dent* 2008;100:344-7.

de titanio. Un implante cerámico podría solucionar los posibles problemas estéticos y de salud que se podrían presentar con los implantes de titanio, y puede ser una alternativa viable especialmente en la región anterior del maxilar superior.⁶²

1.4.4. Métodos de texturización de la superficie de los implantes

La rugosidad de la superficie de un material se puede conseguir de diversos modos, utilizando técnicas físicas, químicas o técnicas combinadas. Las técnicas físicas inducen la configuración de la superficie de un material mediante fuerzas físicas y principalmente son sustractivas. Las técnicas comúnmente utilizadas son: mecanizado, pulido y arenado. La topografía de superficie de un implante está caracterizada por surcos y valles más o menos orientados en la misma dirección del maquinado.

Por otra parte, las técnicas de pulido se basan en la remoción de material por medios abrasivos. Mientras que las técnicas de arenado se utilizan para incrementar la rugosidad superficial y puede variar dependiendo del tamaño de partícula empleada, todos son métodos sustractivos de material de la superficie. Es de resaltar que cualquier técnica mecánica que modifique una superficie puede también cambiar algunas propiedades químicas.

En la actualidad técnicas químicas como el grabado ácido o alcalino, tratamiento electroquímico de superficies y la combinación de tratamientos de superficie son empleadas sobre implantes de titanio.^{63,64,65}

⁶² Kohal RJ, Klaus G. A zirconia implant-crown system: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2004;24:147-53.

⁶³ Cordioli G, Majzoub Z, Piattelli A, Scarano A. Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: an experimental study in the rabbit tibia. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000;15:668-74.

Las técnicas físicas aplicadas actualmente sobre implantes de zirconia se basan principalmente en el arenado mediante partículas de óxido de aluminio de diferentes granulometrías, las técnicas eléctricas no se pueden aplicar al no conducir la zirconia la electricidad, además las técnicas de grabado ácido o alcalino no surten suficiente efecto en el incremento de la rugosidad de los implantes de zirconia.⁶⁶

Además de las técnicas convencionales existe otra técnica de procesado, la microtexturización por láser que podría aplicarse sobre los implantes de zirconia, que incrementaría la rugosidad de superficie, que reduciría la presencia de elementos residuales del procesado del material y proporcionaría una alternativa a los tratamientos actuales sobre dicho material.

Esta técnica presenta una serie de interesantes ventajas:

- No ejerce acciones mecánicas sobre la pieza en elaboración,
- El haz láser no presenta inercia y puede ser movido fácilmente,
- Se pueden realizar los procesamientos típicos de métodos mecánicos tales como la remoción de material (corte, taladrado),
- Se pueden realizar procesos típicos de los métodos térmicos tales como el endurecimiento superficial o el aleado superficial.

⁶⁴ Gaggl A, Schultes G, Muller WD, Karcher H. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces--a comparative study. *Biomaterials* 2000;21:1067-73.

⁶⁵ Vanzillotta PS, Sader MS, Bastos IN, Soares Gde A. Improvement of in vitro titanium bioactivity by three different surface treatments. *Dent Mater* 2006;22:275-82.

⁶⁶ Kurella A, Dahotre NB. Review paper: surface modification for bioimplants: the role of laser surface engineering. *J Biomater Appl* 2005;20:5-50.

Además, tiene unas posibilidades muy amplias de automatización e integración lo que permitiría su reproductibilidad.⁶⁷

1.4.5. Microtexturizado por láser de los implantes de zirconia

Desde sus inicios, el láser se ha empleado para procesar materiales, en particular para modificar las superficies de los mismos, tanto en lo que se refiere a su geometría y dimensiones como a alguna de sus propiedades físicas o químicas. El hecho de que dicho procesado no requiera el contacto mecánico con la superficie de los materiales y la posibilidad de fácil automatización del proceso y la adaptabilidad de la herramienta para el procesado tridimensional, han hecho que su difusión en el campo de la ingeniería y tecnología de superficies haya sido muy importante.

El láser es una fuente de radiación electromagnética coherente producida por la amplificación de la luz por emisión estimulada de la radiación. Una de las principales aplicaciones de los sistemas de radiación láser es el tratamiento de superficies. A todo esto, el láser añade la enorme ventaja de su precisión que permite tratar zonas de dimensiones micrométricas e incluso nanométricas, lo que permite un procesado enormemente selectivo difícilmente alcanzable con otros métodos. En el caso de los pulsos láser ultracortos, estas ventajas se multiplican debido a la capacidad de depositar sobre la superficie del material cantidades de energía extremadamente pequeñas y muy concentradas en el tiempo y en el espacio, lo que reduce los efectos colaterales del procesado.

En el caso del procesado de materiales biológicos o materiales cuyo destino es la sustitución de tejidos biológicos, la ausencia de tales efectos es crucial.⁶⁶

⁶⁷ Daniel C, Full J, Gonzalez L, Lupulescu C, Manz J, Merli A, Vajda S, Woste L. Deciphering the reaction dynamics underlying optimal control laser fields. *Science* 2003;299:536-9.

En este estudio se ha utilizado el láser de femtosegundo para texturizar la superficie de los implantes que se colocaron en los animales de experimentación.

La elección de este tipo de láser se hizo tras analizar si los pulsos ultracortos del láser pueden producir mejoras en el material de base de nuestros implantes. El proceso físico que está detrás de la capacidad de los pulsos ultracortos de eliminar material con precisión y sin daños apreciables en el resto de la superficie es la ablación láser denominada ultra rápida. Si bien el mecanismo no está absolutamente comprendido a día de hoy, la base teórica fundamental que explica el proceso ya ha sido establecida.^{68,69,70}

Cuando irradiamos una superficie con pulsos láser ultracortos, su energía es absorbida por los electrones de una capa superficial del material, de forma que en un tiempo inferior a la duración del pulso todos los átomos de esa capa han perdido al menos un electrón (ionización multifotónica o por efecto túnel)⁷¹.

La energía en exceso del pulso láser puede asimismo ser absorbida por esos electrones (portadores libres) en presencia de los iones, de forma que son acelerados en el interior del campo electromagnético. A su vez, estos portadores libres colisionan con los electrones que aún permanecen ligados a los iones, incrementando así el número de portadores libres.

68 Stuart BC, Feit MD, Rubenchik AM, Shore BW, Perry MD. Laser-induced damage in dielectrics with nanosecond to subpicosecond pulses. *Phys Rev Lett* 1995;74:2248-51.

69 Perez D, Lewis LJ. Ablation of solids under femtosecond laser pulses. *Phys Rev Lett* 2002;89:255504.

70 Stuart BC, Feit MD, Herman S, Rubenchik AM, Shore BW, Perry MD. Nanosecond-to-femtosecond laser-induced breakdown in dielectrics. *Phys Rev B Condens Matter* 1996;53:1749-61.

71 Delgado-Ruiz RA, Calvo-Guirado JL, Moreno P, Guardia J, Gomez-Moreno G, Mate-Sanchez JE, Ramirez-Fernandez P, Chiva F. Femtosecond laser microstructuring of zirconia dental implants. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2011;96:91-100.

Una vez que el pulso láser ha terminado y durante algunos picosegundos, los portadores libres tienden a situarse en la capa más externa de la superficie creándose de hecho una separación de cargas positivas y negativas que a su vez, genera un campo cuasielectrostático de enorme intensidad, capaz de producir, junto a la propia repulsión electrostática entre los iones del material, la ruptura de los enlaces que mantienen unidos a dichos iones, produciéndose la remoción de la capa de material superficial hasta donde ha penetrado la radiación. Este proceso se denomina *explosión de Coulomb* y afecta a capas de profundidad en torno a decenas de nanómetros.

Todo el proceso tiene lugar en un tiempo inferior al tiempo típico que tienen los materiales para transferir la energía absorbida por los electrones a la red cristalina (del orden de decenas o centenas de picosegundos, según el material), por lo que el mecanismo es esencialmente no térmico y no genera calor en las inmediaciones de la zona ablacionada y por tanto, no da lugar a los efectos colaterales típicos en otras fuentes térmicas o láseres pulsados de mayor duración. No obstante, el mecanismo anterior tiene lugar en condiciones de baja densidad de energía (siempre por encima del umbral mínimo) y un número reducido de pulsos (20-30 según los materiales), dando lugar a tasas de ablación (profundidad por pulso) muy bajas.

En la mayoría de los casos, sobre todo en aplicaciones de microestructurado de profundidades de decenas o centenas de micras, es necesario irradiar las superficies con un número muy elevado de pulsos (miles de pulsos) y/o densidades de energía varias veces el umbral necesario para producir la ablación. En estos casos, coexiste el mecanismo anterior con otro mecanismo, de naturaleza térmica, denominado *explosión de fase* y que prevalece sobre el anterior cuanto mayor es el número de pulsos y/o la densidad de energía. Cuando este proceso tiene lugar, en los primeros instantes de la interacción del pulso con el material, la capa afectada libera una

cantidad ingente de electrones que forman un plasma que absorberá el resto de la energía del pulso, sobrecalentándose y comenzando a radiar en todas las direcciones del espacio y en todo el espectro, dando lugar a un proceso de fusión y/o vaporización ultrarrápida (explosión de fase) de una capa del material de mayor espesor (hasta algunas micras) que la meramente afectada por la irradiación directa con el láser. Aun siendo un proceso de naturaleza térmica, se produce con tal rapidez que la energía transferida al resto del material es muy pequeña, limitándose los efectos térmicos a zonas tan próximas como una micra de la zona estructurada.⁷²

En el microestructurado de los implantes de zirconia hemos trabajado en este régimen aunque bajo densidades de energía y número de pulsos moderados para evitar el citado efecto térmico colateral.

⁷² Delgado-Ruiz RA. Valoración de la adherencia celular sobre implantes de zirconio modificados por láser de femtosegundo. Estudio experimental in vitro. Murcia: Universidad de Murcia; 2009.

2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

A pesar del extendido uso a nivel mundial y de la demostrada fiabilidad a largo plazo de los implantes dentales de titanio,^{73,74,75,76} existen descritos en la literatura algunos inconvenientes de éstos, a corto y a largo plazo, como son la sensibilidad al titanio y la posibilidad de producir alergia;^{77,78,60} la aparición de la retracción gingival o la translucidez gingival en biotipos finos, pueden dejar el color oscuro o grisáceo del titanio expuesto a la vista en la zona estética del maxilar superior con el consiguiente defecto estético que trae consigo.^{79,80,81}

Por todo esto, en los últimos años se ha sugerido la utilización de implantes dentales de zirconia, como una alternativa a los implantes de titanio debido a ciertas

⁷³ Albrektsson T, Sennerby L, Wennerberg A. State of the art of oral implants. *Periodontol* 2000;47:15-26.

⁷⁴ Dierens M, Vandeweghe S, Kisch J, Nilner K, De Bruyn H. Long-term follow-up of turned single implants placed in periodontally healthy patients after 16-22 years: radiographic and peri-implant outcome. *Clin Oral Implants Res* 2011;In press.

⁷⁵ Malo P, de Araujo Nobre M, Lopes A, Moss SM, Molina GJ. A longitudinal study of the survival of All-on-4 implants in the mandible with up to 10 years of follow-up. *J Am Dent Assoc* 2011;142:310-20.

⁷⁶ Jacobs R, Pittayapat P, van Steenberghe D, De Mars G, Gijbels F, Van Der Donck A, Li L, Liang X, Van Assche N, Quirynen M, Naert I. A split-mouth comparative study up to 16 years of two screw-shaped titanium implant systems. *J Clin Periodontol* 2010;37:1119-27.

⁷⁷ Javed F, Al-Hezaimi K, Almas K, Romanos GE. Is Titanium Sensitivity Associated with Allergic Reactions in Patients with Dental Implants? A Systematic Review. *Clin Implant Dent Relat Res* 2011;In press.

⁷⁸ Siddiqi A, Payne AG, De Silva RK, Duncan WJ. Titanium allergy: could it affect dental implant integration? *Clin Oral Implants Res* 2011;22:673-80.

⁷⁹ Kan JY, Rungcharassaeng K, Lozada JL, Zimmerman G. Facial gingival tissue stability following immediate placement and provisionalization of maxillary anterior single implants: a 2- to 8-year follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26:179-87.

⁸⁰ Nisapakultorn K, Suphanantachat S, Silkosessak O, Rattanamongkolgul S. Factors affecting soft tissue level around anterior maxillary single-tooth implants. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:662-70.

⁸¹ Verdugo F, Simonian K, Nowzari H. Periodontal biotype influence on the volume maintenance of onlay grafts. *J Periodontol* 2009;80:816-23.

propiedades como son: excelente respuesta ósea,^{55,50,82} presentar mínima inflamación adyacente a su superficie,⁸³ ser biocompatible,^{84,85} poseer excelentes propiedades ópticas y estéticas,^{62,86} menor adherencia de bacterias y patógenos,^{87,88} resistencia a la fractura elevada⁸⁹ y una gran resistencia a la compresión.

Las propiedades superficiales del zirconio impiden realizar con los mismos resultados los tratamientos químicos y físicos de superficie similares a los que se realizan en el titanio, pues la zirconia es resistente a los tratamientos químicos especialmente al ataque ácido, muy utilizado en los implantes de titanio.⁹⁰

Los sistemas de implantes de zirconia disponibles en el mercado son sometidos a técnicas físicas de arenado superficial. Las diferentes técnicas físicas de microtexturización que actualmente se aplican sobre los implantes dentales son el

⁸² Depprich R, Zipprich H, Ommerborn M, Naujoks C, Wiesmann HP, Kiattavorncharoen S, Lauer HC, Meyer U, Kubler NR, Handschel J. Osseointegration of zirconia implants compared with titanium: an in vivo study. *Head Face Med* 2008;4:30.

⁸³ Warashina H, Sakano S, Kitamura S, Yamauchi KI, Yamaguchi J, Ishiguro N, Hasegawa Y. Biological reaction to alumina, zirconia, titanium and polyethylene particles implanted onto murine calvaria. *Biomaterials* 2003;24:3655-61.

⁸⁴ Manicone PF, Rossi Iommetti P, Raffaelli L. An overview of zirconia ceramics: basic properties and clinical applications. *J Dent* 2007;35:819-26.

⁸⁵ Hisbergues M, Vendeville S, Vendeville P. Zirconia: Established facts and perspectives for a biomaterial in dental implantology. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;88:519-29.

⁸⁶ Quan R, Yang D, Wu X, Wang H, Miao X, Li W. In vitro and in vivo biocompatibility of graded hydroxyapatite-zirconia composite bioceramic. *J Mater Sci Mater Med* 2008;19:183-7.

⁸⁷ Rimondini L, Cerroni L, Carrassi A, Torricelli P. Bacterial colonization of zirconia ceramic surfaces: an in vitro and in vivo study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:793-8.

⁸⁸ Scarano A, Piattelli M, Caputi S, Favero GA, Piattelli A. Bacterial adhesion on commercially pure titanium and zirconium oxide disks: an in vivo human study. *J Periodontol* 2004;75:292-6.

⁸⁹ Deville S, Chevalier J, Gremillard L. Influence of surface finish and residual stresses on the ageing sensitivity of biomedical grade zirconia. *Biomaterials* 2006;27:2186-92.

⁹⁰ Al-Hamdan K, Al-Moaber SH, Junker R, Jansen JA. Effect of implant surface properties on peri-implant bone healing: a histological and histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:399-405.

resultado de en unas geometrías y valores de rugosidad superficial aleatorios a nivel nanométrico y micrométrico de diferentes grados y son procesos “no limpios”,^{64,91} su reproductibilidad es discutible al no poder controlar el resultado final del proceso,⁹² y en ocasiones requieren de condiciones especiales de vacío y materiales conductivos. El micrograbado o microtexturizado por láser es una técnica prometedora en la que se obtiene un control preciso de la textura deseada en casos de superficies de forma compleja, que no necesita contacto para su realización, que no presenta contaminación y es un proceso rápido y limpio.^{93,71}

Desde el desarrollo de los primeros láseres en la década de los 60 hasta hoy, esta tecnología ha evolucionado de forma meteórica, así como los campos en los que esta herramienta ha encontrado aplicación. En los últimos años, una de las líneas de desarrollo ha sido la producción de fuentes de láser pulsada de alta intensidad, en particular, fuentes que producen pulsos extremadamente cortos por debajo del picosegundo. Estos pulsos láser, amplificados hasta alcanzar energías del orden del milijulio (mJ) y focalizados convenientemente sobre la superficie de los materiales, permiten la ablación (eliminación de material) de la superficie con extremada precisión, y reproductibilidad, lo que produce daños colaterales en el material adyacente incomparablemente más leves que con cualquier otra fuente térmica, proceso químico o mecánico. Las ventajas más importantes que presenta este láser son:

- Es un proceso limpio sin residuos post-procesado.

⁹¹ Sammons RL, Lumbikanonda N, Gross M, Cantzler P. Comparison of osteoblast spreading on microstructured dental implant surfaces and cell behaviour in an explant model of osseointegration. A scanning electron microscopic study. *Clin Oral Implants Res* 2005;16:657-66.

⁹² ter Brugge PJ, Wolke JG, Jansen JA. Effect of calcium phosphate coating crystallinity and implant surface roughness on differentiation of rat bone marrow cells. *J Biomed Mater Res* 2002;60:70-8.

⁹³ Duncan AC, Weisbuch F, Rouais F, Lazare S, Baquey C. Laser microfabricated model surfaces for controlled cell growth. *Biosens Bioelectron* 2002;17:413-26.

- Produce un mínimo daño térmico sobre la superficie del material.
- Se puede aplicar sobre cualquier superficie.
- No necesita ningún medio especial para su aplicación.
- Se obtiene precisión dimensional y calidad geométrica
- La técnica es reproducible.⁹⁴

En el presente trabajo de investigación, hemos aplicado la tecnología del láser de femtosegundo texturizando la superficie de implantes dentales de zirconia (Figura 4) y analizado su comportamiento en un modelo *in vivo* al realizar carga inmediata en comparación con carga no inmediata. Para ello se utilizaron 6 perros American Fox Hound a los que se colocaron implantes de zirconia y de forma aleatorizada se procedió a la carga inmediata de unos y a la diferida de otros. Tras el sacrificio de los animales se procedió al análisis histomorfométrico, radiológico y mecánico de los implantes.

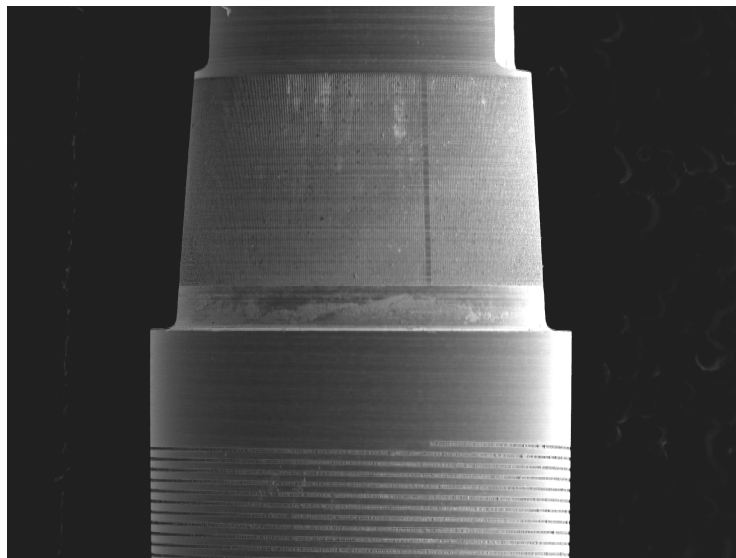


Figura 4. Surcos creados en la superficie del implante mediante láser de femtosegundo.

⁹⁴ Vorobyev AY, Guo C. Femtosecond laser nanostructuring of metals. Opt Express 2006;14:2164-9.

3. OBJETIVOS

Nuestro trabajo realizado en 6 perros American Fox Hound machos pretende valorar el comportamiento de los implantes de zirconia en condiciones de carga inmediata en comparación con la carga diferida para su utilización en la práctica odontológica. Tradicionalmente, se han utilizado prácticamente de forma exclusiva implantes dentales de titanio, pero actualmente se están desarrollando nuevos materiales como es la zirconia. Para ello planteamos los siguientes objetivos:

1. Cuantificar el contacto hueso-implante (BIC), la neoformación ósea y el crecimiento óseo en los distintos tipos de carga, mediante análisis histológico e histomorfométrico.
2. Cuantificar la reabsorción de hueso crestral en los implantes sometidos a carga inmediata en comparación con los implantes que no reciben carga al ser colocados.
3. Cuantificar la fuerza de la integración y la resistencia mecánica de la misma, mediante Perio-test[®] a 1 y 3 meses.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Animales de experimentación

En la fase de experimentación se utilizaron seis perros American Fox Hound machos, de una edad comprendida entre 1 y 3 años, con un peso de 18 a 20 Kg. Todos los perros presentaban las mandíbulas intactas, dentición permanente totalmente erupcionada, sin ningún tipo de trauma oclusal, ni infecciones víricas o fúngicas. Los especímenes mostraban buenas condiciones de salud a nivel sistémico.

El estudio experimental se realizó en las instalaciones de el Animalario de la Universidad de Murcia, en el que se llevó a cabo el cuidado de los animales por los técnicos auxiliares, alimentándolos *ad-libitum* dieta blanda (pienso mojado) e hidratándolos con agua cuatro veces al día. El cuidado especializado fue llevado a cabo por un veterinario administrándoles la medicación necesaria antes, durante y después de las cirugías.

El diseño del estudio experimental, el protocolo quirúrgico, la selección, el mantenimiento y posterior sacrificio de los animales fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Murcia, España (Anexo 1), siguiendo las directrices establecidas por el Consejo de la Unión Europea de 22 de septiembre de 2010 (2010/63/UE) sobre protección de animales usados para fines científicos.

El estudio experimental cumplió en todo momento los principios éticos en investigación definidos por el RD 1201/2005 de 10 de octubre y la Ley 32/2007 de 7 de noviembre sobre explotación, transporte, experimentación, sacrificio de animales de experimentación y otros fines científicos, todo ello realizado en el servicio de animales de laboratorio del SAI (Servicio de Apoyo a la Investigación) de la Universidad de Murcia (REGAES 300305440012).

4.2. IMPLANTES UTILIZADOS

En este estudio se utilizaron 48 implantes de dióxido de zirconio White SKY[®] (Bredent Medical[®] GMBH & Co. KG, Senden, Alemania) de 4mm de diámetro por 10mm de longitud, a los que se aplicó un tratamiento de láser de femtosegundo en cuello y cuerpo (Figuras 5 y 6).

Los implantes dentales de dióxido de zirconio son fabricados por un proceso de sinterización a altas presiones y temperatura del orden de 1173°C-2370°C (fase tetragonal del zirconio). Están compuestos por poli-cristales tetragonales de óxido de zirconio estabilizados con óxido de itrio, para mantener a temperatura ambiente la fase tetragonal estable. Poseen unas características físicas de: resistencia a la fractura por flexión de 1250 MPa +/- 120 MPa, resistencia a la rotura de 6 a 8 MPa/m (medida según el factor crítico de intensidad de tensión), módulo elástico de 200 GPa, resistencia a la sobrecarga lateral de más de 800N con un movimiento previo de adaptación de +/- 1,1mm.

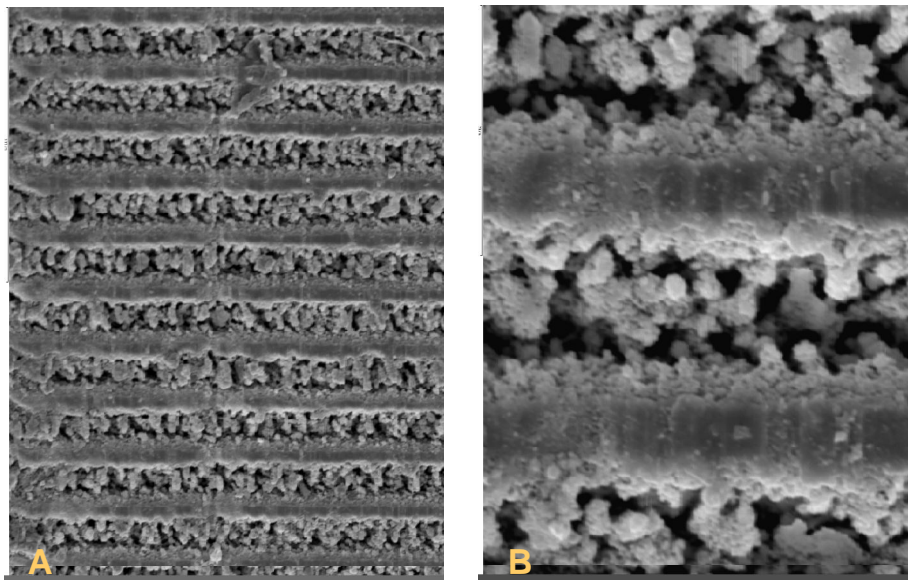


Figura 5. A (Detalle del surco creado por láser); B (Imagen del fondo del surco, 2500x)

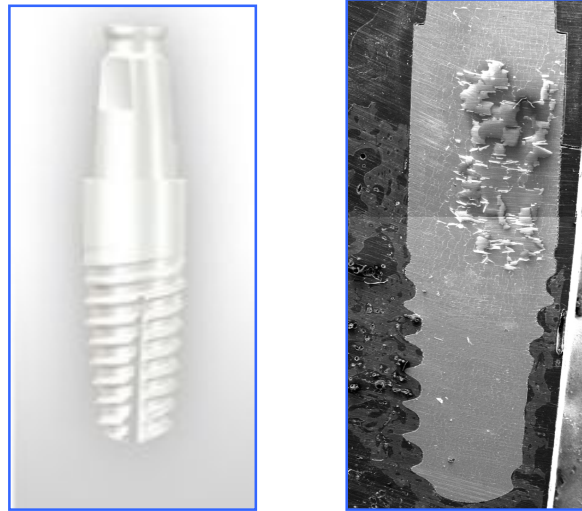


Figura 6. Tipo de implante utilizado, se observan en la imagen de microscopía electrónica de barrido los surcos creados con el láser.

4.3. Diseño del estudio.



4.3.1. Procedimientos de Fase 1.

Bajo anestesia general, y con la finalidad de la colocación posterior de implantes dentales, se realizaron las exodoncias de los premolares P2, P3, P4 y el molar M1 bilateralmente en la mandíbula (Figuras 7 y 8). Los alveolos se rellenaron con una esponja de colágeno para favorecer la cicatrización del alveolo, y se procedió a la sutura con puntos simples reabsorbibles (3-0 TB-15. Ref. 55346. Lorca Marín S.A., Murcia, España), para conseguir que la encía cubra completamente el defecto.

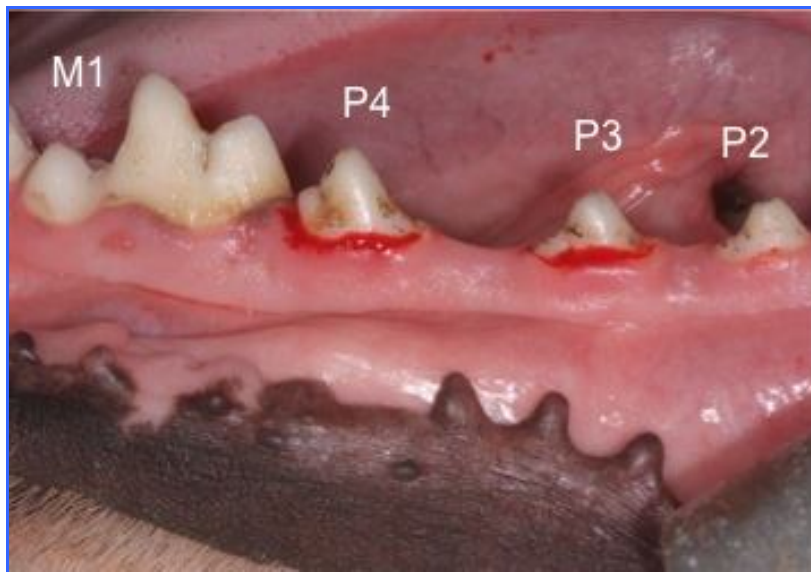


Figura 7. Premolares y molar mandibular utilizados en el estudio



Figura 8. Odontosección de las piezas en el momento de las exodoncias

Se conservó el sector anterior de P1 a P1 y los molares M2 y M3, para mantener una mínima función masticatoria del animal.⁹⁵

Todas las intervenciones se realizaron bajo la supervisión de la veterinaria adscrita al Servicio de Experimentación animal de la Universidad de Murcia.

4.3.1.1. Inducción anestésica, medicación operatoria y cuidados especiales

Para la inducción a la anestesia del animal se utilizaron los siguientes fármacos:

1. Calmo Neosan[®] (LABIANA Life Sciences, S.A., Barcelona, España) (Maleato de Acepromazina): 0.5-1 mg/Kg peso (1-2 ml/10 Kg peso) vía intramuscular (i.m.), como tranquilizante 15 minutos antes de la anestesia general (Figura 9).
2. Anestesia general, compuesta de:
 - Imalgene[®] (MERIAL LABORATORIOS, S.A., Barcelona, España) (Ketamina + Clorbutol): 5-8 mg/Kg peso vía intravenosa (i.v.) (Figura 9).
 - Calmo-Neosan[®], como coadyuvante del anestésico a la dosis arriba indicada (Figura 9).
3. Atropina 0.05 mg/Kg peso vía subcutánea (s.c.), para disminuir las secreciones (Figura 9).⁹⁶

⁹⁵ Arisan V, Ozdemir T, Anil A, Jansen JA, Ozer K. Injectable calcium phosphate cement as a bone-graft material around peri-implant dehiscence defects: a dog study. Int J Oral Maxillofac Implants 2008;23:1053-62.



Figura 9. Presentación comercial de los fármacos usados en la cirugía

Tras esta premedicación, se tomó una vía, en la vena cefálica para la administración intravenosa del anestésico propofol 1%, 0.4 mg/kg/min. Después de esto, los perros se trasladaron al quirófano donde se monitorizó la frecuencia cardiaca, la saturación de oxígeno en sangre y la temperatura corporal. (Figuras 10).



Figura 10. Monitor para controlar las constantes vitales del animal.

Durante el mantenimiento intraoperatorio se deja la perfusión de propofol en solución de sodio. En el procedimiento quirúrgico se utilizó articaina 1:100.000 anestesia local

⁹⁶ Wilson DV, Evans AT, Carpenter RA, Mullineaux DR. The effect of four anesthetic protocols on splenic size in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2004;31:102-8.

infiltrativa (Ultracain[®], Laboratorios Normon, Madrid, España) además de reducir la hemorragia en el campo quirúrgico. Se hicieron radiografías periapicales para observar previamente la anatomía de las raíces de los premolares y molares (Figura 11).



Figura 11. Radiovisiografía de premolares mandibulares.

Se realizó una incisión crestal, odontosección de los premolares con fresa de diamante a alta velocidad, en sentido vestibulo-lingual y las exodoncias de P2, P3, P4 y el primer molar mandibular derecho e izquierdo M1.

Los animales fueron alimentados con dieta blanda durante 15 días para evitar el daño de la encía. Como medicación antiinflamatoria/analgésica y antimicrobiana se utilizó:



Figura 12. Antibiótico y antiinflamatorio usado en el post-operatorio.

1. Voren Antiinflamatorio[®] (Boehringer-Ingelheim, S.A., Sant Cugat, España)
(Dexametasona isonicotinato): 1-2 ml vía i.m. (Figura 12).
2. Bivamox Antibiótico[®] (Boehringer-Ingelheim, S.A., Sant Cugat, España)
(Amoxicilina): 2 ml vía i.m. (Figura 12).

El antibiótico y el antiinflamatorio se administraron al terminar la intervención quirúrgica y posteriormente cada 2 días durante un total de 4 días, para prevenir la infección e inflamación postoperatorias, como establecen los comités de ética en experimentación animal. Durante todo el procedimiento quirúrgico la vía del perro fue mantenida con un suero glucosalino (250 cm³.) que permitía la administración de la medicación anteriormente referida. El suero era transfundido en su totalidad después de terminar la intervención para facilitar la hidratación y recuperación postquirúrgica del animal.⁹⁷

4.3.2. Procedimiento Fase 2

En esta fase se colocación los implantes dentales de zirconia (Figura 13) y las restauraciones acrílicas ferulizadas para la carga inmediata en el lado derecho o izquierdo del maxilar inferior, de forma randomizada mediante el programa www.randomization.com.

Bajo las mismas condiciones de la Fase 1, se realizó la inducción anestésica, la medicación operatoria y los cuidados postquirúrgicos al animal.

⁹⁷ Kojima K, Nishimura R, Mutoh T, Hong SH, Mochizuki M, Sasaki N. Effects of medetomidine-midazolam, acepromazine-butorphanol, and midazolam-butorphanol on induction dose of thiopental and propofol and on cardiopulmonary changes in dogs. Am J Vet Res 2002;63:1671-9.

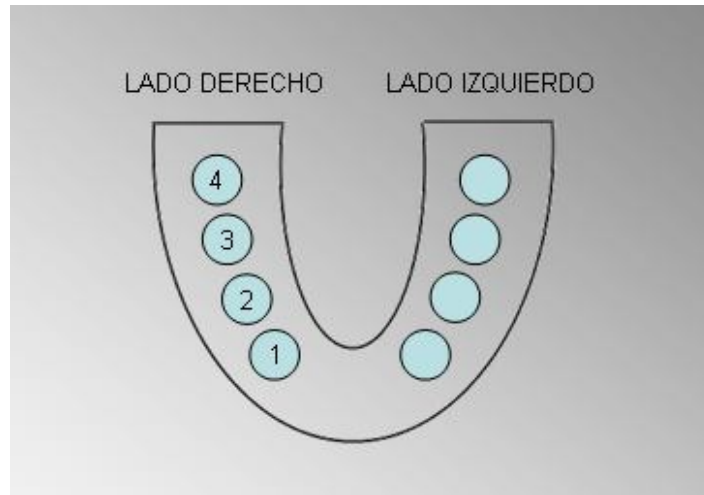


Figura 13. Disposición de los implantes en la mandíbula del perro

4.3.2.1. Colocación de los implantes dentales

En primer lugar se procedió a una limpieza de la mucosa oral mediante gasas impregnadas en digluconato de clorhexidina al 0,12% (Perio-Aid[®], Dentaïd, Barcelona, España) como solución antiséptica. Se procedió a la anestesia local en la encía vestibular y lingual y se realizó una incisión supracrestal desde C hasta M2, despegándose un colgajo de espesor total donde a continuación se insertaron los implantes dentales. Se comenzó con el fresado recomendado por la casa Bredent Medical[®], con abundante irrigación con suero fisiológico, aumentándose progresivamente el diámetro del lecho implantario con fresas de 3mm, 3,5mm y 4mm como diámetro final.

Los implantes dentales que se utilizaron fueron White Sky[®] (Bredent Médical[®] GmbH & Co. KG, Senden, Alemania) tratados totalmente con láser de femtosegundo (Implante de zirconia de 4mm de diámetro x 10mm de longitud). Se utilizaron un total de 48 implantes dentales divididos en dos grupos:

- 24 sometidos a carga inmediata.

- 24 sin carga durante el periodo de osteointegración.

En cada mandíbula se colocaron 8 implantes (4 en cada hemimandíbula) a nivel de la cresta ósea, distribuidos aleatoriamente en la zona comprendida entre P1 y M2 mandibulares. (Figuras 14-17) Todos los implantes se insertaron con un torque de 35 Newton (N).



Figura 14: Disposición sobre el hueso de los lugares de colocación de los implantes

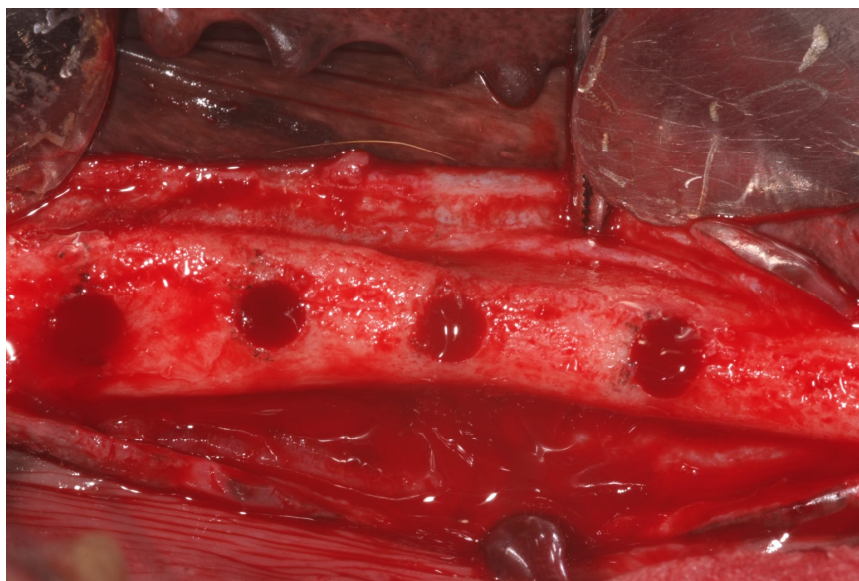


Figura 15. Lechos preparados para la colocación de los implantes

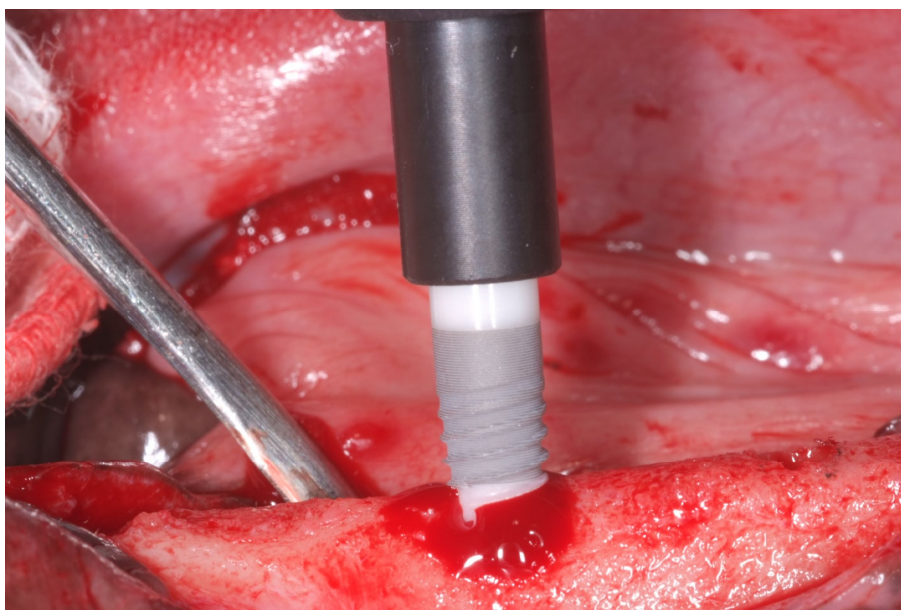


Figura 16. Colocación del implante de zirconia, tratado con el láser en todo el cuerpo del implante

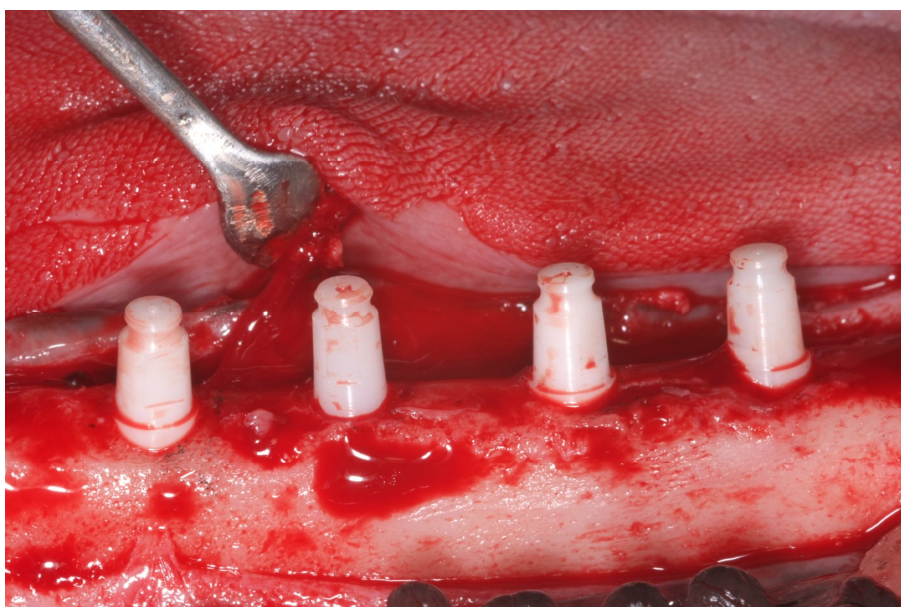


Figura 17. Posición final de los 4 implantes colocados en una hemimandíbula

4.3.2.2. Fabricación y cementado de la prótesis inmediata

Con cada animal anestesiado y tras la inserción de los implantes, se procedió a la realización de una prótesis fija en resina acrílica de alta resistencia en una zona elegida aleatoriamente, este provisional será una reproducción de la anatomía oclusal

dentaria canina de cada animal, que fue cementado sobre los implantes del lado elegido.

En los implantes que iban a recibir carga inmediata, los pilares de zirconio recibieron una cubierta fabricada con PEEK (polyetheretherketone) y fueron ferulizados mediante ligadura de alambre de ortodoncia de 0.16mm y resina acrílica reforzada Pi-Ku-Plast HP 36, (Bredent Médica[®] GmbH & Co. KG, Senden, Alemania) fotopolimerizada durante 30 segundos. La presencia de contactos oclusales fue verificada con papel de articular de 100µm de grosor (Bausch Progress 100[®], Dr. Jean Bausch KG, Köln, Alemania) de forma manual, induciendo movimientos de apertura y cierre (Figuras 18-20).

En el lado que no recibió carga inmediata, a los implantes se les recortó a una altura de 2mm los pilares, dejando así todos los implantes en las mismas condiciones de exposición al medio oral y fuera de oclusión.

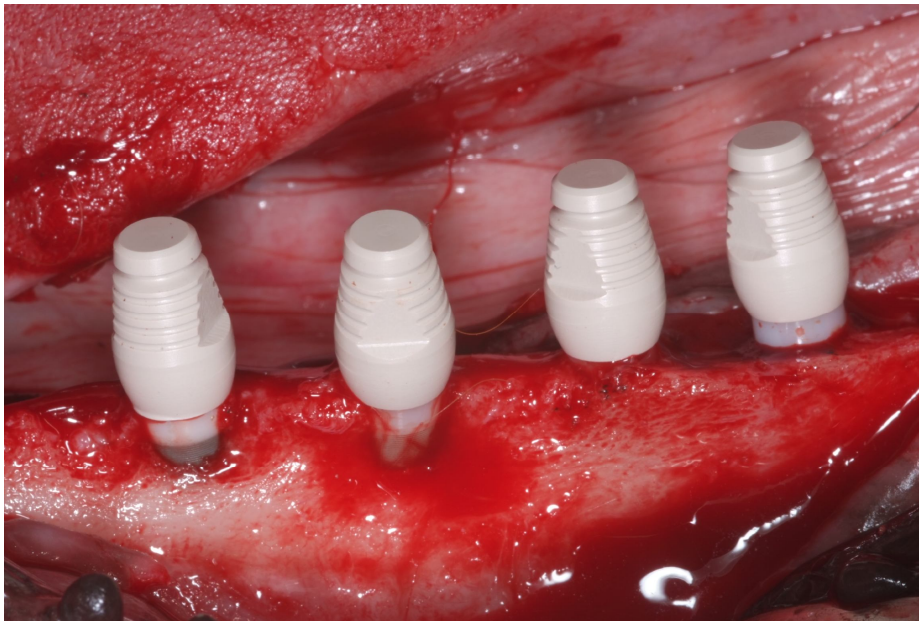


Figura 18. Cofias de plástico Bredent Médica[®] colocados sobre los implantes para recibir la prótesis

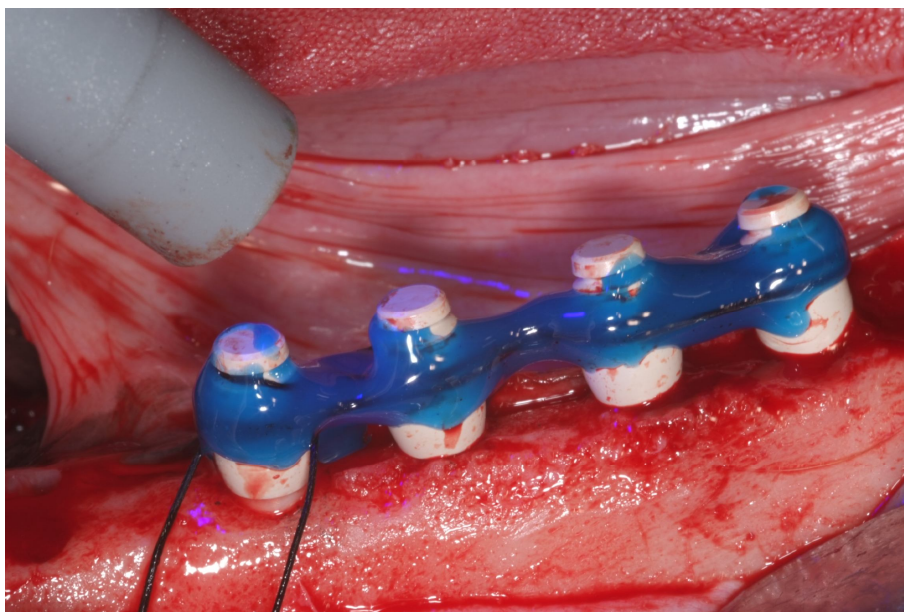


Figura 19. Ferulización de las cofias con resina plástica previa a la realización de la prótesis.

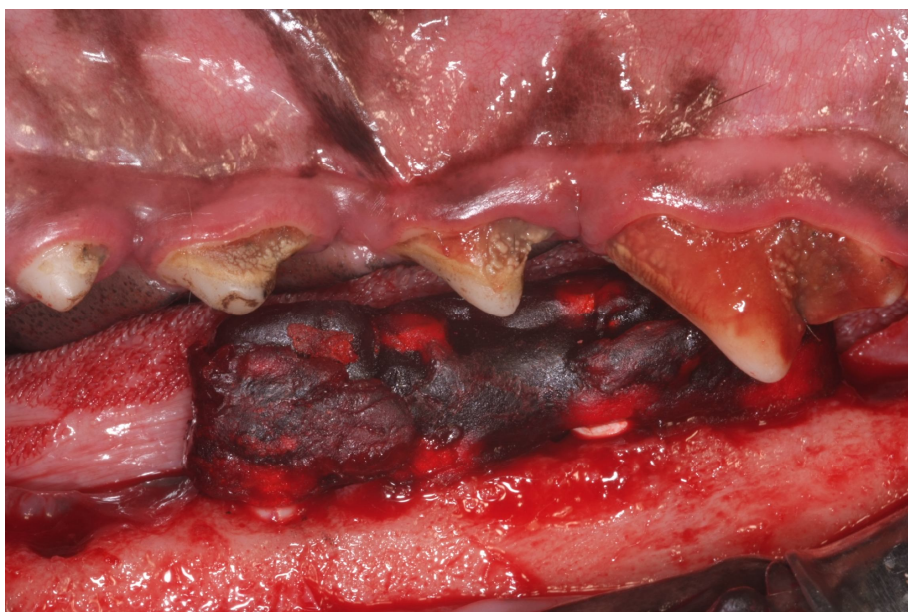


Figura 20. Ajuste de la oclusión de la prótesis para la carga inmediata sobre el Pi-Ku-Plast®.

4.3.2.3. Técnica radiográfica

Con un dispositivo especial realizado en acrílico y utilizando la técnica de paralelismo para cada perro, se procedió a realizar las radiografías, la primera el día de la inserción e los implantes y la segunda el día del sacrificio de los perros, por

radiovisiografía, por la que se obtuvieron las imágenes para su posterior análisis (Figura 21).

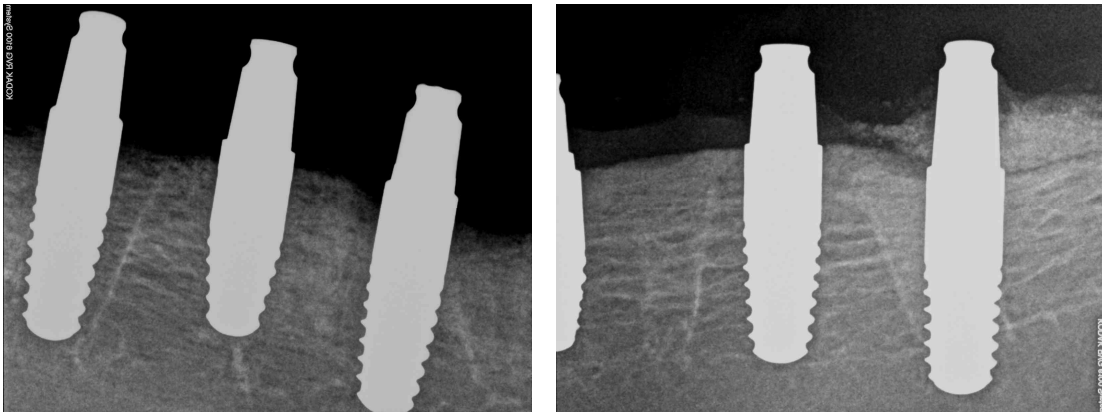


Figura 21. Diferentes imágenes radiográficas de los implantes colocados en el hueso mandibular

4.3.2.4. Análisis de la estabilidad de los implantes

La estabilidad primaria de los implantes se midió mediante el Perio-test[®] (Figura 22). El Perio-test[®] (Gulden-Medizintechnik, Bensheim am Bergstrabe, Alemania) es un instrumento electrónico diseñado originalmente para llevar a cabo las mediciones cuantitativas de las características de amortiguación del ligamento periodontal que rodea a un diente, estableciendo así un valor para su movilidad.

El Perio-test[®] es un instrumento que comprende una pieza de mano que se acerca al diente con un electroimán. La duración del contacto en el diente se mide por un acelerómetro. El software en el instrumento está diseñado para relacionar el tiempo de contacto como una función de la movilidad del diente.

El resultado se muestra de forma digital y sonora como valores Perio-test[®] (PTVs) en una escala de -8 (baja movilidad) al 50 (de alta movilidad). La técnica se ha utilizado también para determinar la movilidad del implante, y los valores típicos obtenidos van desde -5 a +5, lo que representa un intervalo más estrecho sobre la escala del instrumento que para las mediciones de la movilidad de los dientes. Un implante

estable presentan características diferentes de rigidez en comparación con las de los dientes que están conectadas por un ligamento periodontal.⁹⁸

Para las mediciones la punta de la pieza de mano se colocó perpendicular al pilar del implante en la cara vestibular, a una distancia aproximada de 2mm. Se registraron tres mediciones por implante, y de ellas se obtuvo el valor medio. El día de la inserción de los implantes y el día del sacrificio se volvieron a tomar los valores siguiendo el mismo protocolo (Figura 23).



Figura 22. Perio-test[®] utilizado para la determinación de la estabilidad de los implantes

La sutura se realizó con puntos colchoneros horizontales, para conseguir un cierre resistente. Los animales fueron monitorizados durante todo el procedimiento por la veterinaria.

La reversión de la anestesia, el despertar y los cuidados post operatorios fueron los mismos, descritos en la Fase 1.

⁹⁸ Aparicio C, Lang NP, Rangert B. Validity and clinical significance of biomechanical testing of implant/bone interface. Clin Oral Implants Res 2006;17:2-7.

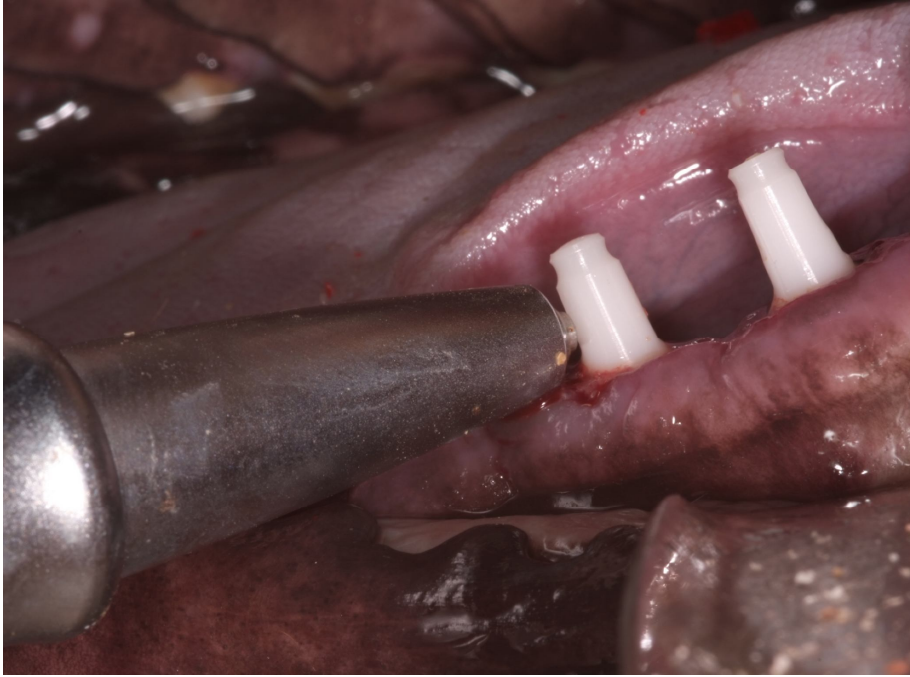


Figura 23. Realización clínica de las mediciones con el Perio-test®

Como medicación antiinflamatoria/analgésica y antimicrobiana se utilizará:

- Voren® antiinflamatorio (dexametasona isonicotinato): 1-2 ml vía intramuscular.
- Bivamox® antibiótico (amoxicilina): 2 ml vía intramuscular.

El antibiótico y el antiinflamatorio se administró al terminar la intervención quirúrgica y posteriormente cada 2 días durante un total de 4 días, para prevenir la infección e inflamación post operatorias, como establecen los comités de ética de experimentación animal.

Los perros, terminada la cirugía fueron trasladados al estabulario para que, bajo supervisión veterinaria, se recuperaran progresivamente de la operación. Durante los días posteriores se realizó el cuidado post-quirúrgico de las heridas para evitar infecciones y además de controlar el estado general de los animales. Los animales fueron alimentados *ad-libitum* con dieta blanda a base de pienso blando y agua.

4.3.3. Procedimiento de Fase 3

La tercera fase se realizará a los 30 y 90 días. En esta fase del estudio, se realizó la toma de la radiografía final, el registro de los valores de estabilidad y la extracción de las muestras para la realización de análisis histológico e histomorfométrico.

Para la eutanasia de los animales, se siguió la siguiente pauta farmacológica:

- Calmo Neosan[®] (meleato de acepromacina): 2,5-3cm³ vía i.m. + Imalgene 1000[®] (ketamina+clorbutol): 2cm³ vía i.m., como premedicación sedante (Figura 24).
- Dolethal[®] (pentobarbital sódico): 3 cm³ vía i.m. (Figura 24).



Figura 24. Presentación de los fármacos usados en el sacrificio del animal.

Tras la constatación de la muerte del animal por parte del veterinario se procedió al registro final de los valores del Perio-test[®] y a la toma de las radiografías finales con el mismo método descrito anteriormente. Inmediatamente se realizó a la disección de la mandíbula del perro (Figura 25). Se realizó la disección de los tejidos periorales, para

dejar la mandíbula aislada, con la ayuda de un micromotor (Microprocesor Vmax Volvere NE 120®, Nakanishi INC., Tochigi, Japón) y una fresa de osteotomía, con irrigación con suero salino, realizamos dos cortes transversales en ambos lados del cuerpo mandibular, con un margen distal de aproximadamente 10 ó 15 mm con respecto a los implantes colocados más distales, y se procedió de forma cuidadosa a la extracción de la mandíbula. Ésta se introdujo en un recipiente de plástico herméticamente cerrado con formaldehído (3,7-4,0%), tamponado a pH 7 y estabilizado con metanol DC (Panreac DC ref. 252931.1214 Panreac Química S.L.U, Barcelona, España).⁹⁹

Las mandíbulas en formaldehído se enviaron al Departamento de Anatomía Patológica de Colonia (Alemania) para la realización del análisis histológico en el laboratorio del Prof. Daniel Rothamel. Las biopsias se procesaron siguiendo el método descrito por Donath y Breuner en 1982.¹⁰⁰



Figura 25. Pieza quirúrgica tras la extirpación de la hemimandíbula.

⁹⁹ Bancroft GN, Sikavitsas VI, van den Dolder J, Sheffield TL, Ambrose CG, Jansen JA, Mikos AG. Fluid flow increases mineralized matrix deposition in 3D perfusion culture of marrow stromal osteoblasts in a dose-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:12600-5.

¹⁰⁰ Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982;11:318-26.

Las muestras individuales se cortaron en bloques que llevaban incluido encía, el cuerpo completo del implante y por lo menos 3mm del hueso perimetral en toda la superficie.

Estas muestras se incluyeron en moldes de polietileno mediante resina fotopolimerizable Teknovit 7210® (Heraeus Kulzer GmbH, Werheim, Alemania), para su procesado y posterior análisis histomorfométrico.

4.3.4. Parámetros radiográficos

Se procedió a la valoración y registro mediante el programa de análisis de imagen Image J (Universidad de Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin EE.UU.), de la medida de la pérdida de hueso crestal (CBL) y se evaluó midiendo la distancia desde el hombro del implante, con el primer punto de contacto hueso-implante en milímetros. (Figura 26)

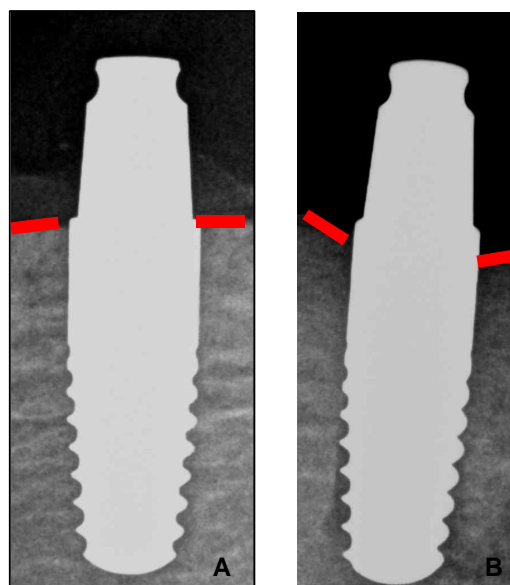


Figura 26. Determinación de la altura de la cresta ósea. A (altura del hueso crestal en el momento de la colocación de los implantes); B (Disminución de la cresta ósea durante el tiempo en boca del implante)

4.3.5. Parámetros histomorfométricos

4.3.5.1. *Bone-to-implant contact (BIC)*

Este parámetro corresponde al porcentaje de integración o ratio de contacto óseo, definido como el hueso en contacto directo con el implante en relación al perímetro total de este.

$$\text{BIC} = \frac{\text{Superficie del implante en contacto con el hueso}}{\text{Longitud total del implante}} \times 100$$

Hay tres maneras diferentes de medir el contacto hueso-implante (BIC). La primera consiste en medir la cantidad de hueso mineralizado en contacto directo con la superficie del implante a través del área completa de la rosca. Esto es lo que llamamos BIC I. El BIC II mide el contacto de hueso con el implante a lo largo de una línea que pasa de vértice a vértice de las roscas del implante, esta medida no tiene por tanto en cuenta la medida del contacto entre roscas y tiende a medir el hueso viejo y un poco de hueso nuevo. Por último, el BIC III mide tanto en las áreas alrededor, sobre y entre las rocas (Figura 27).¹⁰¹

Los porcentajes del BIC fueron calculados alrededor de todo el perímetro del implante, midiendo el contacto hueso-implante desde el primer contacto óseo (coincidiendo con el cuello del implante) hasta el punto medio del ápice del mismo en relación a la longitud del implante (10mm).

¹⁰¹ Calvo-Guirado JL, Aguilar-Salvatierra A, Guardia J, Delgado-Ruiz RA, Ramírez-Fernandez MP, Pérez C, Gomez-Moreno G. Evaluation of periimplant bone neoformation using different scanning electron microscope methods for measuring BIC. A dog study. J Clin Exp Dent 2011;4:8-13.

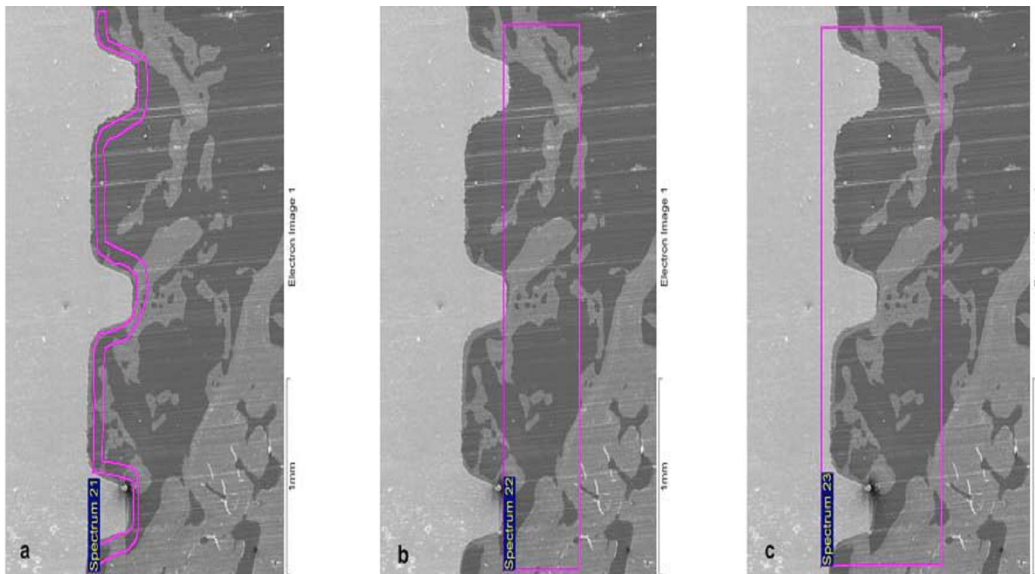


Figura 27. Mediciones del BIC (a) BIC I, (b) BIC II, (c) BIC III.¹⁰¹

La histomorfometría se realizó con una cámara de vídeo (Sony 3CCD, Berlín, Alemania) con un aumento de 70x. Las imágenes fueron digitalizadas (Axiophot-System, Zeiss) y se fijaron y midieron los puntos de referencia.

4.3.6. Expectometría por rayos X de los elementos químicos con microscopía electrónica de barrido

Se realizó el análisis y la cuantificación de elementos químicos mediante espectrometría (EDX) en microscopio electrónico de barrido JEOL-6100 (SEM; Jeol, Tokio, Japón) con una magnificación de 75X.

Se seleccionó un área predeterminada que incluyera parte de superficie rugosa y tejido óseo periimplantario en el fondo de la rosca. (Figura 28-30).

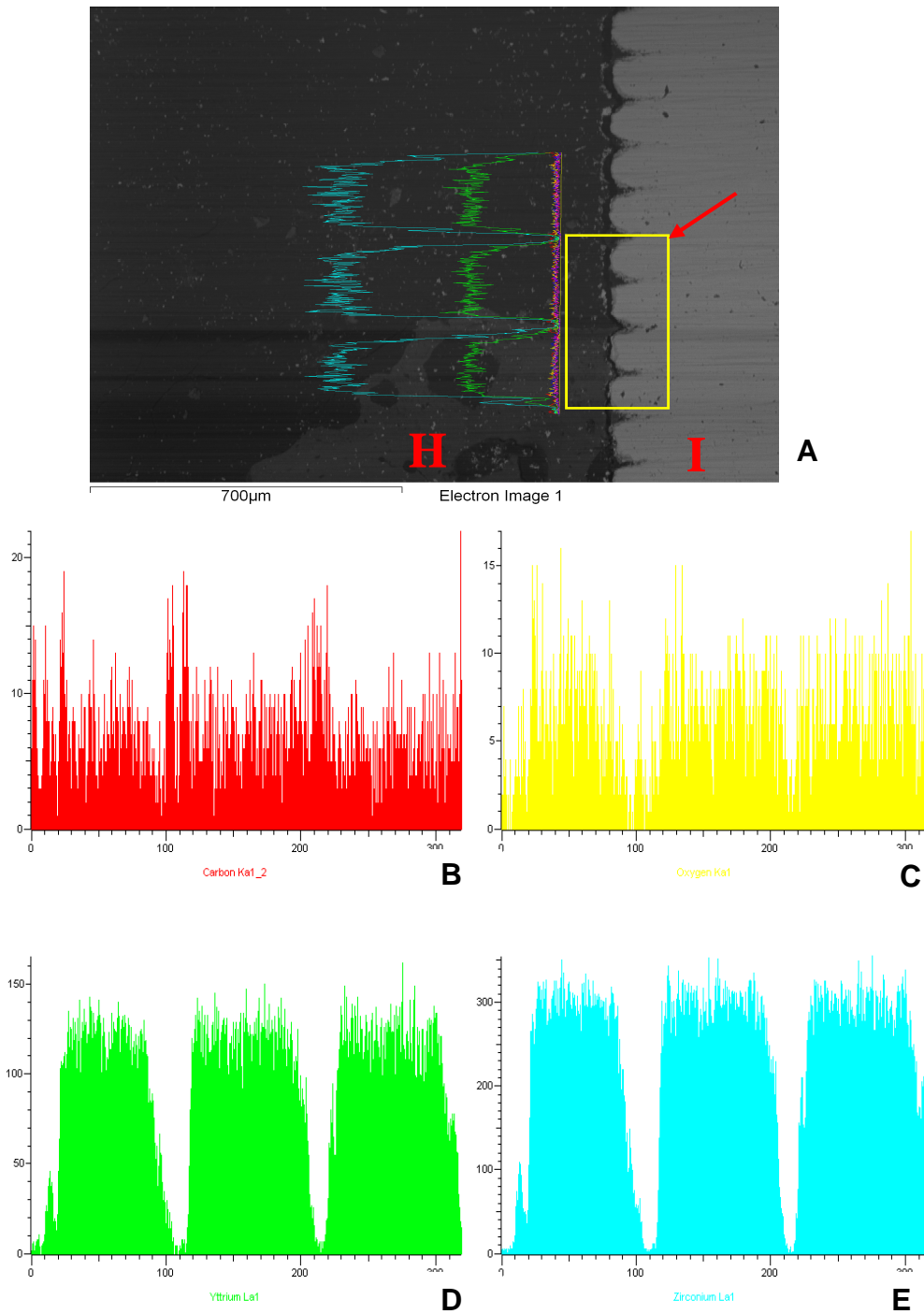


Figura 28. Análisis de elementos sobre la superficie del cuello del implante. A: muestra del implante analizada, I (implante), H (hueso), Flecha (área en que se realizó en análisis de elementos). B: Concentración de carbono en la muestra. C: Concentración de oxígeno en la muestra. D: Concentración de itrio en la muestra. E: Concentración de zirconio en la muestra

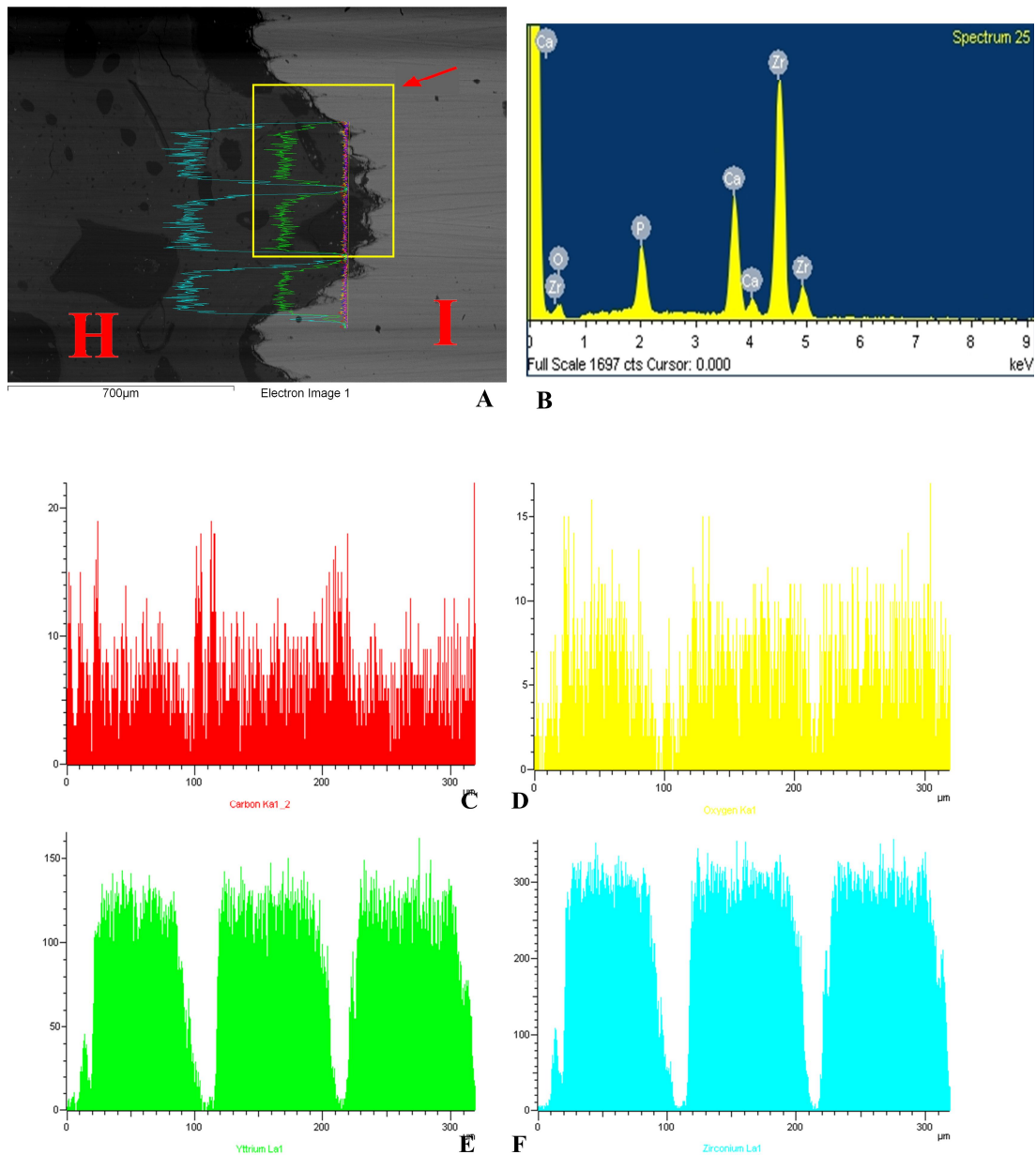


Figura 29. Análisis de elementos sobre la superficie del cuerpo del implante. A: muestra del implante analizada, I (implante), H (hueso), Flecha (área en que se realizó en análisis de elementos). B: representación gráfica de los elementos analizados. C: concentración de carbono en la muestra. D: concentración de oxígeno en la muestra. E: concentración de itrio en la muestra. F: concentración de zirconio en la muestra.

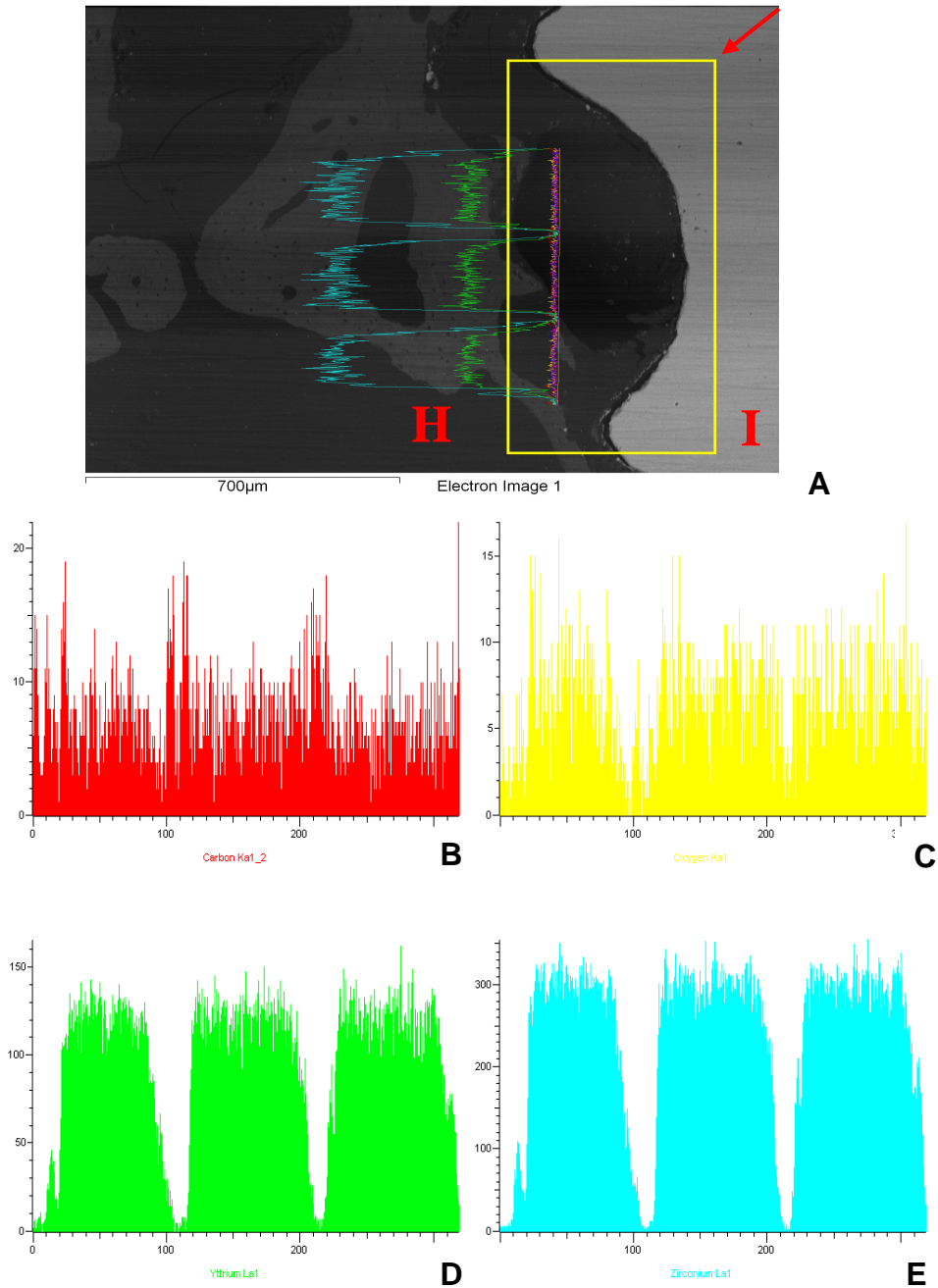


Figura 30. Análisis de elementos sobre la superficie del ápice del implante. A: muestra del implante analizada, I (implante), H (hueso), Flecha (área en que se realizó en análisis de elementos). B: Concentración de carbono en la muestra. C: Concentración de oxígeno en la muestra. D: Concentración de itrio en la muestra. E: Concentración de zirconio en la muestra.

Se utilizó el microscopio electrónico de barrido para valorar la topografía de la superficie. Los implantes fueron desengrasados en soluciones de etanol y deshidratados con acetona. Finalmente, la superficie del implante fue cubierta por una película de carbono. Los implantes fueron etiquetados y distribuidos en un disco de

aluminio de 4cm de espesor en pares, utilizando cinta adhesiva ad-hoc. Se realizaron observaciones paramétricas a una distancia de 32 mm, 20 Kv y magnificación de 20X, 75X, 150X (Figuras 31-33).

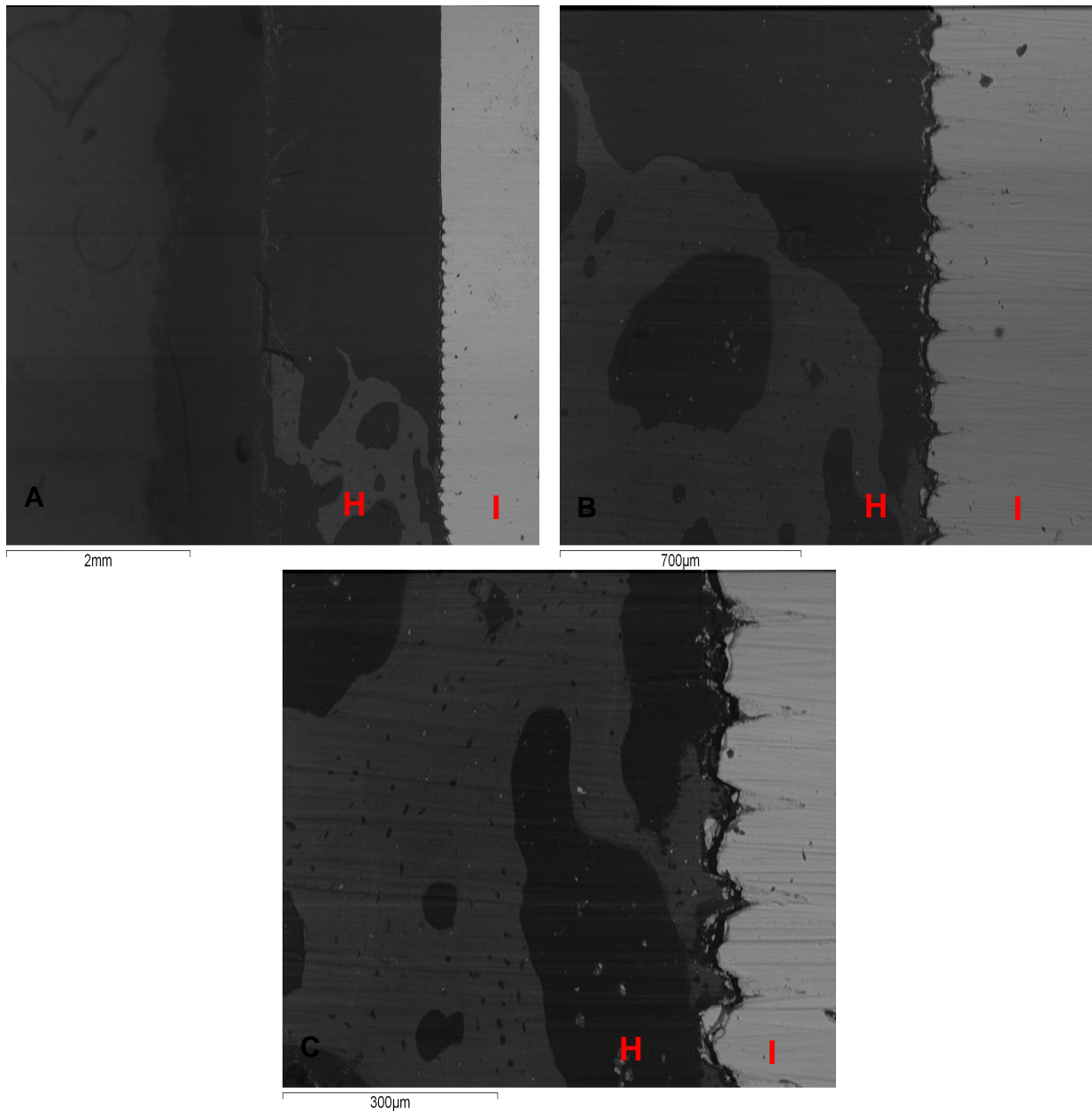


Figura 31. Imágenes del cuello del implante de zirconia a diferentes aumentos. A: 20X; B: 75X; C: 150X. H: Hueso; I: Implante.

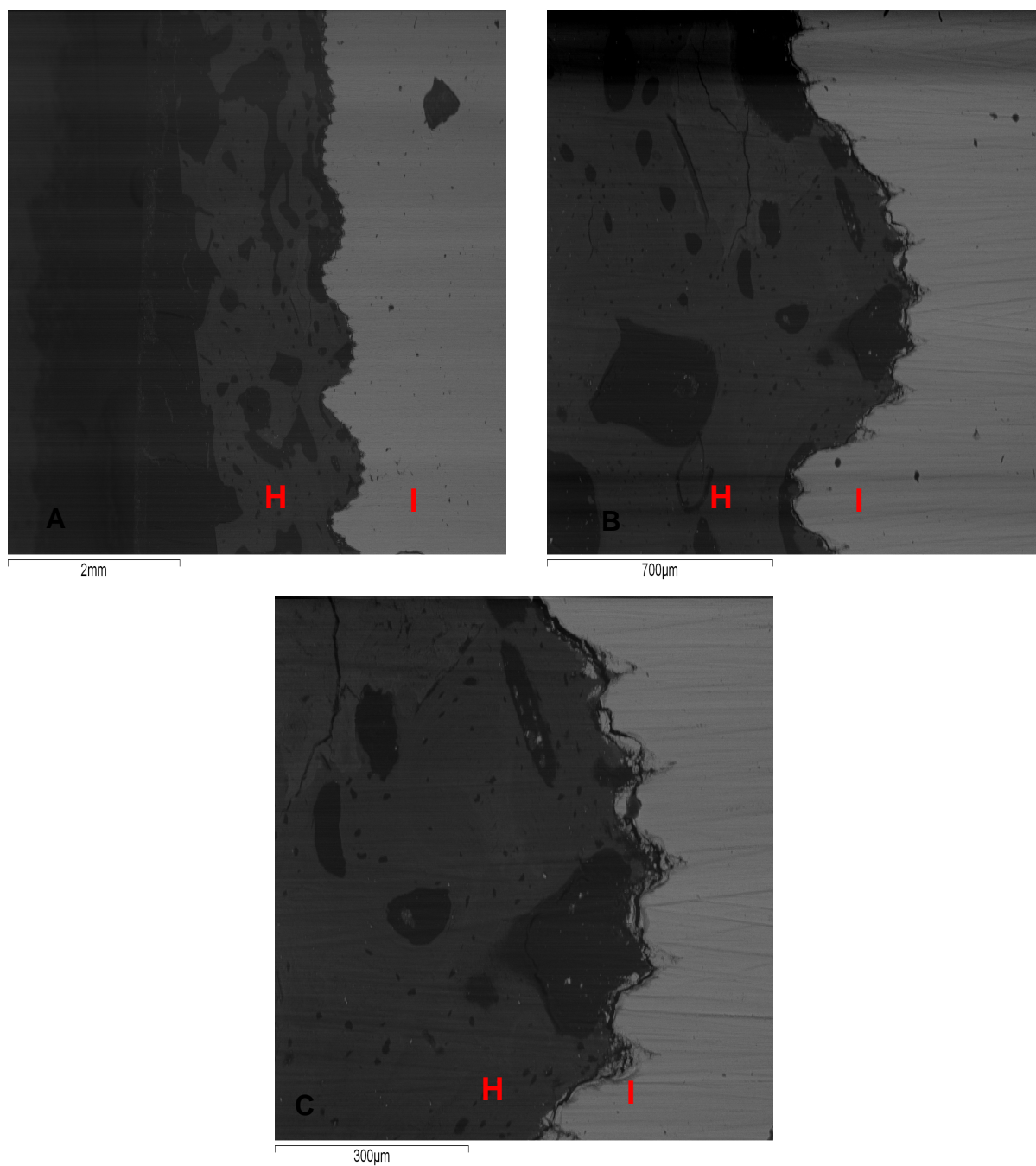


Figura 32. Imágenes del cuerpo del implante de zirconia a diferentes aumentos. A: 20X; B: 75X; C: 150X. H: Hueso; I: Implante.

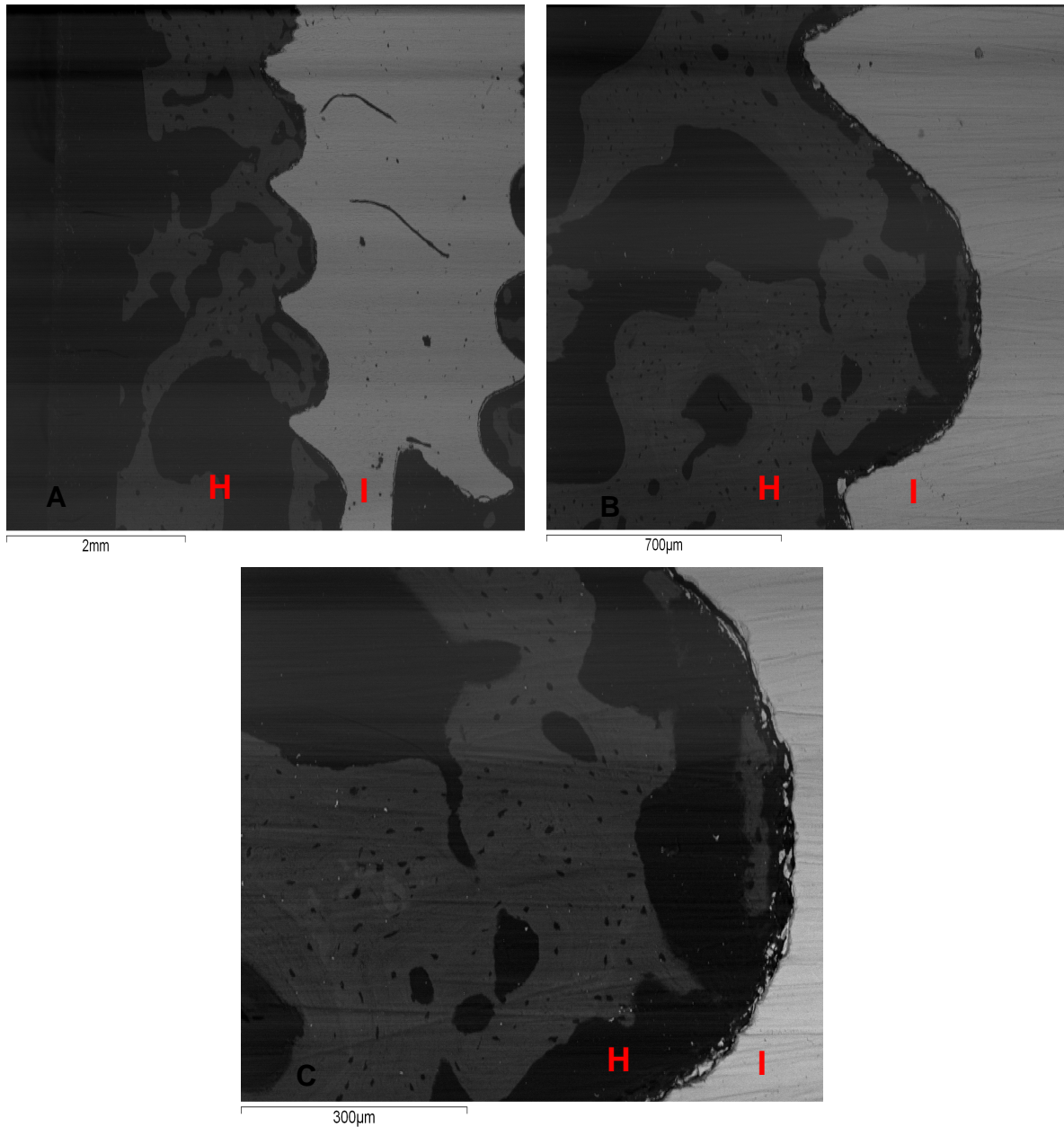


Figura 33. Imágenes del ápice del implante de zirconia a diferentes aumentos. A: 20X; B: 75X; C: 150X. H: Hueso; I: Implante.

La cuantificación de elementos químicos fue realizada mediante espectrometría de energía dispersa de rayos X utilizando un sistema Oxford INCA 300 (Oxford Instrument, Oxfordshire, Reino Unido). Todas las muestras fueron cubiertas con una delgada capa de una sustancia con carbono osteoconductor (SCD 004 Sputter-Coater with OCD 30 attachment, Bal-Tec, Vaduz, Liechtenstein).

La finalidad de la cuantificación de elementos químicos de los tejidos periimplantarios fue valorar la posible existencia de un intercambio iónico entre la superficie de zirconio y los átomos de las moléculas del tejido óseo periimplantario.

4.3.7. Análisis de las muestras por microscopía óptica

La tinción utilizada fue la del azul de toluidina, que se realizó sobre los cortes hueso-implante sin descalcificar en cortes de 5-30 micras de grosor que fueron embebidos en acrílico según la técnica de Donath.¹⁰⁰ El azul de toluidina es un colorante acidofílico y metacromático que pertenece al grupo de las tiacidas. Su característica principal es que tiñe selectivamente componentes ácidos de los tejidos, tales como: sulfatos y radicales, fosfatos incorporados en el ADN y ARN de las células, tiñe el material nuclear de las lesiones malignas. En este caso no permite diferenciar claramente el hueso que está en contacto con el implante de las demás estructuras como son los tejidos blandos, el tejido conectivo, etc. (Figuras 34-35).

Se realizó una evaluación del contacto hueso-implante. Para esta evaluación, el porcentaje de contacto directo entre hueso mineralizado y superficie de zirconia fue determinado contando dentro de la zona de roscas.

El análisis histomorfométrico fue llevado a cabo utilizando imágenes calibradas digitalmente con aumento de 10X (Leica microscope Q500Mc, Leica DFC320, 3088X2550 pixeles, Leica Microsystems, Alemania). Para este análisis se usó la sección sagital más central de cada implante utilizando el software MIP 4.5 software (Microms Image Processing Software, CID, Consulting Image Digital, Barcelona, España) conectado a una videocámara en color (Sony DXC-151s 2/3-CCD RGB Color Video Camera).

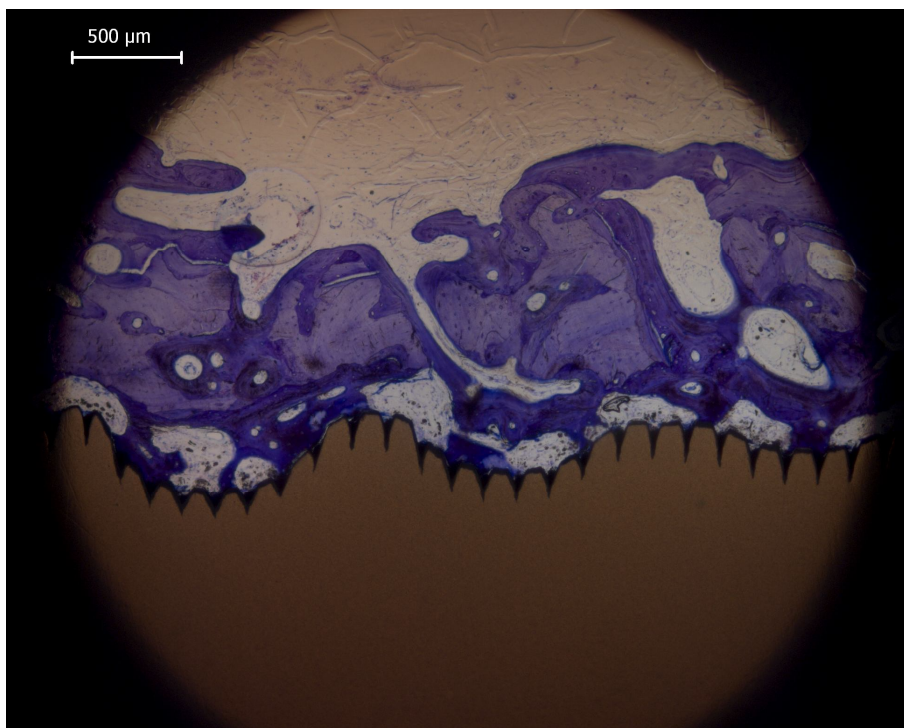


Figura 34. Imagen tomada del microscopio óptico en la que se aprecia el contacto del hueso con la superficie tratada por el láser.

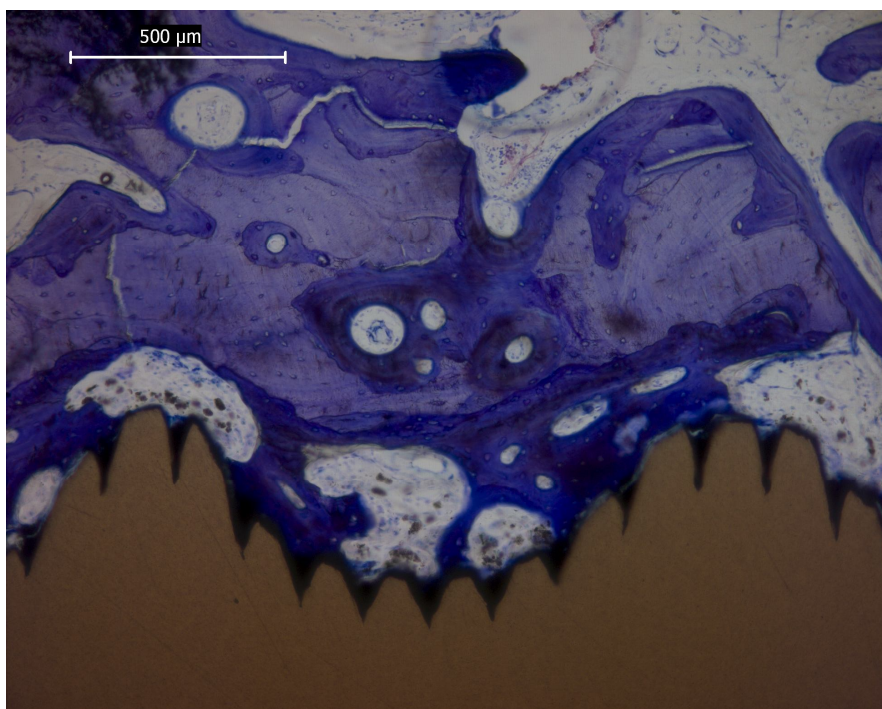


Figura 35. Detalle del contacto íntimo hueso-implante

4.3.8. Análisis Estadístico

Todos los datos se expresan como valor medio \pm error estándar de la media. Para analizar las diferencias entre las distintas variables se utilizó el test de la *t* de Student para muestras apareadas o independientes según promedió, así como la prueba Post Hoc. Los cálculos se realizaron utilizando el programa IBM SPSS Statistics® 20 (Chicago, Illinois, EE.UU.), con licencia de la Universidad de Murcia. El nivel de significación estadística se estableció en $P < 0.05$. Los datos analizados fueron la reabsorción de hueso crestal, contacto hueso-implante (BIC) y la estabilidad del implante medido por con la técnica del Perio-test®.

5. RESULTADOS

5.1. Resultados

Los resultados obtenidos en los diferentes parámetros histomorfométricos vienen reflejados en la Tabla 2 al primer mes de la colocación de los implantes, y en la Tabla 3 para el tercer mes. La muestra experimental considerada en el estudio es de 6 perros American Fox Hound. Los valores se expresan como valor medio \pm error estándar de la media.

	CARGA INMEDIATA	CARGA NO INMEDIATA
BIC (Bone-to-implant contact)	39 \pm 7%*	32 \pm 4%
Reabsorción de hueso crestal	0.5 \pm 0.3mm	0.6 \pm 0.28mm
Estabilidad del implante (valores del Perio-test®)	-4 PTV	-3 PTV

*El nivel de significación estadística se estableció para $p < 0.05$

Tabla 2. Parámetros analizados a un mes

	CARGA INMEDIATA	CARGA NO INMEDIATA
BIC (Bone-to-implant contact)	65 \pm 5%*	58 \pm 4%
Reabsorción de hueso crestal	0.5 \pm 0.26mm	0.56 \pm 0.31mm
Estabilidad del implante (valores del Perio-test®)	-7 PTV*	-5 PTV

*El nivel de significación estadística se estableció para $p < 0.05$

Tabla 3. Parámetros analizados a tres meses

En la tabla se observa un aumento estadísticamente significativo en los parámetros de BIC en 1 y 3 meses en los resultado correspondientes a las muestras de carga inmediata en comparación con los implantes que recibieron carga convencional y de la estabilidad del implante a los tres meses en el caso de la carga inmediata en comparación con la no inmediata.

A continuación se detallan cada uno de los parámetros estudiados en este trabajo, comparando los valores obtenidos con los implantes cargados de forma inmediata *versus* los cargados de forma convencional.

5.2. Bone-to-implant contact (BIC)

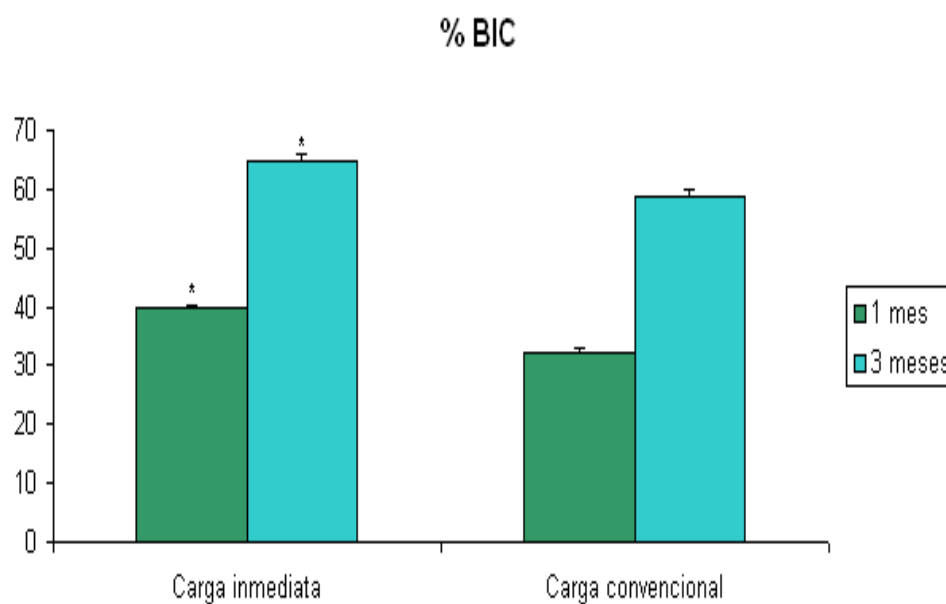


Figura 36. Porcentaje de contacto óseo en los implantes en carga inmediata y convencional a 1 y 3 meses.

Definíamos este parámetro como el hueso en contacto directo con el implante en relación al perímetro total de este. En la Figura 36 se observa la comparación entre las cargas inmediata y no inmediata en el tiempo de carga de 1 y 3 meses. Observamos como hay un aumento de los valores de porcentaje de BIC al estar un mayor tiempo el

implante en el hueso (a los 3 meses). En lo referente al objetivo de comparar el BIC en los diferentes tipos de cargas se aprecia como los implantes cargados de forma inmediata tienen unos porcentajes mayores de forma estadísticamente significativa.

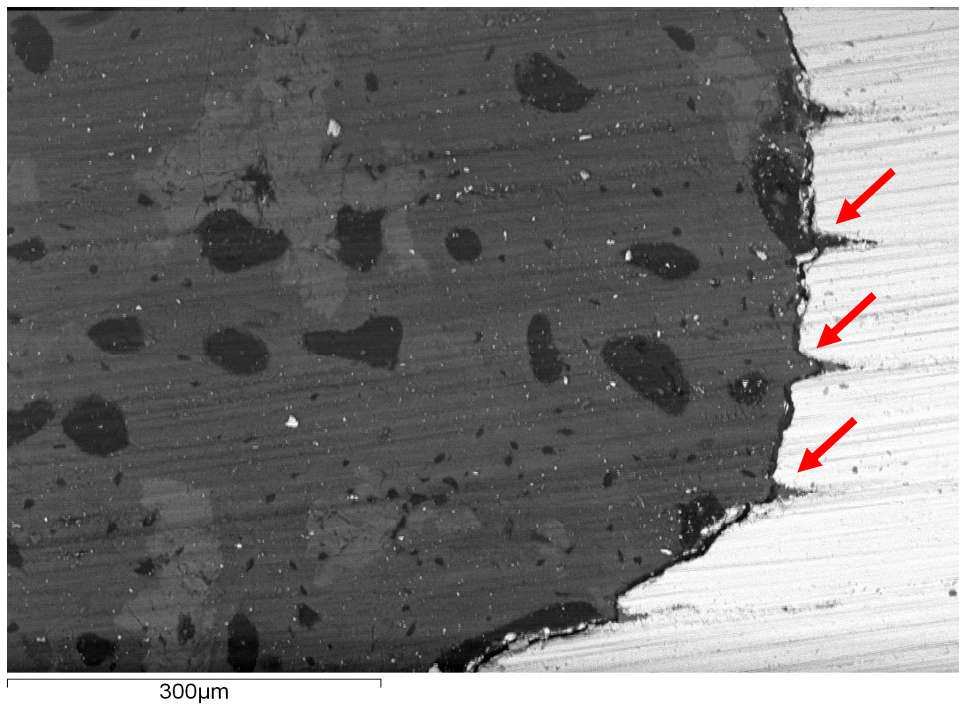


Figura 37. Imagen a 150X donde se aprecia como el hueso penetra en el interior de los microsurcos creados en la superficie del implante

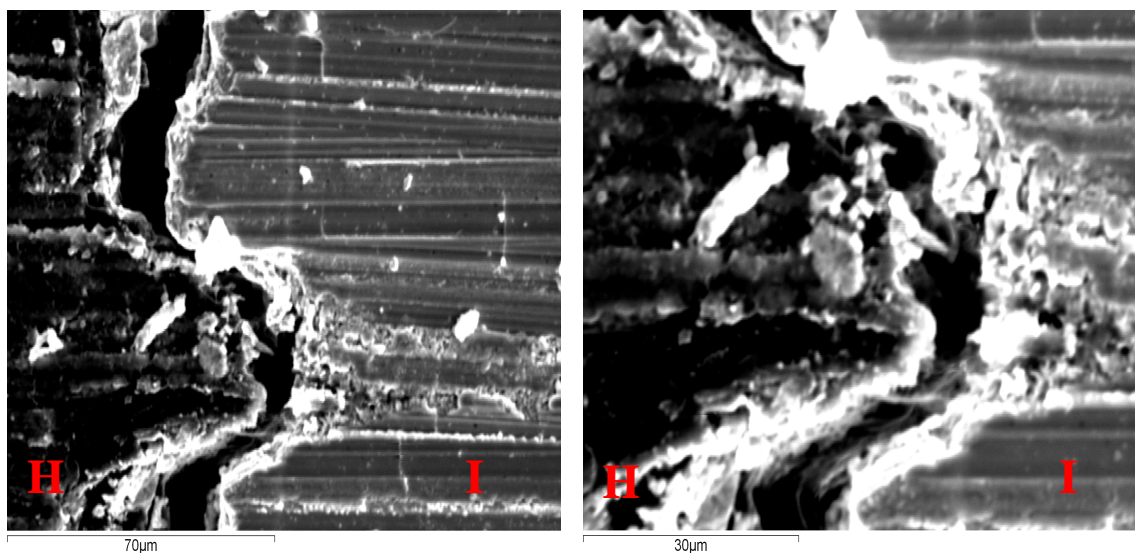


Figura 38. Imagen sin retrodispersión que muestra a 800X y 1500X la penetración del hueso en los microsurcos del implante

Por ello podemos afirmar la correcta unión del hueso al implante como se puede observar en los imágenes de microscopía electrónica (Figura 37-39) y óptica (Figura 40-41)

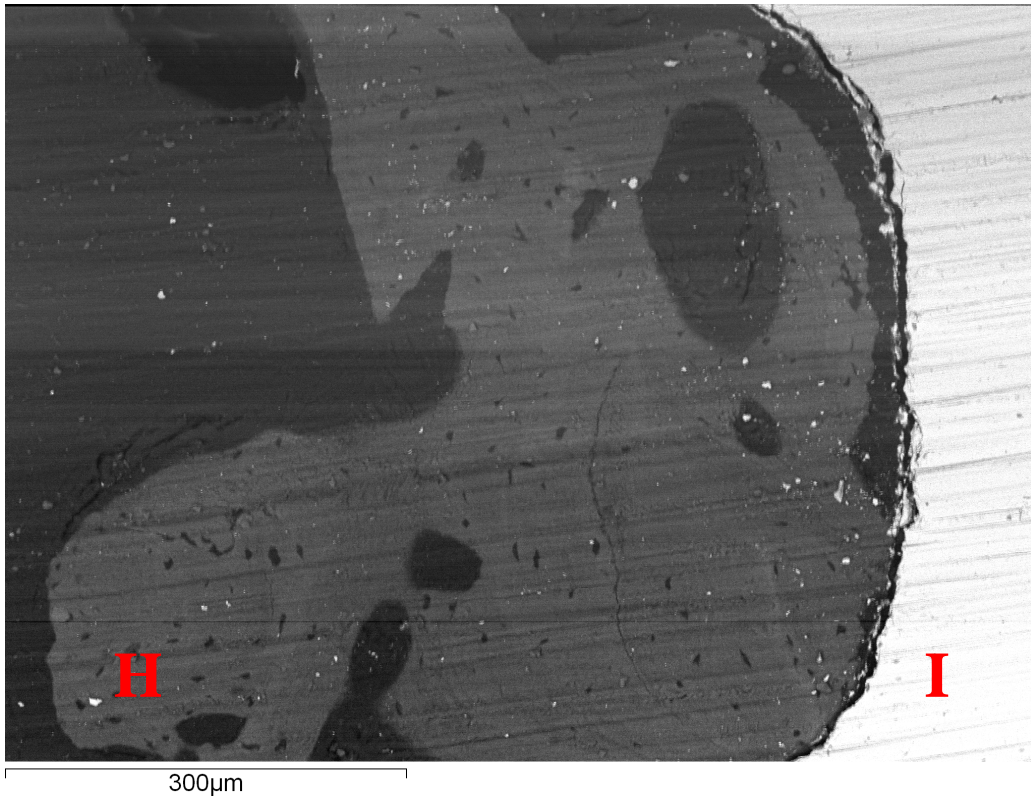


Figura 39. Imagen del ápice a 150X que muestra la entrada del hueso en el espacio interrosca. I: Implante; H: Hueso.

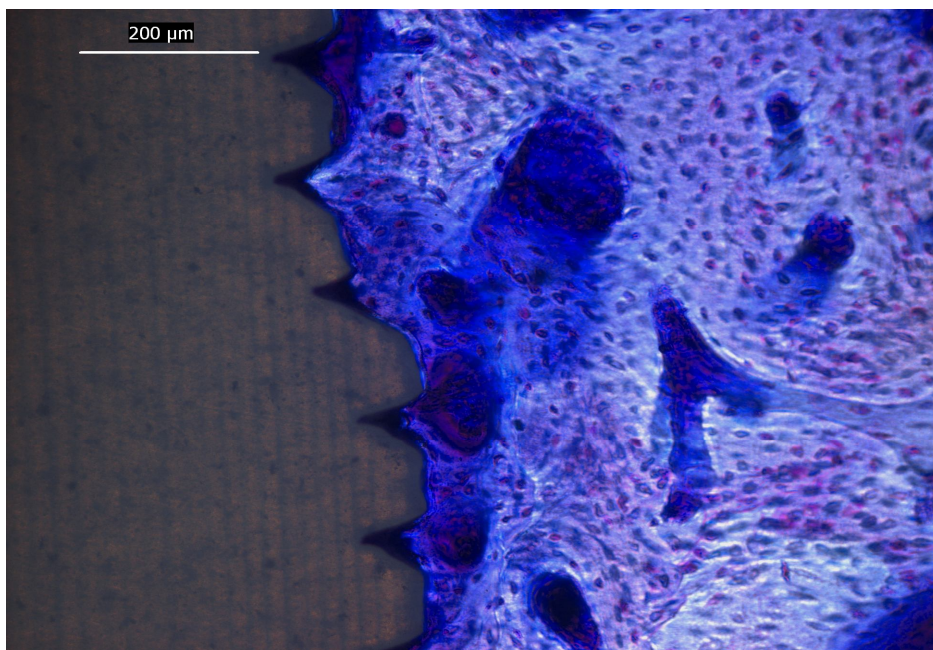


Figura 40. Formación de hueso nuevo en la superficie del implante. Detalle de la gran cantidad de células existentes.



Figura 41. Muestra de la remodelación ósea en la parte más externa de las rosclas

5.3. Reabsorción de hueso crestal

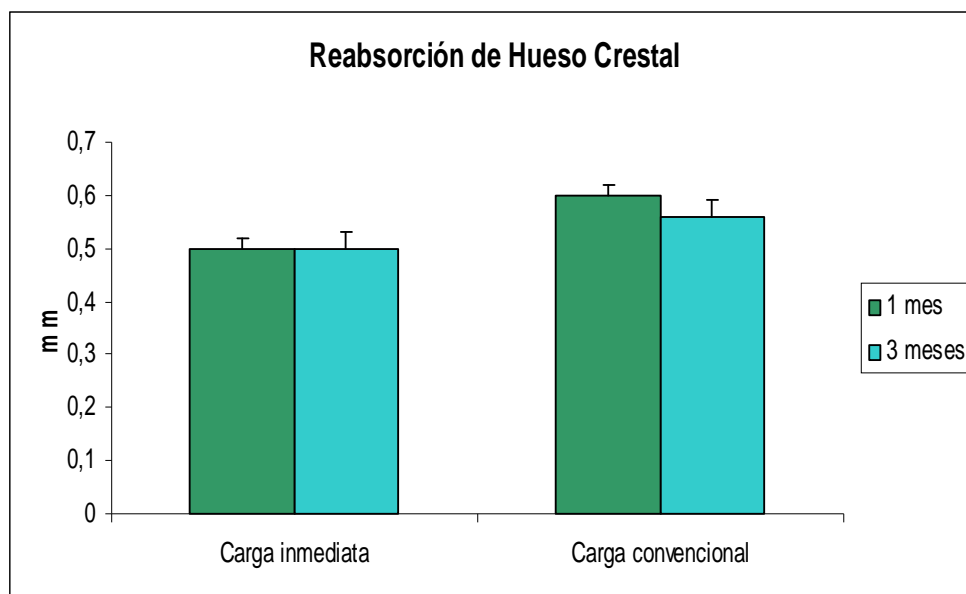


Figura 42. Distancia de reabsorción de hueso crestal (en milímetros) en los implantes en carga inmediata y convencional a 1 y 3 meses.

En la Figura 42 se aprecian los valores de reabsorción del hueso crestal al colocar los implantes de zirconia. Se puede observar por los datos obtenidos que la pérdida es muy uniforme en ambos grupos, siendo ligeramente mayor en el caso de los implantes colocados en carga no inmediata. Así la mayor reabsorción se produce en los primeros momentos de la cicatrización del hueso al colocarse el implante en donde la pérdida es de 0,5mm en el caso de la carga inmediata al mes de la colocación de los implantes y de 0,6mm en el grupo de carga no inmediata. Los valores se mantienen en el grupo de carga inmediata y en el grupo de carga convencional hay un leve crecimiento de la cresta ósea periimplantaria de 0,04mm. Estas diferencias no llegan a ser estadísticamente significativas.

5.4. Estabilidad del implante

La estabilidad del implante se determinó mediante el método del Perio-test[®]. Se determinaron los valores en dos momentos, uno en el momento de la colocación del implante (lo que nos permite conseguir los valores de estabilidad primaria), un segundo momento que se realizó en el momento del sacrificio del mismo, al mes y los tres meses dependiendo del grupo en el que estuviera ubicado el implante. Los valores mostrados en la Figura 43 se expresan en las unidades usadas por Perio-test[®] (valores PTV).

Los valores obtenidos muestran, una gran estabilidad en los valores iniciales al ser colocados ya que todos los implantes utilizados fueron idénticos y dieron unos valores próximos a -3.5 PTV.

Si analizamos la evolución de los valores del Perio-test[®] en los dos periodos de tiempo estudiados hay un aumento en la estabilidad en los implantes en carga inmediata a un mes de un punto en comparación con la carga convencional.

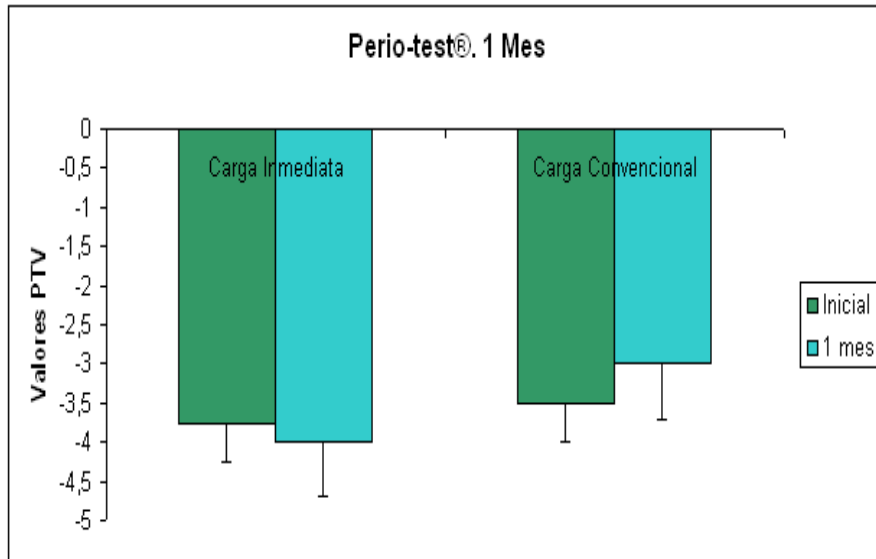


Figura 43. Valores medios de estabilidad de los implantes. Grupo de animales que fue sacrificado a 1 mes.

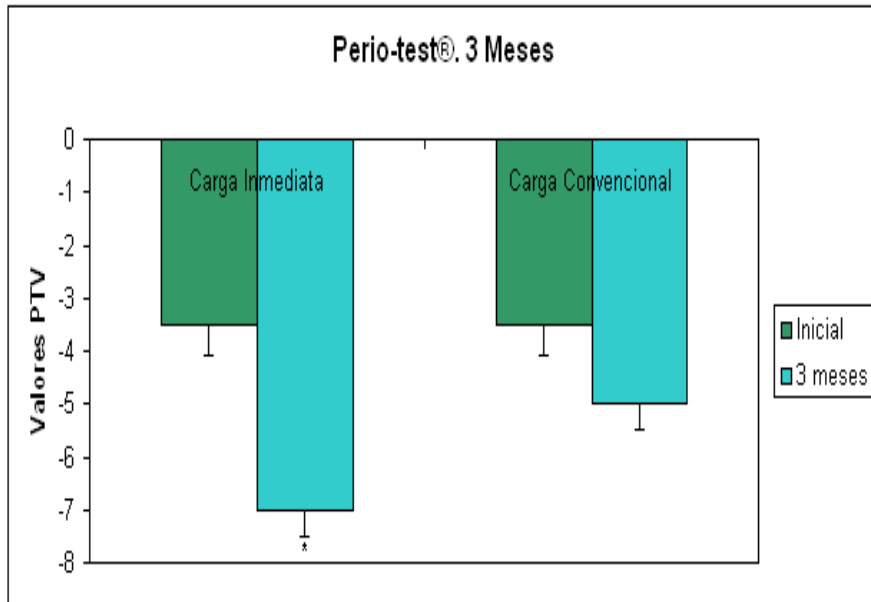


Figura 44. Valores medios de estabilidad de los implantes. Grupo de animales que fue sacrificado a los 3 meses.

Este hecho se confirma si valoramos los resultados a 3 meses, en este caso ambos tipos de carga muestran mejoría en sus valores de estabilidad, siendo estadísticamente significativa la diferencia en el caso de los implantes cargados en carga inmediata (Figura 44).

5.5. Análisis de elementos

Con respecto a la composición química, el microanálisis con microscopio electrónico de barrido mostró los siguientes porcentajes de los principales elementos químicos observados en el tejido óseo periimplantario en el grupo de carga inmediata en comparación con el grupo de carga convencional al mes y los tres meses de la colocación de los implantes. Los resultados muestran mayor cantidad de calcio y de fósforo en los implantes que recibieron la carga inmediata a los 3 meses, no apreciándose diferencias estadísticamente significativas en ningún elemento.

Elemento	Carga Inmediata	No Carga Inmediata
Ca	16,54 ± 2,54	17,27 ± 2,41
P	3,59 ± 0,46	4,81 ± 0,36
O	12,64 ± 1,15	12,42 ± 1,16
C	12,83 ± 1,24	11,65 ± 1,03
Zr	49,61 ± 3,26	49,29 ± 4,12
Y	3,19 ± 0,71	3,06 ± 0,83

Tabla 4. Porcentaje de elementos detectados mediante EDX por microscopio electrónico de barrido al **primer mes** para los grupos con carga y sin carga.

Elemento	Carga Inmediata	No Carga Inmediata
Ca	17,42 ± 2,21	17,06 ± 2,13
P	4,32 ± 0,26	4,07 ± 0,73
O	12,85 ± 1,06	12,83 ± 1,10
C	13,06 ± 1,12	12,33 ± 1,19
Zr	48,43 ± 2,81	49,37 ± 3,14
Y	2,72 ± 0,57	2,94 ± 0,84

Tabla 5. Porcentaje de elementos detectados mediante análisis de elementos (EDX) del microscopio electrónico de barrido al **tercer mes** para los grupos con carga y sin carga.

6. DISCUSIÓN

El titanio, desde los estudios de Branemark en los años 70,⁵ es el material más utilizado en implantología oral por su extendido uso a nivel mundial y su demostrada fiabilidad en numerosos estudios. Este material a pesar de todas las ventajas que plantea, ha presentado algunos inconvenientes como pueden ser la sensibilidad al titanio, que puede llegar a producir alergia; la translucidez de su color oscuro en caso de retracción gingival o de biotipos gingivales finos.^{75,77,78} Por todo esto, diferentes autores han sugerido la posibilidad de utilizar un material alternativo al titanio para la fabricación de implantes dentales. El material que ha conseguido mayor aceptación y que se plantea como una alternativa válida es la zirconia.^{79,102,103,104}

Este material, utilizado desde los años 90¹⁰⁵, trae consigo una serie de ventajas, entre las que destaca fundamentalmente su color, muy parecido al del diente y por lo tanto la posibilidad de ofrecer menores problemas estéticos en el caso de producirse una recesión de los tejidos periimplantarios. Por esta razón, se trabaja en la mejora de las propiedades de la zirconia con el fin de conseguir unos buenos resultados biomecánicos y de osteointegración. En este sentido, se está intentado modificar la superficie del implante con el fin de conseguir aumentar la superficie de contacto del implante con el hueso y de este modo mejorar la estabilidad y duración del mismo. Los trabajos anteriores de Delgado y cols.,⁷¹ han servido de base para nuestra investigación. Estos autores modificaron la superficie del implante de zirconia

¹⁰² Andreiotelli M, Wenz HJ, Kohal RJ. Are ceramic implants a viable alternative to titanium implants? A systematic literature review. *Clin Oral Implants Res* 2009;20:32-47.

¹⁰³ Lima EM, Koo H, Vacca Smith AM, Rosalen PL, Del Bel Cury AA. Adsorption of salivary and serum proteins, and bacterial adherence on titanium and zirconia ceramic surfaces. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:780-5.

¹⁰⁴ Manicone PF, Rossi Iommetti P, Raffaelli L, Paolantonio M, Rossi G, Berardi D, Perfetti G. Biological considerations on the use of zirconia for dental devices. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2007;20:9-12.

¹⁰⁵ Akagawa Y, Ichikawa Y, Nikai H, Tsuru H. Interface histology of unloaded and early loaded partially stabilized zirconia endosseous implant in initial bone healing. *J Prosthet Dent* 1993;69:599-604.

mediante láser de femtosegundo para realizar surcos en su superficie. Delgado y cols. demostraron en un modelo *in vitro* como las superficies tratadas por láser de femtosegundo en surcos de 30µm de ancho guían y estimulan el crecimiento celular, además de incrementar la adherencia de osteoblastos en su interior.⁷²

Hemos realizado un ensayo en un modelo experimental *in vivo* para analizar el comportamiento de este tipo de implantes al estar en el medio oral, comparando su rendimiento al estar sometido a carga inmediata tras su colocación *versus* otros que no recibieron carga inmediata.

La importancia de evaluar el comportamiento de los implantes de zirconia en condiciones de carga inmediata radica en que son implantes monobloque, es decir, los implantes llevan incorporado el pilar protésico por lo que no son susceptibles de colocación en técnica sumergida.

Si analizamos la evidencia científica hasta el momento, se puede concluir en base a los pocos datos disponibles que no existe un mayor riesgo de fracaso en los implantes colocados en carga inmediata en 12 semanas comparación con los que se colocan sin recibir carga¹⁰⁶. En nuestro estudio no se perdió ningún implante durante la fase de experimentación, lo que concuerda con los datos de otros estudios *in vivo* como el de Canizzaro y cols.¹⁰⁷ ya que todos nuestros implantes se colocaron en hueso cicatrizado y las mayores tasas de fracaso se encontraron en implantes postextracción.

Cuando valoramos los resultados histomorfométricos obtenidos a uno y tres meses de la colocación de los implantes, se aprecia que el parámetro BIC, presenta una mejoría

¹⁰⁶ Lindeboom JA, Frenken JW, Dubois L, Frank M, Abbink I, Kroon FH. Immediate loading versus immediate provisionalization of maxillary single-tooth replacements: a prospective randomized study with BioComp implants. *J Oral Maxillofac Surg* 2006;64:936-42.

¹⁰⁷ Cannizzaro G, Torchio C, Felice P, Leone M, Esposito M. Immediate occlusal versus non-occlusal loading of single zirconia implants. A multicentre pragmatic randomised clinical trial. *Eur J Oral Implantol* 2010;3:111-20.

estadísticamente significativa en el grupo de carga inmediata a los 3 meses en comparación con el grupo de carga no inmediata o convencional. En la revisión de la literatura no hemos encontrado trabajos que analicen los valores de BIC en implantes de zirconia en los momentos de carga inmediata o convencional. Este hecho puede ser interpretado, tal y como hemos expresado en los apartados anteriores, a la novedad que representa la zirconia en la implantología oral. Por tanto, nuestro estudio puede ser considerado pionero en relación a zirconia y carga inmediata.

En cuanto a la creación de superficies rugosas, se han demostrado en el titanio (el material *gold standard* en implantología) excelentes tasas de éxito y mayores porcentajes de BIC en comparación con superficies lisas.^{108,109} En nuestro ensayo la microtexturización conseguida por el láser de femtosegundo ha conseguido que desde su inserción los implantes de zirconia justifiquen sus buenos valores de BIC inicial.

Por tanto, solo podemos comparar nuestros resultados con los obtenidos en titanio. Así, Lee y cols.¹¹⁰ realizaron comparaciones de BIC entre los grupos que recibieron carga inmediata en comparación con los que no fueron cargados inmediatamente, a ocho semanas encontraron peores valores de BIC en el grupo que recibió la carga inmediata. Gapski y cols.¹¹¹ por su parte, no encontraron diferencias entre los implantes cargados de forma inmediata al comparar sus valores de BIC con los implantes que recibieron procedimientos de segunda fase quirúrgica, donde las cargas

¹⁰⁸ Calvo-Guirado JL, Ortiz-Ruiz AJ, Negri B, Lopez-Mari L, Rodriguez-Barba C, Schlottig F. Histological and histomorphometric evaluation of immediate implant placement on a dog model with a new implant surface treatment. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:308-15.

¹⁰⁹ Bornstein MM, Schmid B, Belser UC, Lussi A, Buser D. Early loading of non-submerged titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface. 5-year results of a prospective study in partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res* 2005;16:631-8.

¹¹⁰ Lee JY, Kim SG, Moon SY, Lim SC, Ong JL, Lee KM. A short-term study on immediate functional loading and immediate nonfunctional loading implant in dogs: histomorphometric evaluation of bone reaction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;107:519-24.

¹¹¹ Gapski R, Wang HL, Mascarenhas P, Lang NP. Critical review of immediate implant loading. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:515-27.

se aplicaban por tanto de forma retardada. Por lo que sugieren que la estabilidad primaria del implante es un factor importante en el éxito de la carga inmediata.

Por otra parte, Rismanchian y cols.¹¹² en una investigación realizada en perros, hallaron mayor porcentaje de BIC en el grupo de carga inmediata que en el de carga convencional, si bien no fue estadísticamente significativa. Berglundh y cols.¹¹³ y Godfredsen y cols.¹¹⁴ demostraron una mayor cantidad de BIC en los implantes expuestos a carga funcional lo que coincide con los resultados obtenidos en nuestro trabajo.

La diferencia que se observa entre nuestros valores y los de la mayoría de los estudios estriba en la forma de determinar el BIC, ya que nosotros medimos el BIC total o BIC III, que mide el contacto del hueso tanto en las áreas alrededor, sobre y entre las rocas del implante.¹⁰¹ Liñares y cols.¹¹⁵ publicaron un estudio en el que determinan el BIC midiendo la longitud desde el primer contacto hueso-implante dividido por la distancia total desde el hombro del implante. Este estudio realizado en minipigs a 8 semanas encuentran valores de 65.1% en carga inmediata y de 66.1% en carga diferida por lo que sus resultados no son estadísticamente significativos en este parámetro histomorfométrico.

En cuanto a la estabilidad del implante cabe reseñar que hemos empleado el método Perio-test® en vez del método de análisis de frecuencia de resonancia (RFA), ya que para poder aplicar este método es necesario colocar en el implante un aditamento

¹¹² Rismanchian M, Attar BM, Razavi SM, Shamsabad AN, Rezaei M. Dental implants immediate loading versus the standard 2-staged protocol: an experimental study in dogs. *J Oral Implantol* 2012;38:3-10.

¹¹³ Berglundh T, Abrahamsson I, Lindhe J. Bone reactions to longstanding functional load at implants: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2005;32:925-32.

¹¹⁴ Godfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants subjected to static load. A study in the dog (I). *Clin Oral Implants Res* 2001;12:1-8.

¹¹⁵ Liñares A, Mardas N, Dard M, Donos N. Effect of immediate or delayed loading following immediate placement of implants with a modified surface. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:38-46.

específico (smartpeg) que se coloca en el implante a modo de pilar protésico.¹¹⁶ Los implantes que hemos utilizado al ser monobloque no son susceptibles de otra técnica contrastada en la literatura de medición de la estabilidad, que no sea el método del Perio-test®.

En este caso, al igual que ocurre en otros apartados de nuestro trabajo, es difícil comparar nuestros resultados con estudios similares. Payer y cols.¹¹⁷ realizaron un seguimiento prospectivo de implantes de zirconia unitarios colocados en humanos. Para analizar la estabilidad de los mismo utilizaron la técnica del Perio-test® a 6, 12, 18 y 24 meses desde la colocación de los mismos, a los que se les colocó un provisional que se liberó de las cargas tanto en movimientos céntricos como excéntricos. Estos autores utilizaron implantes de zirconia sin tratar con láser su superficie, tal vez este sea el motivo de obtener valores inferiores de Perio-test® (3.81) a obtenidos por nosotros.

Si comparamos los resultados de Perio-test® en zirconia con trabajos que utilizaron implantes de titanio, se puede comprobar que Teerlinck y cols.¹¹⁸ obtuvieron una media de valores de Perio-test® de -1,74 después de 6 a 42 meses de la colocación de implantes en la mandíbula. Mientras que en otro estudio, se observó como sus valores para la estabilidad iban -6 a +2 después de 2 a 24 meses de la colocación del implante

¹¹⁶ Bogaerde LV, Pedretti G, Sennerby L, Meredith N. Immediate/Early function of Neoss implants placed in maxillas and posterior mandibles: an 18-month prospective case series study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2010;12:83-94.

¹¹⁷ Payer M, Arnetzl V, Kirmeier R, Koller M, Arnetzl G, Jakse N. Immediate provisional restoration of single-piece zirconia implants: a prospective case series - results after 24 months of clinical function. *Clin Oral Implants Res* 2012;In press.

¹¹⁸ Teerlinck J, Quirynen M, Darius P, van Steenberghe D. Periotest: an objective clinical diagnosis of bone apposition toward implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1991;6:55-61.

en la mandíbula¹¹⁹, más próximos a los nuestros (-7 PTV a los 3 meses en el grupo de carga inmediata).

Moon y cols. han demostrado en pruebas histológicas y de Perio-test[®] que los implantes colocados en la tibia de los conejos, a las 8 semanas, en todos los grupos presentaron unos valores de -4, que son más próximos a los obtenidos en nuestro estudio.¹²⁰

En cuanto a la determinación de la pérdida de hueso crestal (que fue medida desde el hombro del implante al primer contacto con el hueso). Los valores fueron muestran una menor pérdida de hueso en el grupo de carga inmediata, no siendo la diferencia con el grupo de carga convencional estadísticamente significativo. Nuestros resultados no concuerdan con el estudio de Koch y cols.¹²¹ en el que comparaban la pérdida de hueso crestal en implantes de zirconio y de titanio sumergidos y expuestos en el momento de la cicatrización. Los resultados muestran que los implantes de zirconia tienen una mayor pérdida de hueso en la zona crestal en los implantes sumergidos si los comparamos con los que estuvieron expuestos en el momento de la cicatrización. En el caso de los implantes de titanio, no obtuvieron diferencias entre un grupo y otro.

Nuestros datos, por ser muy similares en ambos grupos están en contraposición a lo publicado por Rismanchian y cols.¹¹² que en un estudio realizado en perros determinaron la pérdida de hueso marginal en implantes de titanio con y sin carga inmediata. Sus valores mostraron como hay una mayor pérdida de hueso, estadísticamente significativa, en distal de los implantes sometidos a carga inmediata.

¹¹⁹ Chavez H, Ortman LF, DeFranco RL, Medige J. Assessment of oral implant mobility. *J Prosthet Dent* 1993;70:421-6.

¹²⁰ Moon SY, Kim SG, Lim SC, Ong JL. Histologic and histomorphometric evaluation of early and immediately loaded implants in the dog mandible. *J Biomed Mater Res A* 2008;86:1122-7.

¹²¹ Koch FP, Weng D, Kramer S, Biesterfeld S, Jahn-Eimermacher A, Wagner W. Osseointegration of one-piece zirconia implants compared with a titanium implant of identical design: a histomorphometric study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:350-6.

El estudio del hueso marginal perdido presenta una mayor cantidad de evidencia científica, si bien es cierto, toda versa sobre implantes de titanio, debido a que se puede medir fácilmente por parámetros radiográficos y es por tanto susceptible de ser analizado en estudios en humanos de forma sencilla. Así, Elsyad y cols.¹²² en un estudio retrospectivo en pacientes con 2 implantes colocados en sector anterior mandibular, encontraron después de 3 años de período de seguimiento, que el grupo de carga inmediata registró una pérdida estadísticamente significativa de hueso vertical en las zonas distal y labial en comparación con el grupo de carga convencional y que no se encontraron diferencias significativas en la pérdida de hueso horizontal entre los grupos.

Annibali y cols.¹²³ por su parte, analizaron las diferencias entre cargas inmediata y convencional en la región del primer molar maxilar y mandibular en un trabajo prospectivo a un año. El análisis de los resultados mostró que la supervivencia a corto plazo y tasas de éxito del implante, así como los valores de pérdida de hueso crestal para los implantes inmediatos, tempranos y convencionales eran similares tanto en maxilar como en mandíbula.

Al comparar estos valores con los obtenidos en nuestro ensayo se puede observar que la reabsorción del hueso marginal puede estar influenciada por otros parámetros, como puede ser el diseño o el material del implante, más que por la condición de estar cargado de forma inmediata o tardía. Así, Romanos y cols.¹²⁴ concluyen que, además de los beneficios que el uso de la carga inmediata puede proporcionar al paciente, los

¹²² Elsyad MA, Al-Mahdy YF, Fouad MM. Marginal bone loss adjacent to conventional and immediate loaded two implants supporting a ball-retained mandibular overdenture: a 3-year randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:496-503.

¹²³ Annibali S, Bignozzi I, Iacovazzi L, La Monaca G, Cristalli MP. Immediate, early, and late implant placement in first-molar sites: a retrospective case series. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26:1108-22.

¹²⁴ Romanos G, Froum S, Hery C, Cho SC, Tarnow D. Survival rate of immediately vs delayed loaded implants: analysis of the current literature. *J Oral Implantol* 2010;36:315-24.

resultados a largo plazo son favorables incluso en zonas donde la calidad del hueso no es adecuada. La tasa de supervivencia global a largo plazo de los implantes en carga inmediata es similar a los resultados obtenidos con el protocolo convencional de 2 etapas; además se ha demostrado como la osteointegración de los implantes cargados inmediatamente y con función oclusal puede ser conseguida con éxito.

7. CONCLUSIONES

Una vez formulados los objetivos y analizados los resultados del presente trabajo de investigación procedemos a exponer cuáles han sido las conclusiones obtenidas:

1. Los diferentes parámetros estudiados muestran mejores resultados en los implantes de zirconia tratados con láser de femtosegundo sometidos a carga inmediata *versus* los sometidos a carga convencional.
2. Los valores de contacto hueso-implante muestran un mayor porcentaje en los implantes sometidos a carga inmediata.
3. La estabilidad conseguida por los implantes es mayor a uno y tres meses al ser sometidos a carga inmediata.
4. La reabsorción de hueso crestral periimplantario es menor a uno y tres meses en los implantes de zirconia cargados de forma inmediata.

8. ANEXO

ANEXO 1

UNIVERSIDAD
DE MURCIA
COMISIÓN DE BIOÉTICA

**INFORME DE LA COMISIÓN DE BIOÉTICA
DE LA
UNIVERSIDAD DE MURCIA**

D. Jaime Peris Riera, Profesor Titular de Universidad, Catedrático de Derecho Penal y Secretario de la Comisión de Bioética de la Universidad de Murcia

CERTIFICA:

Que D. José Luis Calvo Guirado ha presentado el proyecto "*Estudio histomorfométrico, radiológico y mecánico de la integración de implantes de zirconio modificados por láser de femtosegundo. Estudio experimental en perros American Fox Hound*" a la Comisión de Bioética de la Universidad de Murcia.

Que la Comisión de Bioética de la Universidad de Murcia analizó toda la documentación presentada, y de conformidad con lo acordado el día 14 de mayo de 2010¹, acuerda por unanimidad emitir informe favorable condicionado a que en el Proyecto se incluya la referencia y se tenga en cuenta el contenido (número de animales, forma de sacrificio... etc.) de lo dispuesto en la legislación española, en concreto el RD 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, y la Ley 32/2007 de 7 de noviembre para el cuidado de los animales en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio.

Y para que conste y tenga los efectos que correspondan, firmo esta certificación, con el visto bueno del Presidente de la Comisión, en Murcia 14 de mayo de 2010.

Vº Bº
EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN
DE BIOÉTICA DE LA UNIVERSIDAD DE
MURCIA

Fdo.: Juan María Vázquez Rojas

¹ A los efectos de lo establecido en el art. 27.5 de la Ley 30/1992 de 26 de noviembre de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del P.A.C. (B.O.E. 27-11), se advierte que el acta de la sesión citada está pendiente de aprobación

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Arnett TR. Manual Práctico de Osteoporosis y Enfermadades del Metabolismo Mireral. Madrid: Jarpyo Editores; 2004. p. 1-6.
2. Prieto S. Fisiología Humana. Madrid: McGraw-Hill; 2005. p. 981-94.
3. Yamaguchi A, Komori T, Suda T. Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa1. *Endocr Rev* 2000;21:393-411.
4. McCarthy TL, Ji C, Centrella M. Links among growth factors, hormones, and nuclear factors with essential roles in bone formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000;11:409-22.
5. Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* 1977;16:1-132.
6. Esposito M, Grusovin MG, Achille H, Coulthard P, Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: different times for loading dental implants. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;CD003878.
7. Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 1981;52:155-70.
8. Brunski JB, Moccia AF, Jr., Pollack SR, Korostoff E, Trachtenberg DI. The influence of functional use of endosseous dental implants on the tissue-implant interface. I. Histological aspects. *J Dent Res* 1979;58:1953-69.
9. Schnitman PA, Wohrle PS, Rubenstein JE. Immediate fixed interim prostheses supported by two-stage threaded implants: methodology and results. *J Oral Implantol* 1990;16:96-105.
10. Branemark PI, Engstrand P, Ohrnell LO, Grondahl K, Nilsson P, Hagberg K, Darle C, Lekholm U. Branemark Novum: a new treatment concept for rehabilitation of

the edentulous mandible. Preliminary results from a prospective clinical follow-up study. *Clin Implant Dent Relat Res* 1999;1:2-16.

11. Rocuzzo M, Aglietta M, Bunino M, Bonino L. Early loading of sandblasted and acid-etched implants: a randomized-controlled double-blind split-mouth study. Five-year results. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:148-52.

12. Cannizzaro G, Leone M. Restoration of partially edentulous patients using dental implants with a microtextured surface: a prospective comparison of delayed and immediate full occlusal loading. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:512-22.

13. Testori T, Bianchi F, Del Fabbro M, Szumukler-Moncler S, Francetti L, Weinstein RL. Immediate non-occlusal loading vs. early loading in partially edentulous patients. *Pract Proced Aesthet Dent* 2003;15:787-94.

14. Buser D, Weber HP, Bragger U, Balsiger C. Tissue integration of one-stage ITI implants: 3-year results of a longitudinal study with Hollow-Cylinder and Hollow-Screw implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1991;6:405-12.

15. Mericske-Stern R, Milani D, Mericske E, Olah A. Periotest measurements and osseointegration of mandibular ITI implants supporting overdentures. A one-year longitudinal study. *Clin Oral Implants Res* 1995;6:73-82.

16. Lekholm U, Zarb GA. Patient selection and preparation. Tissue-integrated prostheses. Chicago: Quintessence; 1985.

17. Ericsson I, Randow K, Nilner K, Petersson A. Some clinical and radiographical features of submerged and non-submerged titanium implants. A 5-year follow-up study. *Clin Oral Implants Res* 1997;8:422-6.

18. Ledermann P. Bar-prosthetic management of the edentulous mandible by means of plasma-coated implantation with titanium screws. *Dtsch Zahnarztl Z* 1979;34:907-11.

19. Branemark PI, Zarb G, Albrektsson T. Tissue-integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry. Chicago: Quintessence; 1985.

20. Schroeder A. The ITI hollow-cylinder implant. Internationales Team fur orale Implantologie. Schweiz Monatsschr Zahnmed 1985;95:876-8.
21. Babbush CA, Kent JN, Misiek DJ. Titanium plasma-sprayed (TPS) screw implants for the reconstruction of the edentulous mandible. J Oral Maxillofac Surg 1986;44:274-82.
22. Buser DA, Schroeder A, Sutter F, Lang NP. The new concept of ITI hollow-cylinder and hollow-screw implants: Part 2. Clinical aspects, indications, and early clinical results. Int J Oral Maxillofac Implants 1988;3:173-81.
23. Szmukler-Moncler S, Salama H, Reingewirtz Y, Dubruille JH. Timing of loading and effect of micromotion on bone-dental implant interface: review of experimental literature. J Biomed Mater Res 1998;43:192-203.
24. Szmukler-Moncler S, Piattelli A, Favero GA, Dubruille JH. Considerations preliminary to the application of early and immediate loading protocols in dental implantology. Clin Oral Implants Res 2000;11:12-25.
25. Piattelli A, Corigliano M, Scarano A, Costigliola G, Paolantonio M. Immediate loading of titanium plasma-sprayed implants: an histologic analysis in monkeys. J Periodontol 1998;69:321-7.
26. Romanos GE, Toh CG, Siar CH, Swaminathan D. Histologic and histomorphometric evaluation of peri-implant bone subjected to immediate loading: an experimental study with *Macaca fascicularis*. Int J Oral Maxillofac Implants 2002;17:44-51.
27. Nkenke E, Fenner M, Vairaktaris EG, Neukam FW, Radespiel-Troger M. Immediate versus delayed loading of dental implants in the maxillae of minipigs. Part II: histomorphometric analysis. Int J Oral Maxillofac Implants 2005;20:540-6.
28. Maniatopoulos C, Pilliar RM, Smith DC. Threaded versus porous-surfaced designs for implant stabilization in bone-endodontic implant model. J Biomed Mater Res 1986;20:1309-33.

29. Brunski JB. In vivo bone response to biomechanical loading at the bone/dental-implant interface. *Adv Dent Res* 1999;13:99-119.
30. Chiapasco M. Early and immediate restoration and loading of implants in completely edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:76-91.
31. Monje Gil F, Moreno García C, Serrano Gil H, Maestre O, Morillo Sánchez AJ, Mateo Arias J, Ruiz Laza L, Quiros Álvarez P, Manzano Solo de Zaldivar D. Immediate loading of implants in the maxilla. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac* 2007;29:215-27.
32. Rungcharassaeng K, Lozada JL, Kan JY, Kim JS, Campagni WV, Munoz CA. Peri-implant tissue response of immediately loaded, threaded, HA-coated implants: 1-year results. *J Prosthet Dent* 2002;87:173-81.
33. Ganeles J, Rosenberg MM, Holt RL, Reichman LH. Immediate loading of implants with fixed restorations in the completely edentulous mandible: report of 27 patients from a private practice. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16:418-26.
34. Schnitman PA, Wohrle PS, Rubenstein JE, DaSilva JD, Wang NH. Ten-year results for Branemark implants immediately loaded with fixed prostheses at implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12:495-503.
35. Grunder U, Polizzi G, Goene R, Hatano N, Henry P, Jackson WJ, Kawamura K, Kohler S, Renouard F, Rosenberg R, Triplett G, Werbitt M, Lithner B. A 3-year prospective multicenter follow-up report on the immediate and delayed-immediate placement of implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:210-6.
36. Glauser R, Ree A, Lundgren A, Gottlow J, Hammerle CH, Scharer P. Immediate occlusal loading of Branemark implants applied in various jawbone regions: a prospective, 1-year clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2001;3:204-13.
37. Nikellis I, Levi A, Nicolopoulos C. Immediate loading of 190 endosseous dental implants: a prospective observational study of 40 patient treatments with up to 2-year data. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:116-23.

-
38. Novaes AB, Jr., Marcaccini AM, Souza SL, Taba M, Jr., Grisi MF. Immediate placement of implants into periodontally infected sites in dogs: a histomorphometric study of bone-implant contact. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:391-8.
39. Novaes AB, Jr., Vidigal Junior GM, Novaes AB, Grisi MF, Polloni S, Rosa A. Immediate implants placed into infected sites: a histomorphometric study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;13:422-7.
40. Degidi M, Piattelli A. Comparative analysis study of 702 dental implants subjected to immediate functional loading and immediate nonfunctional loading to traditional healing periods with a follow-up of up to 24 months. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:99-107.
41. Uribe R, Penarrocha M, Balaguer J, Fulgueiras N. Immediate loading in oral implants. Present situation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10:143-53.
42. Attard NJ, Zarb GA. Immediate and early implant loading protocols: a literature review of clinical studies. *J Prosthet Dent* 2005;94:242-58.
43. Jaffin RA, Kumar A, Berman CL. Immediate loading of dental implants in the completely edentulous maxilla: a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:721-30.
44. De Bruyn H, Collaert B. Early loading of machined-surface Branemark implants in completely edentulous mandibles: healed bone versus fresh extraction sites. *Clin Implant Dent Relat Res* 2002;4:136-42.
45. Malo P, Rangert B, Nobre M. "All-on-Four" immediate-function concept with Branemark System implants for completely edentulous mandibles: a retrospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003;5:2-9.
46. Calandriello R, Tomatis M. Simplified treatment of the atrophic posterior maxilla via immediate/early function and tilted implants: A prospective 1-year clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005;7:1-12.

47. Horiuchi K, Uchida H, Yamamoto K, Sugimura M. Immediate loading of Branemark system implants following placement in edentulous patients: a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000;15:824-30.
48. Malo P, Rangert B, Dvarsater L. Immediate function of Branemark implants in the esthetic zone: a retrospective clinical study with 6 months to 4 years of follow-up. *Clin Implant Dent Relat Res* 2000;2:138-46.
49. Piconi C, Maccauro G, Muratori F, Brach Del Prever E. Alumina and zirconia ceramics in joint replacements. *J Appl Biomater Biomech* 2003;1:19-32.
50. Sennerby L, Dasmah A, Larsson B, Iverhed M. Bone tissue responses to surface-modified zirconia implants: A histomorphometric and removal torque study in the rabbit. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005;7:13-20.
51. Oliva J, Oliva X, Oliva JD. Five-year success rate of 831 consecutively placed Zirconia dental implants in humans: a comparison of three different rough surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25:336-44.
52. Christel PS. Zirconia: the second generation of ceramics for total hip replacement. *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst* 1989;49:170-7.
53. Covacci V, Bruzzese N, Maccauro G, Andreassi C, Ricci GA, Piconi C, Marmo E, Burger W, Cittadini A. In vitro evaluation of the mutagenic and carcinogenic power of high purity zirconia ceramic. *Biomaterials* 1999;20:371-6.
54. Piconi C, Maccauro G. Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials* 1999;20:1-25.
55. Akagawa Y, Hosokawa R, Sato Y, Kamayama K. Comparison between freestanding and tooth-connected partially stabilized zirconia implants after two years' function in monkeys: a clinical and histologic study. *J Prosthet Dent* 1998;80:551-8.
56. Stejskal J, Stejskal VD. The role of metals in autoimmunity and the link to neuroendocrinology. *Neuro Endocrinol Lett* 1999;20:351-64.
57. Lalor PA, Revell PA, Gray AB, Wright S, Railton GT, Freeman MA. Sensitivity to titanium. A cause of implant failure? *J Bone Joint Surg Br* 1991;73:25-8.

-
58. Valentine-Thon E, Schiwara HW. Validity of MELISA for metal sensitivity testing. *Neuro Endocrinol Lett* 2003;24:57-64.
59. Muller K, Valentine-Thon E. Hypersensitivity to titanium: clinical and laboratory evidence. *Neuro Endocrinol Lett* 2006;27:31-5.
60. Sicilia A, Cuesta S, Coma G, Arregui I, Guisasola C, Ruiz E, Maestro A. Titanium allergy in dental implant patients: a clinical study on 1500 consecutive patients. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:823-35.
61. Egusa H, Ko N, Shimazu T, Yatani H. Suspected association of an allergic reaction with titanium dental implants: a clinical report. *J Prosthet Dent* 2008;100:344-7.
62. Kohal RJ, Klaus G. A zirconia implant-crown system: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2004;24:147-53.
63. Cordioli G, Majzoub Z, Piattelli A, Scarano A. Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: an experimental study in the rabbit tibia. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000;15:668-74.
64. Gaggl A, Schultes G, Muller WD, Karcher H. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces--a comparative study. *Biomaterials* 2000;21:1067-73.
65. Vanzillotta PS, Sader MS, Bastos IN, Soares Gde A. Improvement of in vitro titanium bioactivity by three different surface treatments. *Dent Mater* 2006;22:275-82.
66. Kurella A, Dahotre NB. Review paper: surface modification for bioimplants: the role of laser surface engineering. *J Biomater Appl* 2005;20:5-50.
67. Daniel C, Full J, Gonzalez L, Lupulescu C, Manz J, Merli A, Vajda S, Woste L. Deciphering the reaction dynamics underlying optimal control laser fields. *Science* 2003;299:536-9.
68. Stuart BC, Feit MD, Rubenchik AM, Shore BW, Perry MD. Laser-induced damage in dielectrics with nanosecond to subpicosecond pulses. *Phys Rev Lett* 1995;74:2248-51.

69. Perez D, Lewis LJ. Ablation of solids under femtosecond laser pulses. *Phys Rev Lett* 2002;89:255504.
70. Stuart BC, Feit MD, Herman S, Rubenchik AM, Shore BW, Perry MD. Nanosecond-to-femtosecond laser-induced breakdown in dielectrics. *Phys Rev B Condens Matter* 1996;53:1749-61.
71. Delgado-Ruiz RA, Calvo-Guirado JL, Moreno P, Guardia J, Gomez-Moreno G, Mate-Sanchez JE, Ramirez-Fernandez P, Chiva F. Femtosecond laser microstructuring of zirconia dental implants. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2011;96:91-100.
72. Delgado-Ruiz RA. Valoración de la adherencia celular sobre implantes de zirconio modificados por láser de femtosegundo. Estudio experimental in vitro. Murcia: Universidad de Murcia; 2009.
73. Albrektsson T, Sennerby L, Wennerberg A. State of the art of oral implants. *Periodontol 2000* 2008;47:15-26.
74. Dierens M, Vandeweghe S, Kisch J, Nilner K, De Bruyn H. Long-term follow-up of turned single implants placed in periodontally healthy patients after 16-22 years: radiographic and peri-implant outcome. *Clin Oral Implants Res* 2011;In press.
75. Malo P, de Araujo Nobre M, Lopes A, Moss SM, Molina GJ. A longitudinal study of the survival of All-on-4 implants in the mandible with up to 10 years of follow-up. *J Am Dent Assoc* 2011;142:310-20.
76. Jacobs R, Pittayapat P, van Steenberghe D, De Mars G, Gijbels F, Van Der Donck A, Li L, Liang X, Van Assche N, Quirynen M, Naert I. A split-mouth comparative study up to 16 years of two screw-shaped titanium implant systems. *J Clin Periodontol* 2010;37:1119-27.
77. Javed F, Al-Hezaimi K, Almas K, Romanos GE. Is Titanium Sensitivity Associated with Allergic Reactions in Patients with Dental Implants? A Systematic Review. *Clin Implant Dent Relat Res* 2011;In press.

-
78. Siddiqi A, Payne AG, De Silva RK, Duncan WJ. Titanium allergy: could it affect dental implant integration? *Clin Oral Implants Res* 2011;22:673-80.
79. Kan JY, Rungcharassaeng K, Lozada JL, Zimmerman G. Facial gingival tissue stability following immediate placement and provisionalization of maxillary anterior single implants: a 2- to 8-year follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26:179-87.
80. Nisapakultorn K, Suphanantachat S, Silkosessak O, Rattanamongkolgul S. Factors affecting soft tissue level around anterior maxillary single-tooth implants. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:662-70.
81. Verdugo F, Simonian K, Nowzari H. Periodontal biotype influence on the volume maintenance of onlay grafts. *J Periodontol* 2009;80:816-23.
82. Deprich R, Zipprich H, Ommerborn M, Naujoks C, Wiesmann HP, Kiattavorncharoen S, Lauer HC, Meyer U, Kubler NR, Handschel J. Osseointegration of zirconia implants compared with titanium: an in vivo study. *Head Face Med* 2008;4:30.
83. Warashina H, Sakano S, Kitamura S, Yamauchi KI, Yamaguchi J, Ishiguro N, Hasegawa Y. Biological reaction to alumina, zirconia, titanium and polyethylene particles implanted onto murine calvaria. *Biomaterials* 2003;24:3655-61.
84. Manicone PF, Rossi Iommetti P, Raffaelli L. An overview of zirconia ceramics: basic properties and clinical applications. *J Dent* 2007;35:819-26.
85. Hisbergues M, Vendeville S, Vendeville P. Zirconia: Established facts and perspectives for a biomaterial in dental implantology. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;88:519-29.
86. Quan R, Yang D, Wu X, Wang H, Miao X, Li W. In vitro and in vivo biocompatibility of graded hydroxyapatite-zirconia composite bioceramic. *J Mater Sci Mater Med* 2008;19:183-7.
87. Rimondini L, Cerroni L, Carrassi A, Torricelli P. Bacterial colonization of zirconia ceramic surfaces: an in vitro and in vivo study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:793-8.

88. Scarano A, Piattelli M, Caputi S, Favero GA, Piattelli A. Bacterial adhesion on commercially pure titanium and zirconium oxide disks: an in vivo human study. *J Periodontol* 2004;75:292-6.
89. Deville S, Chevalier J, Gremillard L. Influence of surface finish and residual stresses on the ageing sensitivity of biomedical grade zirconia. *Biomaterials* 2006;27:2186-92.
90. Al-Hamdan K, Al-Moaber SH, Junker R, Jansen JA. Effect of implant surface properties on peri-implant bone healing: a histological and histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:399-405.
91. Sammons RL, Lumbikanonda N, Gross M, Cantzler P. Comparison of osteoblast spreading on microstructured dental implant surfaces and cell behaviour in an explant model of osseointegration. A scanning electron microscopic study. *Clin Oral Implants Res* 2005;16:657-66.
92. ter Brugge PJ, Wolke JG, Jansen JA. Effect of calcium phosphate coating crystallinity and implant surface roughness on differentiation of rat bone marrow cells. *J Biomed Mater Res* 2002;60:70-8.
93. Duncan AC, Weisbuch F, Rouais F, Lazare S, Baquey C. Laser microfabricated model surfaces for controlled cell growth. *Biosens Bioelectron* 2002;17:413-26.
94. Vorobyev AY, Guo C. Femtosecond laser nanostructuring of metals. *Opt Express* 2006;14:2164-9.
95. Arisan V, Ozdemir T, Anil A, Jansen JA, Ozer K. Injectable calcium phosphate cement as a bone-graft material around peri-implant dehiscence defects: a dog study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23:1053-62.
96. Wilson DV, Evans AT, Carpenter RA, Mullineaux DR. The effect of four anesthetic protocols on splenic size in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2004;31:102-8.
97. Kojima K, Nishimura R, Mutoh T, Hong SH, Mochizuki M, Sasaki N. Effects of medetomidine-midazolam, acepromazine-butorphanol, and midazolam-butorphanol on

induction dose of thiopental and propofol and on cardiopulmonary changes in dogs. *Am J Vet Res* 2002;63:1671-9.

98. Aparicio C, Lang NP, Rangert B. Validity and clinical significance of biomechanical testing of implant/bone interface. *Clin Oral Implants Res* 2006;17:2-7.

99. Bancroft GN, Sikavitsas VI, van den Dolder J, Sheffield TL, Ambrose CG, Jansen JA, Mikos AG. Fluid flow increases mineralized matrix deposition in 3D perfusion culture of marrow stromal osteoblasts in a dose-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:12600-5.

100. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982;11:318-26.

101. Calvo-Guirado JL, Aguilar-Salvatierra A, Guardia J, Delgado-Ruiz RA, Ramírez-Fernandez MP, Pérez C, Gomez-Moreno G. Evaluation of periimplant bone neoformation using different scanning electron microscope methods for measuring BIC. A dog study. *J Clin Exp Dent* 2011;4:8-13.

102. Andreiotelli M, Wenz HJ, Kohal RJ. Are ceramic implants a viable alternative to titanium implants? A systematic literature review. *Clin Oral Implants Res* 2009;20:32-47.

103. Lima EM, Koo H, Vacca Smith AM, Rosalen PL, Del Bel Cury AA. Adsorption of salivary and serum proteins, and bacterial adherence on titanium and zirconia ceramic surfaces. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:780-5.

104. Manicone PF, Rossi Iommetti P, Raffaelli L, Paolantonio M, Rossi G, Berardi D, Perfetti G. Biological considerations on the use of zirconia for dental devices. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2007;20:9-12.

105. Akagawa Y, Ichikawa Y, Nikai H, Tsuru H. Interface histology of unloaded and early loaded partially stabilized zirconia endosseous implant in initial bone healing. *J Prosthet Dent* 1993;69:599-604.

106. Lindeboom JA, Frenken JW, Dubois L, Frank M, Abbink I, Kroon FH. Immediate loading versus immediate provisionalization of maxillary single-tooth replacements: a

prospective randomized study with BioComp implants. *J Oral Maxillofac Surg* 2006;64:936-42.

107. Cannizzaro G, Torchio C, Felice P, Leone M, Esposito M. Immediate occlusal versus non-occlusal loading of single zirconia implants. A multicentre pragmatic randomised clinical trial. *Eur J Oral Implantol* 2010;3:111-20.

108. Calvo-Guirado JL, Ortiz-Ruiz AJ, Negri B, Lopez-Mari L, Rodriguez-Barba C, Schlottig F. Histological and histomorphometric evaluation of immediate implant placement on a dog model with a new implant surface treatment. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:308-15.

109. Bornstein MM, Schmid B, Belser UC, Lussi A, Buser D. Early loading of non-submerged titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface. 5-year results of a prospective study in partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res* 2005;16:631-8.

110. Lee JY, Kim SG, Moon SY, Lim SC, Ong JL, Lee KM. A short-term study on immediate functional loading and immediate nonfunctional loading implant in dogs: histomorphometric evaluation of bone reaction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;107:519-24.

111. Gapski R, Wang HL, Mascarenhas P, Lang NP. Critical review of immediate implant loading. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:515-27.

112. Rismanchian M, Attar BM, Razavi SM, Shamsabad AN, Rezaei M. Dental implants immediate loading versus the standard 2-staged protocol: an experimental study in dogs. *J Oral Implantol* 2012;38:3-10.

113. Berglundh T, Abrahamsson I, Lindhe J. Bone reactions to longstanding functional load at implants: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2005;32:925-32.

114. Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants subjected to static load. A study in the dog (I). *Clin Oral Implants Res* 2001;12:1-8.

-
115. Linares A, Mardas N, Dard M, Donos N. Effect of immediate or delayed loading following immediate placement of implants with a modified surface. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:38-46.
116. Bogaerde LV, Pedretti G, Sennerby L, Meredith N. Immediate/Early function of Neoss implants placed in maxillas and posterior mandibles: an 18-month prospective case series study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2010;12:83-94.
117. Payer M, Arnetzl V, Kirmeier R, Koller M, Arnetzl G, Jakse N. Immediate provisional restoration of single-piece zirconia implants: a prospective case series - results after 24 months of clinical function. *Clin Oral Implants Res* 2012;In press.
118. Teerlinck J, Quirynen M, Darius P, van Steenberghe D. Periotest: an objective clinical diagnosis of bone apposition toward implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1991;6:55-61.
119. Chavez H, Ortman LF, DeFranco RL, Medige J. Assessment of oral implant mobility. *J Prosthet Dent* 1993;70:421-6.
120. Moon SY, Kim SG, Lim SC, Ong JL. Histologic and histomorphometric evaluation of early and immediately loaded implants in the dog mandible. *J Biomed Mater Res A* 2008;86:1122-7.
121. Koch FP, Weng D, Kramer S, Biesterfeld S, Jahn-Eimermacher A, Wagner W. Osseointegration of one-piece zirconia implants compared with a titanium implant of identical design: a histomorphometric study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:350-6.
122. Elsyad MA, Al-Mahdy YF, Fouad MM. Marginal bone loss adjacent to conventional and immediate loaded two implants supporting a ball-retained mandibular overdenture: a 3-year randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:496-503.
123. Annibali S, Bignozzi I, Iacovazzi L, La Monaca G, Cristalli MP. Immediate, early, and late implant placement in first-molar sites: a retrospective case series. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26:1108-22.

124. Romanos G, Froum S, Hery C, Cho SC, Tarnow D. Survival rate of immediately vs delayed loaded implants: analysis of the current literature. *J Oral Implantol* 2010;36:315-24.

HISTOMORPHOMETRIC, RADIOLOGICAL AND MECHANICAL STUDY OF ZIRCONIUM MODIFIED BY LASER IN IMMEDIATE LOADED VERSUS NO CHARGE IMMEDIATELY. EXPERIMENTAL STUDY IN AMERICAN FOX HOUND DOGS. THREE-MONTHS STUDY

Introduction

In the last years, high strength ceramics have become attractive as new materials for dental implants. Zirconia is an inert material, exhibits minimal ion release compared with metallic implants and exhibit excellent physical properties. Zirconia partially stabilized with yttrium (Y-TZP) appears to offer advantages over aluminum oxide due to its high tensile strength and high resistance to bending.

Despite the widespread use worldwide and the proven long term reliability of titanium dental implants in the literature, there are some disadvantages of these ones, both short and long term: titanium sensitivity and the possibility of allergy and the occurrence of gingival recession or gingival biotypes thin translucency can leave the black or gray titanium exposed to view in the maxillary esthetic zone with consequent aesthetic defects.

Delgado *et al.* investigations have shown as microtexturización by femtosecond laser in the form of parallel grooves on the neck and body of the implant getting the best results in tests *in vitro*. After this, they formulated the objective of this study, which has been to study the zirconia implants behavior treated with microgrooves on the neck and body on immediate vs. delayed.

Objectives

The aim of this study was to establish useful guidelines for assessing the performance of zirconia implants under immediate loading compared with delayed loading in dental practice, in American Fox Hound dogs, through the following objectives:

1. Quantify the bone-implant contact (BIC), bone formation, bone growth in different types of loading, by histological and histomorphometric analysis.
2. Quantify crestal bone resorption in the immediate implant loading in comparison with those not receiving implants load to be placed.
3. Quantify the strength of the integration and the mechanical resistance thereof, by Perio-test[®] to 1 and 3 months.

Material and methods

In the pilot phase were used six dogs American Fox Hound males, aged between 1 and 3 years and weighing from 18-20 Kg. All dogs had their jaws intact, fully erupted permanent dentition, without any occlusal trauma or viral infections or fungal infections. The specimens showed good health at the systemic level. The experimental study was conducted at the facilities of the Animal at the University of Murcia, Spain, which was carried out by animal care technicians assistants.

We used 48 implants zirconium dioxide White Sky[®] (Medical Bredent GMBH & Co. KG, Senden, Germany) 4 mm in diameter and 10mm in length, which is applied a femtosecond laser treatment of neck and body.

Study Design

-Phase 1 procedures.

Under general anesthesia, and for the purpose of subsequent placement of dental implants, tooth extractions were made: premolars P2, P3, P4 and M1 molar in the mandible bilaterally. The alveolus were filled with a collagen sponge to promote healing of the socket, and proceeded to simple absorbable suture points (3-0 TB-15. Ref 55346. Lorca Marin SA, Murcia, Spain), to get the gum completely covered the defect.

-Phase 2 procedures

This phase consisted of the placement of dental implants zirconia and the placement of acrylic splinted restorations for immediate loading in the right or left lower jaw with the program randomly www.randomization.com

First, we cleaned oral mucosa with gauze soaked in chlorhexidine digluconate 0,12% solution. We proceeded to the local anesthetic into the buccal and lingual gingiva and an incision was made supracrestal from C to M2, peeling a full thickness flap which then dental implants were inserted. It started with the technique recommended by Medical Bredent with copious irrigation with saline, increasing progressively the diameter of the implant bed with drill: 3mm, 4mm and 3.5 mm and final diameter.

Dental implants were completely treated White Sky[®] femtosecond laser (zirconia implant 4mm diameter x 10mm length). We used 48 implants divided in two groups:

- 24 implant to immediate loading.
- 24 without charge during the period of osseointegration.

In each jaw 8 implants were placed (4 in each hemi-mandible) to the bone crest level, randomly distributed in the region between P1 and mandibular M2. All implants were inserted with a torque of 35 Newton (N).

-Phase 3 procedure

The third phase took place at 30 and 90 days. We made the final radiograph, recording the values of stability and removal of samples for histological and histomorphometric analysis.

The jaws into formaldehyde were sent to the Department of Pathology, Cologne (Germany) for carrying out the histological analysis at Prof. Daniel Rothamel laboratory. Biopsies were processed following the method described by Donath and Breuner.

Histomorphometric parameters

Bone-to-implant contact (BIC) corresponds to the percentage of integration or bone contact ratio, defined as the bone in direct contact with the implant in relation to the total perimeter of the implant.

There are three different ways to measure BIC: 1) BIC I is the amount of mineralized bone in direct contact with the surface of the implant through the entire area of the thread; 2) BIC II measures bone contact with the implant along a line from vertex to vertex of implant threads, this measure is therefore considered the measurement of contact between threads and tends to measure the old bone and some new bone; 3) BIC III measures both in the areas around, above and between the rocks.

Histomorphometry was performed with a video camera (Sony 3CCD, Berlin, Germany) with 70x. The images were digitized (Axiophot-System, Zeiss) and fixed and measured benchmarks.

Statistical Analysis

All data were expressed as mean \pm standard error of the mean. To analyze the differences between the different variables we applied the t of Student test for paired samples or independent according averaged. Calculations were performed with the SPSS program IBM 20 (Chicago, Illinois, USA), licensed from the University of Murcia (Spain). The statistical significance level was set at $P < 0.05$.

The data analyzed were the crestal bone resorption, bone-implant contact (BIC) and implant stability measured by using the technique of Perio-test.

Results

The results obtained in the different histomorphometric parameters are reflected first and third month of implants placement. The experimental sample is considered in the study of 6 American Fox Hound dogs. There was statistically significant increase in BIC parameters at 1 and 3 months for samples immediately loaded implants compared with the conventional load, and implant stability after 3 months in immediate loading compared to delayed.

BIC

We obtained a BIC percentage increase implant into the bone. BIC values at first month were 39.68% of implants immediately loaded group and 32.18% in no-load implants immediately. At 3 months, the values increased to 64.94% in

the immediate loading and 58.83% in the conventionally loaded implants. These results show a statistically significant increase at 1 and 3 months in immediate loading. Thus, we can state the correct attachment of bone to the implant as seen in the values obtained by electron microscopy and optics.

Crestal bone resorption

The distance from the upper neck implant to bone crest was relatively stable in both groups. At first month there was more lost in conventional loading group (0.6 ± 0.28 mm) compared with immediate loading group (0.5 ± 0.3 mm). After 3 months there was greater stability in both groups: lower in immediate loading group (0.5 ± 0.26 mm) compared to delayed loading group (0.56 ± 0.31 mm).

Implant stability

Implant stability was determined by Perio-test[®] method. Values were determined in 2 times: 1) implant placement (allowing us to achieve primary stability values), 2) a second stage which took place at the time of slaughter thereof, per one month and three months depending on the group in which the implant was located. Values are expressed in the units used by Perio-test[®] (PTV values).

We obtained initial values of -3.5 PTV at the time of surgery to place implants. These stability values were the first month to -4 in immediate loading, and -3 in the afterloading group. At 3 months implants conventionally loaded, the values of -5, whereas were immediately loaded -7. This means that at 3 months the difference is statistically significant.

Discussion

Based on earlier work by Delgado et al. we have provided the basis for our research, which modified the surface of the zirconia implant femtosecond laser to perform grooves on its surface. There is evidence in the literature that shows how the embodiment of microgrooves allows better movement of the cells on a surface. Delgado et al. demonstrated in an in vitro model as treated surfaces by femtosecond laser in 30 μ m wide grooves guide and stimulate cell growth, and increase the adhesion of osteoblasts inside.

After this we proceeded to conduct a trial in an experimental model in vivo to analyze the behavior of these implants to be in the oral environment, and comparing its performance when subjected to load immediately after their placement against others not receive immediate loading. The importance of evaluating the behavior of the implants under load zirconia immediate implants is that they are standing, ie, the implants are fitted with the prosthetic abutment therefore not susceptible submerged placement technique. Looking at the evidence published so far, it can be concluded based on the limited data available that there is an increased risk of failure of implants placed in immediate loading in 12 weeks compared to those who are placed without receiving cargo.

If we value the histomorphometric results obtained at one and three months after implant placement, shows that the BIC parameter, shows a statistically significant improvement in the group of immediate loading compared to the load group not immediate or conventional. The literature review found no studies analyzing the values of BIC zirconia implants in moments of immediate or conventional load. This may be because, as we have stated in previous

sections by the novelty of the zirconia in oral implantology. Therefore our study is the pioneer in relation to zirconia and immediate loading. With regard to implant stability worth noting that in our research we used the Perio-test[®] method instead of using the method of resonance frequency analysis (RFA), as to apply this method must be placed in a specific implant fixture (Smartpeg) placed in the implant as a prosthetic abutment. In this case, as in much of the design of this trial is difficult to compare our results with similar studies. Payer et al. saw the evolution in a prospective follow-up unit zirconia implants placed in humans. To analyze the stability of the same technique used Perio-test[®] to six, twelve, eighteen and twenty four months after placement thereof, to which was placed a provisional was released from the cargo movements both central and eccentric. These authors used untreated zirconia implants surface laser, maybe this is the reason for obtaining lower values of Perio-test[®] when compared with ours. With regard to the determination of crestal bone loss, which was measured from the implant shoulder to first bone contact, our determination was made as well as all our implants were placed at the crest. The values were lower bone loss in the immediate loading group, not being the difference with the conventional loading group statistically significant. These findings disagree with the study of Koch et al. comparing the crestal bone loss in implants of zirconium and titanium submerged and exposed at the time of healing. The results shown in the implants of zirconia are of a greater loss of bone in the crestal submerged implants compared to those who were exposed at the time of healing. In the case of titanium implants did not differ between one group and another. Our results to be very similar in both groups are in opposition as published by

Rismanchian et al., which in a study in dogs determined the marginal bone loss in titanium implants with and without immediate loading. Their values show as there is greater bone loss, statistically significant, distal implants subjected to immediate loading.

Conclusion

1. The different parameters studied showed better results in zirconia implants treated with femtosecond laser subjected to immediate loading versus those undergoing conventional load.
2. The values of bone-implant contact showed a greater percentage of immediate implant loading.
3. The stability achieved by the implants is greater than one and three months when subjected to immediate loading.
4. The peri-implant crestal bone resorption is less than one and three months in zirconia implants immediately loaded.