



UNIVERSIDAD DE MURCIA
DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA,
ESTOMATOLOGÍA, RADIOLOGÍA
Y MEDICINA FÍSICA

Estudio Experimental de la Estabilidad de Micro
Implantes e Influencia de los Metales Pesados
sobre los Sistemas Antioxidantes (SOD-1 y
Glutati3n) en Portadoras de Amalgamas
Dentales: Protocolos con Filtros

D^a María Eugenia Cabaña Muñoz

2015

UNIVERSIDAD DE
MURCIA



DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA,
ESTOMATOLOGÍA, RADIOLOGÍA Y
MEDICINA FÍSICA

Tesis doctoral

“ Estudio experimental de la estabilidad de microimplantes e influencia de los metales pesados sobre los sistemas antioxidantes (Sod-1 y Glutación) en portadoras de amalgamas dentales: Protocolos con filtros.”

Directores

Dr. D. Luis Alberto Bravo González
Dr. D. Hee-Moon Kyung
Dr. D. José Joaquín Merino Martín

Doctorando

María Eugenia Cabaña Muñoz



D. Ricardo Elías Oñate Sánchez, Profesor Titular de Universidad del Área de Estomatología y Director del Departamento* **DERMATOLOGÍA, ESTOMATOLOGÍA, RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA**, INFORMA:

Que una vez evaluado, de conformidad con el procedimiento establecido en el artículo 21 del Reglamento de doctorado de la Universidad de Murcia, el expediente completo de la tesis doctoral titulada "Estudio experimental de la estabilidad de microimplantes e influencia de los metales pesados sobre los sistemas antioxidantes (SOD-1 y Glutathion) en portadoras de amalgamas dentales: protocolos con filtros", realizada por D^a. María Eugenia Cabaña Muñoz, bajo la inmediata dirección y supervisión de los doctores D. Luis Alberto Bravo González, D. Hee-Moon Kyung y D. José Joaquín Merino Martín, este Consejo de Departamento, en sesión celebrada en fecha 8/10/2015, ha dado su autorización para su presentación ante la Comisión General de Doctorado.

Murcia, 8 de octubre de 2015



Doctorando: D^a. MARÍA EUGENIA CABAÑA MUÑOZ

**Informe del Departamento para alumnos del RD 778/1998.*

**Informe de La Comisión Académica del Programa para alumnos del RD 56/2005 y RD 1393/2007.*

RESUMEN

Este trabajo tiene como objetivo analizar la estabilidad de los Microimplantes bajo carga inmediata, a través de parámetros biomecánicos e histológicos (PIT: Torque máximo de Inserción, PRT: Torque máximo de Remoción y BIC: Superficie de contacto hueso-implante) en modelo canino. A los perros se les colocó un total de 144 Microimplantes en boca durante 16 semanas. Los perros se alimentaron con dietas de diferente consistencia física (dura/blanda), a partir de los 5 meses de edad hasta el final del experimento, de forma que aquellos perros alimentados con dieta dura (HD) mostraban un incremento en el porcentaje del PIT, frente a los que recibían dieta blanda (SD). Por el contrario, los porcentajes de BIC y PRT aumentaban en la dieta blanda (SD). El análisis histomorfométrico reflejó diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos experimentales. Nuestros resultados sugieren que los impactos masticatorios no solo influyen en el hueso *per se*, sino también en la estabilidad de los Microimplantes.

Las ventajas que derivan de los Microimplantes han incrementado los tratamientos de ortodoncia y multidisciplinarios en pacientes adultos. A parte de las aleaciones que conlleva la ortodoncia, éstas, podrían estar combinadas con prótesis, implantes y o amalgamas dentales. En la combinación de estas aleaciones, destaca por su toxicidad la amalgama dental, en comparación con las demás, que pudieran inducir corrosión galvánica, donde ha de asumirse que el paciente puede sufrir algún grado de exposición a los productos de corrosión. Por ello hemos evaluado si los niveles de una plétora de metales pesados medidos en pelo por espectrometría de masas (ICP-MS en $\mu\text{g/g}$ Ba, Sb, As, Be, Bi, Cd, Pb, Pt, Ti, Th, U, Ni; especialmente en aquellos que conforman la amalgama dental: Al, Hg, Ag, Zn, Cu, Sn, Ti) pudieran incrementar significativamente en aquellas portadoras de amalgamas durante al menos diez años (media: 15 años, $n=55$) frente a controles sanos (sin amalgamas y sin implantes) ($n=13$).

Dado que el mercurio puede aumentar los niveles de radicales libres, hemos evaluado si existe una relación entre liberación de metales pesados y un posible aumento del Glutatión reducido (GSH) o de la actividad Superóxido Dismutasa-1 (SOD-1), que elimina el radical libre denominado anión superóxido. En nuestro estudio, las portadoras de amalgamas dentales (edad media: 44 años) se

clasificaron en portadoras de cuatro o menos amalgamas dentales (<4; n=27), y aquellas con más de cuatro (>4, n=15), todas ellas con amalgamas en boca durante al menos 10 años (media: 15 años).

La principal conclusión de nuestro estudio indica que los niveles de mercurio (Hg), aluminio (Al), plata (Ag) y bario (Ba) estaban significativamente incrementados en las portadoras de amalgamas dentales. Dado que el Glutati3n reducido (GSH) correlacion3 con los niveles de aluminio y la actividad (SOD-1) correlacion3 con los niveles de mercurio total, el presente estudio sugiere que existen mecanismos compensatorios end3genos protectores en portadoras durante largo tiempo de amalgamas dentales.

De acuerdo a nuestros resultados y ante la alta prevalencia de cambios de amalgamas por razones est3ticas, o como parte de tratamientos ortod3ncicos multidisciplinarios, la implementaci3n de medidas de bioseguridad minimizar3a la liberaci3n de vapor de mercurio durante su eliminaci3n. Aplicando el Principio de Precauci3n, el uso de filtros nasales de carb3n activo evitar3a, durante el proceso de eliminaci3n de la amalgama dental, el riesgo de exposici3n a metales pesados tanto para el paciente, el personal de la cl3nica como para el medio ambiente.

Palabras claves: Ortodoncia, Microimplantes, PIT-PRT-BIC, Self-Tapping, Dieta Blanda-Dieta Dura, Masticaci3n, Amalgama dental, Mercurio, Radicales Libres, SOD-1, Glutati3n, Protocolo de Seguridad, Filtros Nasales con Carb3n Activo.

ABSTRACT

The aim of this Doctoral Thesis is to study the stability of Microimplants (MIs) under an immediate load by analyzing biomechanical and histological parameters (PIT: Peak Insertion Torque; PRT: Peak Removal Torque; BIC: Bone-to- Implant Contact) in female Beagle dogs. There were 144 MIs placed in dogs' mouths for 16 weeks. The dogs were fed with diets of different consistence (hard/soft) from 5 months of age until the end of the experiment. The dogs fed with the hard diet (HD) showed an increase in the percentage PIT. Conversely, those fed with a soft diet (SD) showed an increase in the percentage of BIC and PRT in comparison to animals fed with hard diet (HD). The histomorphometric analysis reflected statistically significant differences between both experimental groups. Our results suggest that the impact of mastication not only influence the bone per se but also the stability of the MIs.

The advantages associated with the use of MIs are increasing in the orthodontic field and also allow the implementation of multidisciplinary treatments in adult patients. For that reason the alloys used in orthodontics could be combined with prosthesis, implants and/or dental amalgams. In the combination of these alloys and compared with others, dental amalgams stand out for their toxicity and, as they could induce galvanic corrosion, it must be assumed that the patient may suffer some degree of exposure to corrosion products. Therefore, we have evaluated whether levels of a plethora of heavy metals measured in hair samples by mass spectrometry (ICP-MS in μg Ba, Sb, As, Be, Bi, Cd, Pb, Pt, Ti, Th, U, Ni; especially those that make dental amalgam: Al, Hg, Ag, Zn, Cu, Sn, Ti) could increase significantly in those who had been carrying amalgam for at least ten years (mean: 15 years, $n = 55$) compared with healthy controls (without amalgams or implants $n = 13$).

Since mercury can increase levels of free radicals, we have evaluated whether there is a link between release of heavy metals and a possible increase in Glutathione (GSH; reduced form) or upregulation of activity of Superoxide Dismutase-1 (SOD-1), which eliminates the free radical called superoxide anion. In our study, the dental amalgam carriers (average age: 44 years) were classified into those who had four or fewer dental amalgams (<4 ; $n = 27$) and those with more than four (> 4 , $n = 15$). All of them had dental amalgams in their mouth for at least 10 years (average: 15 years).

The main finding of our study indicates that levels of mercury (Hg), aluminium (Al), silver (Ag) and barium (Ba) were significantly elevated in women who had dental amalgams. Since the glutathione (GSH) levels correlated with aluminium levels and the activity SOD-1 correlated with levels of total mercury, the present study suggests that there are protective endogenous compensatory mechanisms in women who had dental amalgams for a long period of time.

According to our results, facing the high prevalence of amalgam changes for cosmetic reasons or as part of multidisciplinary orthodontic treatment, the implementation of biosecurity measures would minimize the release of mercury vapour during removal. Applying the precautionary principle, the use of nasal filters of activated carbon prevent the patient, the clinic staff and the environment from the risk of exposure to heavy metals released in the amalgam removal process.

Key works: Orthodontic, Microimplants, PIT-PRT-BIC, Self-Tapping, Soft-Hard Diet, Chewing, Dental Amalgam, Mercury, Free Radicals, SOD-1, Glutathione (GSH), Safe Protocol, Nasal Filters of Active Carbon.



AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

Mi agradecimiento al Dr. Luis Alberto Bravo por permitir la presentación de esta tesis, la oportunidad de compartir mis conocimientos y experiencias clínicas en el Máster de Ortodoncia durante estos años.

Mi agradecimiento al Profesor Hee-Moon Kyung y su equipo, por confiar en mí todos estos años y compartir esas increíbles experiencias que hacen del día a día trabajar con Microimplantes.

Deseo agradecer al Dr. Joaquín Merino por contagiarme de su pasión y entusiasmo por las moléculas y por todos los consejos, enseñanzas y dedicación incondicional en esta investigación.

Al equipo del animalario en especial a Nuria por su excelente manejo de los animales.

A todos mis profesores que a través de los últimos años han depositado en mí el estímulo necesario para disfrutar del maravilloso mundo que encierra la vida.

A todo mi equipo de trabajo, Bea, Lola, Ma. Ángeles, Ana, Juani, Alicia, Ana, compañeros y Andrea por estar a mi lado.

A Javier, Nina, Lili, José, Jorge, Ana, Dani, María, Felipe, por vuestra amistad y demás trabajos relacionados con esta tesis.

A todos quienes colaboraron de una u otra manera en esta tesis, mi más profundo agradecimiento.

A María Mercedes por su compañía, cariño y excelente profesionalidad.

Finalmente, agradecer a mis padres, *Augusto y María Inés*, por brindarme lo mejor y haberme educado en la intención del buen hacer, honestidad y dedicación a los paciente, fin último de nuestra profesión, *Gracias*.



AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

Dedicado

José María María Victoria Nicolás Mariano

José María



ALGUIEN LE PREGUNTÓ UNA VEZ A ALBERT EINSTEIN:

- ¿CUÁNTOS PIES HAY EN UNA MILLA?

- "NO SÉ", RESPONDIÓ, - ¿POR QUÉ DEBO LLENAR MI CABEZA CON COSAS ASÍ, CUANDO PODRÍA BUSCARLAS EN CUALQUIER LIBRO DE REFERENCIA EN DOS MINUTOS?

ALBERT EINSTEIN



ÍNDICE

ÍNDICE

1 JUSTIFICACIÓN	1
2 INTRODUCCIÓN	9
PRESENTACIÓN Y REVISIÓN DE LA BIBLIOGRAFÍA	11
2.1 ANCLAJE ÓSEO EN ORTODONCIA	12
2.1.1 Historia del Anclaje Esqueletal	14
2.1.2 Microimplantes	20
2.1.2.1 Técnica Quirúrgica	22
2.1.2.2 Método de colocación	22
2.1.2.3 Consideraciones Pre-quirúrgicas	23
2.1.2.4 Procedimiento Quirúrgico	25
2.1.2.5 Exposición del MI	26
2.1.3 Consideraciones biomecánica de los microimplantes	27
2.1.3.1 Aplicación de la carga	27
2.1.3.2 Tipos de anclajes	27
2.1.3.3 Ventajas de los microimplantes	28
2.1.4 Desinserción	29
2.1.5 Sitios de colocación del MI	30
2.1.6 Espesor del hueso cortical y densidad ósea	31
2.1.7 Generalidades de los microimplantes	32
2.1.7.1 Estabilidad	32
2.1.7.2 Consideraciones de fallo del MI	35
2.1.8 PIT (Torque Máximo de Inserción)	36
2.1.9 PRT (Torque Máximo de Extracción)	37
2.1.10 BIC (Bone-to-Implant Contact)	38
2.1.11 Desplazamiento del MI	39
2.1.12 Análisis de Elementos Finitos	40
2.1.13 Microimplantes y su relación con el sistema óseo	41
2.1.13.1 Hueso Medular, Laminar y Compuesto	41
2.1.13.2 Modelado y Remodelado	43
2.1.13.3 Biomecánica Ósea	44

2.2 POSIBLE TOXICIDAD DE METALES PESADOS EN RELACIÓN A LOS MICROIMPLANTES	47
2.2.1 MI en tratamientos multidisciplinarios	47
2.2.2 Oxidación y corrosión galvánica de los metales	49
2.2.3 Corrosión y microimplantes	50
2.2.4 Metales pesados y su influencia sobre el organismo	54
2.2.4.1 Mercurio (Hg)	56
2.2.4.1.1 Historia del mercurio	56
2.2.4.1.2 Aplicaciones	57
2.2.4.1.3 Absorción, Acumulación y Eliminación	58
2.2.4.1.4 Mercurio en el Ámbito Odontológico	60
2.2.4.2 Mineralograma	61
2.2.4.3 Aluminio (Al)	63
2.2.4.4 Plata (Ag)	64
2.2.4.5 Bario (Ba)	64
2.2.4.6 Cobre (Cu)	64
2.2.4.7 Zinc (Zn)	65
2.2.5 Sistema de Protección Exógeno	68
2.2.6 Biomarcadores de exposición a metales pesados y sistema Antioxidantes Endógenos	68
2.2.6.1 Radicales Libres	68
2.2.6.2 Generalidades sobre Biomarcadores	70
2.2.6.3 Glutación	74
2.2.6.4 Sod-1 (Superóxido Dismutasa-1)	76
2.2.6.5 Alteraciones sobre Sistemas Antioxidantes Endógenos inducida por metales pesados	76
2.2.7 Efecto y actualidad del Hg en el Medio Ambiente	78
3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	87
4 MATERIALES Y MÉTODOS	91
4.1 OBJETIVO I a-b	93
4.1.1 Criterios de Inclusión	94
4.1.2 Grupos Experimentales	94
4.1.3 Colocación de los Microimplantes	95
4.1.3.1 Materiales	95
4.1.3.2 Método Quirúrgico	96
4.1.4 Obtención de Muestras	99

4.1.5 Análisis Estadístico	100
4.2 OBJETIVO II a	101
4.2.1 Criterio de Inclusión	101
4.2.2 Criterio de Exclusión	102
4.2.3 Tamaño Muestral	102
4.2.4 Análisis de la actividad enzimática SOD-1	103
niveles sistémicos de Glutación reducido (GSH)		
4.2.4.1 Actividad SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1).	103
4.2.4.2 Niveles de Glutación Reducido (GSH).	104
4.2.5 Análisis Estadístico	104
4.3 OBJETIVO II b	105
4.3.1 Criterios de Inclusión	106
4.3.2 Criterios de Exclusión	106
4.3.3 Material	106
4.3.3.1 Material preoperatorio	106
4.3.3.2 Material para la obturación	107
4.3.3.3 Material de pulido	107
4.3.4 Metodología	108
4.3.4.1 Examen inicial	108
4.3.4.2 Protocolo de amalgama	108
4.3.4.3 Protección del paciente	109
4.3.4.4 Protección del personal de la clínica	109
4.3.4.5 Gabinete dental	110
4.3.4.6 Técnica Acto Operatorio	110
5 RESULTADOS	115
5.1 OBJETIVO I a-b	117
5.1.1 Efectos PIT Total (SD)-(HD)	118
5.1.2 Efectos (SD) - (HD) en el PIT Maxilar	119
5.1.3 Efectos (HD) sobre Maxilar y Mandíbula	120
5.1.4 Efecto (SD) sobre Maxilar y Mandíbula	121
5.1.5 PRT Mandibular (SD) - (HD)	122
5.1.6 PRT lado derecho (SD) -(HD)	123
5.1.7 Análisis BIC Total (SD) -(HD)	125
5.1.8 BIC Maxilar y Mandibular (SD) -(HD)	126
5.1.9 BIC lado derecho (SD) -(HD)	127

5.1.10	Análisis Histomorfométrico	128
5.2	OBJETIVO II	130
5.2.1	Niveles Hg, Al, Ag y Ba	130
5.2.2	Mercurio Total	130
5.2.3	Aluminio (Al)	131
5.2.4	Plata (Ag)	132
5.2.5	Bario (Ba)	133
5.2.6	Ausencia de efecto para una plétora de metales pesados en pelo por (ICP-MS)	134
5.2.7	Biomarcadores SOD-1 y GSH sistémicos	136
5.2.7.1	Elevada actividad de la SOD-1	136
5.2.7.2	Altos niveles de GSH	137
5.2.8	Zinc (Zn)	138
5.2.9	Correlación (SOD-1/Hg) (GSH/Al)	139
6	DISCUSIÓN	141
6.1	OBJETIVO I a-b	143
6.2	OBJETIVO II a-b	162
7	CONCLUSIONES	181
8	BIBLIOGRAFÍA	185
9	ANEXOS	207
9.1	Figuras	209
9.2	Tablas	210
9.3	Abreviaturas	211
9.4	Glosario	213
9.5	Publicaciones Relacionadas	214



JUSTIFICACIÓN

1 JUSTIFICACIÓN

En la evolución histórica de la ortodoncia es posible establecer que cada período fija los límites de la especialidad, límites que se van ampliando y modificando con el avance del conocimiento, la tecnología y el progreso en la práctica clínica. Tal es así que el avance científico y tecnológico de estos últimos años muestra una aceleración en recursos ortodóncicos. Estos avances han supuesto la integración de la Ortodoncia con las demás ramas de la Odontología.

El éxito de la oseointegración de los implantes dentales de titanio, y todo lo que se deriva de ello, ha influido de una manera decisiva en las distintas disciplinas que la conforman y ha supuesto un profundo cambio de paradigma en el control de anclaje en ortodoncia conseguido a través del uso de los Microimplantes de aleación de titanio (MIA-Anclaje con Microimplantes). Dentro de las ventajas más destacables en la utilización de Microimplantes es el control tridimensional del Plano Oclusal, con todas las excelentes consecuencias que de ello se deriva. Estas ventajas permiten abordar dificultades oclusales que anteriormente a través de la mecánica tradicional limitaban a una dificultosa o nula solución, como es la disminución de tratamientos ortodóncicos quirúrgicos, tratamiento de oligodoncias y síndromes complejos. Sin embargo es en los tratamientos multidisciplinarios y desórdenes témporo-mandibulares donde rutinariamente y además de utilizar los MIs se regularizan planos, se evitan tallados y se corrigen inclinaciones, aunque presenten sectores edéntulos, como movimientos biomecánicos difíciles.

Numerosos estudios científicos y clínicos avalan la biomecánica de su utilización como un instrumento accesible y efectivo, que ha logrado superar los problemas del control del anclaje y la colaboración del paciente. Por ello el estudio de los Microimplantes se aborda desde múltiples campos, producto de su versatilidad en el uso. Nuestro estudio sobre la estabilidad de su utilización bajo carga inmediata combinada con la influencia de la masticación aún es poco estudiada, por este motivo nuestro interés de plantear el objetivo I de este estudio experimental.

Por otro lado, el crecimiento exponencial en las últimas décadas de enfermedades emergentes de difícil diagnóstico y de etiología incierta, y ante la preocupación y sensibilidad con la toxicidad que podrían producir algunos materiales en odontología que utilizamos a diario, nos lleva a profundizar en la literatura científica sobre estos temas relacionados. Esto tiene su importancia, debido a la sinergia de pequeñas dosis de algunos pesticidas, productos químicos y diversos contaminantes de nuestro entorno que producen un efecto acumulativo, que exponen al ser humano a varios frentes de estimulación tóxica. Las aleaciones que los dentistas utilizamos en boca no dejan de ser una carga más para nuestro organismo.

En un intento de investigar la relación entre las diferentes combinaciones de metales presentes en boca (amalgamas dentales y/o implantes, coronas metal-cerámica de cromo cobalto), que podrían provocar procesos de corrosión galvánica, el disponer de una técnica analítica como la Espectrometría de masas (ICP-MS) podría servir como técnica analítica validable y fiable para la detección de metales pesados en pelo en pacientes portadoras de amalgamas dentales durante largo periodo de tiempo, con objeto de determinar la posible exposición a metales pesados y su liberación de las amalgamas dentales. Adicionalmente, hemos valorados marcadores de estrés oxidativo, relacionados a la exposición a metales pesados, tales como la enzima detoxificante SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1) y los niveles de Glutación reducido (GSH), como posible marcador asociado a la excreción de metales pesados, que se conjugan con el Glutación reducido para su eliminación. De esta forma, estos marcadores podrían ser útiles para identificar y diagnosticar la posible exposición crónica a metales pesados en el ámbito toxicológico y/o médico.

Aunque durante la fabricación de materiales de ortodoncia se contemple una alta resistencia a la corrosión, esto dependerá del tiempo de permanencia en boca, temperatura, pH de saliva, acidez de las bebidas carbonatadas, placa bacteriana, combinación de metales con diferentes potenciales eletroquímicos, entre otros, que liberan en mayor o menor medida iones metálicos a la saliva, que podrían ser nocivos y alterar en forma local o sistémica a los tejidos.

Conviene destacar también que desde 1960 aproximadamente, más del 95% de los tratamientos estaban dirigidos a niños y adolescentes. A finales de la década de

1990 esa cifra había disminuido por encima del 20 % aumentando el porcentaje de tratamientos de ortodoncia en pacientes adultos. De hecho según Proffit, (2008) en los últimos años la ortodoncia se ha convertido en una rama cada vez más importante de la odontología, tendencia que es probable que se mantenga (Bravo, 2007).

Esto sugiere que durante el tratamiento en adultos, en la gran mayoría de ocasiones, estas aleaciones están combinadas con amalgamas de Hg, coronas, puentes, prótesis metálicas y/o implantes dentales, donde el metal más noble se hace electronegativo y el menos noble se disuelve. De hecho actuando juntas las propiedades iónicas, térmicas, microbiológicas y enzimáticas del medio oral pueden conducir a la degradación de los metales donde ha de asumirse que el paciente puede sufrir algún grado de exposición a los productos de corrosión de estas aleaciones. Sin embargo entre aleaciones utilizadas en odontología, destaca por su toxicidad la amalgama dental, en comparación con otras aleaciones utilizadas de manera temporal como es el material de ortodoncia, frente a la permanente liberación de mercurio que describe la comunidad científica actual sobre las amalgamas dentales.

La amalgama dental es una aleación compuesta aproximadamente en un 50% por mercurio líquido, plata, cobre, estaño y algunas veces zinc. Como el Hg es ubicuo en la naturaleza, actualmente existe la tendencia a nivel mundial a descartar su uso de las actividades humanas, pero contrariamente después de aproximadamente 180 años de su aplicación en odontología existe una gran polémica acerca de la seguridad del uso de las amalgamas dentales tanto pacientes como odontólogos y asistentes dentales que puedan estar expuestos profesionalmente.

España conforme a la última normativa, así como también la FDA (Food and Drug Administration) y la ADA (Asociación Dental Americana) apoyan la amalgama de Hg como material seguro y eficaz para las restauraciones dentales (FDA 2013 ; ADA 2013) de este modo, este tipo de relleno dentario continúa vigente con un consumo anual de 372 toneladas de mercurio para uso dental en todo el mundo, de acuerdo con el programa de las Naciones Unidas para el Medio ambiente realizado en el 2005 según la UNEP 2013.

Sin embargo en la actualidad, el mayor problema del Hg y foco de atención, se centra en las emisiones antropogénicas de éste al medio ambiente; en las formas

orgánicas, el mercurio representa un gran potencial para la bioacumulación y biomagnificación en la cadena trófica, que considera el metilmercurio en el pescado, el principal contribuyente de concentración en los seres humanos. Además, en niños esta proporción supera ampliamente los límites de seguridad siendo éste el punto de atención prevalente y prioritario ante la sólida posición de instituciones gubernamentales ante la amalgama dental.

De acuerdo a la Unión Europea, actualmente, la utilización de materiales libres de Hg se ha elevado en aproximadamente un 66% de todas las restauraciones dentales, y su uso es cada vez mayor (Servicio Biointelligence, 2012). Por tanto, el CCRSM está de acuerdo con las conclusiones de dentistas Europeos (CED,2012) donde se determina que es una importante cuestión la evaluación de los riesgos potenciales de estos materiales alternativos, considerando un trabajo en progreso por parte de la evidencia sobre toxicología, liberando así nuevamente del foco de atención, el uso de la amalgama de Hg, aunque en la Convención de Minamata el Programa de Naciones Unidas (UNEP 2013 y 2015) se acordó el plan de estrategias dirigido a reducir y desalentar el uso de las amalgamas y promover alternativas a éstas.

En la actualidad, la globalización, la expansión tecnológica y el acceso a los diferentes medios de comunicación permiten que los pacientes tengan mayor información, sin embargo la mayoría corresponden a explicaciones simplificadas de investigaciones complejas, con riesgo de contener interpretaciones erróneas a partir de sus conclusiones. Esta situación genera en la clínica diaria, tanto médica como odontológica la necesidad de orientar y ayudar a los pacientes a comprender la versión correcta de los hechos, lo que supone una sobrecarga necesaria de información actualizada que el clínico debería de asumir.

Es extensa la evidencia científica que trata la controversia sobre este material de relleno. Es difícil cuantificar y evaluar los efectos del Hg en cada persona debido a que cada individuo es particular y singular. La absorción, distribución como la detoxificación varía de una persona a otra, incluso de diferente sexo.

Esto podría explicar la toxicidad crónica al mercurio, especialmente insidiosa, porque los síntomas son variables e inespecíficos, las pruebas de diagnóstico están a

menudo mal entendidas, y los tratamientos son especulativos en el mejor de los casos (Homme y cols., 2014).

Las patologías son raramente mono-causales, generalmente son el resultado de trastornos complejos de regulación debido a múltiples causas. Los metales pesados (Hg) no son la causa de todas las enfermedades, pero pueden ser un factor determinante (o un cofactor importante) en la aparición de muchas enfermedades.

Esta visión encuentra su fundamento en lo subjetivo de nuestras apreciaciones y lo falible que pueden llegar a ser nuestros sistemas de análisis, en consonancia con Antosz (2007) que dice: “si las evidencias son certezas claras, manifestaciones indudables, ya encontramos en el término práctica basada en evidencia una dificultad: en medicina nunca es nunca, ni siempre es siempre, ya que el sustrato de trabajo es cambiante e individual y si bien, predominan en él los fenómenos y respuestas más frecuentes, de repente, sin aviso, aparecen los hechos menos frecuentes, los cuales son sólo menos probables, no extraños”.

Analizando estos aspectos consideramos la importancia del conocimiento de los efectos de los materiales empleados, que con la ayuda de la tecnología y avances en las mediciones nos pueden orientar a nivel clínico. Este conocimiento permite desarrollar un nexo de unión entre la actualización de la ciencia básica y la clínica.

Teniendo presente que dentro de las disciplinas que conforman la Odontología, la Ortodoncia es una de ellas donde el paciente puede pasar más tiempo acompañado por su especialista, , motiva al hecho que estos aspectos podrían ser conocidos, comprendidos en la manera posible y de este modo la ortodoncia junta e integrada multidisciplinariamente a las demás, conseguiría un tratamiento global y saludable para el paciente.

Teniendo presente que dentro de las disciplinas que conforman la Odontología, la Ortodoncia es una de ellas donde el paciente puede pasar más tiempo acompañado por su especialista, en consecuencia, permite que estos aspectos puedan ser conocidos y comprendidos de manera fiable y de este modo la ortodoncia junta e integrada multidisciplinariamente a las demás, conseguiría un tratamiento global y saludable para el paciente.

“Una actitud precautoria no es anticientífica, sino que plantea explícitamente

la cuestión de los criterios para las decisiones que se debieran adoptar cuando la ciencia no ofrece una respuesta unívoca, o hay conflictos entre expertos” (Papa Francisco 2015). Por esta razón, sería recomendable, adoptar el Principio de Precaución ante la incertidumbre en temas tan controvertidos como el abordado.

Por ello esta tesis finaliza con la propuesta de desarrollar un protocolo sencillo, seguro y eficaz para la eliminación de restauraciones de amalgamas con filtros nasales de carbón activo para la protección del paciente, personal de la clínica y el medio ambiente.



INTRODUCCIÓN

2 INTRODUCCIÓN

PRESENTACIÓN Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Para optar al grado de doctor, María Eugenia Cabaña-Muñoz presenta esta tesis *“ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA ESTABILIDAD DE MICROIMPLANTES E INFLUENCIA DE LOS METALES PESADOS SOBRE LOS SISTEMAS ANTIOXIDANTES (SOD-1 Y GLUTATIÓN) EN PORTADORAS DE AMALGAMAS DENTALES: PROTOCOLO CON FILTROS”*.

Nuestra estrategia para encontrar estudios e información relacionada con el tema a tratar fue realizar una búsqueda electrónica inicial en las bases de datos de MEDLINE (PubMed), Science Direct.

La revisión bibliográfica fue ampliada por búsqueda manual secundaria (libros de textos). En la bibliografía del Objetivo II referente a la información actualizada del uso de restauraciones de amalgamas dentales y protocolos descritos para su eliminación segura, debido a la controversia que suscita la posible toxicidad del mercurio en odontología, se realizó también la búsqueda en webs de asociaciones y organizaciones gubernamentales relacionadas con toxicología, biomateriales y ambientales de USA, UE, Asia y países sensibilizados con el tema planteado.

El trabajo está estructurado en 2 partes relacionadas, con diferentes objetivos y variaciones en la metodología.

El Objetivo I, es un estudio experimental sobre modelo canino en el cual se estudió la estabilidad de los microimplantes en perros Beagle (hembra) alimentados con dietas de diferente consistencia física, de forma que el estudio está preparado para ser remitido a revistas científicas internacionales indexadas.

El Objetivo II, es la evaluación de los niveles de una plétora de metales pesados medidos en pelo por espectrometría de masas (ICP-MS en $\mu\text{g/g}$ Ba, Sb, As, Be, Bi, Cd, Pb, Pt, Ti, Th, Ni); especialmente en aquellos que conforman la amalgama dental: Al, Hg, Ag, Zn, Cu, Sn, Ti).

Dado que el mercurio puede aumentar los niveles de radicales libres, hemos evaluado si existe una relación entre liberación de metales pesados y un posible



aumento del Glutati6n reducido (GSH) y de la actividad Super6xido Dismutasa (SOD-1); de acuerdo a los resultados obtenidos, se desarrolla un protocolo de seguridad con filtros nasales de carb6n activo, aplicado durante la eliminaci6n de las amalgamas dentales.

La presente tesis doctoral comienza con una extensa introducci6n general que profundiza en la tem6tica de estudio de los 2 Objetivos, posteriormente se desarrollan ambos por separado en Materiales y M6todos, Resultados y Discusi6n. Para finalizar hay una conclusi6n general de los temas tratados y las correspondientes Referencias Bibliogr6ficas, adem6s del ya rese6ado Anexo donde se adjunta, Figuras, Glosario, Abreviaturas y Publicaciones relacionadas con la presente Tesis.

Creemos que los resultados y conclusiones de estos estudios experimentales, comparativo y anal6tico van de utilidad para la pr6ctica cl6nica en un futuro cercano.

2.1 ANCLAJE 6SEO EN ORTODONCIA

La Ortodoncia naci6 por una exigencia social, el eterno deseo de tener una dentadura bonita y bien alineada. La importancia est6tica de la dentici6n es una constante hist6rica en la evoluci6n de la humanidad, aunque la cultura de cada momento ha marcado un patr6n determinado conforme a la 6poca (Canut, 1998).

La b6squeda del anclaje ideal ha sido una meta a conseguir a lo largo del tiempo en la historia de la ortodoncia, el cual se materializaba en parte, por medio de distintos autores, que presentaban en sus t6cnicas diferentes dispositivos de anclaje de acuerdo a la 6poca. El control del anclaje se considera un problema que siempre debe ser manejado de la manera m6s eficaz y superado de la manera m6s efectiva, sostenida por un principio bien conocido en la pr6ctica cotidiana del ortodoncista (Canut, 1998).

Proffit, define el anclaje como la resistencia a movimientos dentarios no deseados (Proffit, 2008).

Muchos de los efectos secundarios indeseables que se producen durante el tratamiento de ortodoncia fija, pueden ser atribuidos directamente a la falta de comprensión de la física implicada en una activación determinada (Burstone, 2006).

Para comprender su importancia, es fundamental interpretar la “Tercera Ley de Newton” que fue publicada en 1686 por Isaac NEWTON en su famosa obra “Principios Matemáticos de la Filosofía Natural”, como sucedía con los grandes pensadores de la época, el libro estaba escrito en latín. La ley fue enunciada como sigue en la obra original:

LEX III “actioni contrariam semper et aequale messe reactionem: sive corporum duorum actiones in se mutuo semper esse aequales et in partes contrarias dirigi”

Principio de acción - reacción; esta ley establece que cuando un cuerpo *A* ejerce una fuerza sobre un cuerpo *B*, éste reacciona sobre *A* con una fuerza de la misma magnitud, misma dirección y de sentido contrario (Máximo y Alveranga, 1998).

Es decir, que el ortodoncista pretende el movimiento de un diente o grupos de dientes en una dirección, a la vez que el anclaje debe permanecer estático, sin movimiento, resistiendo las fuerzas de reacción.

Por lo tanto se ha necesitado tradicionalmente el anclaje extraoral como adición al anclaje intraoral, con el objetivo de minimizar los efectos secundarios durante el tratamiento de ortodoncia. Sin embargo, con el anclaje extraoral es imprescindible la cooperación del paciente, siendo dificultoso que los pacientes puedan usar aparatología extraoral 24 horas al día durante todo el periodo de tratamiento (Sung y cols., 2006).

Debido a ello es prácticamente imposible conseguir un anclaje absoluto en el que la fuerza de reacción no produzca ningún tipo de movimiento en los dientes de soporte, especialmente con anclaje intraoral dentario.

Sin embargo, hay ocasiones en que se necesita anclaje absoluto o máximo, con



una alta “resistencia al desplazamiento” de los dientes que no queramos que se muevan.

Por ello hace más de medio siglo que ortodoncistas clínicos e investigadores han tratado de utilizar el anclaje esquelético como elemento de anclaje en ortodoncia (Sung y cols., 2006).

2.1.1 HISTORIA DEL ANCLAJE ESQUELETAL

A mediados del siglo pasado, no era común el uso de implantes dentales como anclaje en la especialidad ortodóncica, sobre todo, tras el fracaso de Gainsforth y Higley, (1945) por pretender el anclaje esquelético mediante la colocación de tornillos de Vitallium en perros. Estos pioneros aplicaron una fuerza que se extendía desde el tornillo hasta el canino superior con el objetivo de su distalización, pero entre los 16 y 31 días todos los tornillos fallaron (Gainsforth y Higley, 1945).

No hubo informes publicados de intentos de utilizar implantes endo-óseos para mover los dientes hasta la primera publicación del caso clínico de Linkow, (1969), el cual utilizó miniplacas inferiores en un paciente de Clase II dentaria como control, frente a los efectos adversos de los elásticos durante la retracción de los incisivos superiores (Linkow, 1969).

El éxito de la óseo-integración (Bränemark y cols., 1969) y todo lo que se deriva de ella ha influido de una manera decisiva en el campo de la ortodoncia tanto en la investigación como en la clínica. El uso de implantes óseo- integrados para anclaje en ortodoncia, trajo consigo la posibilidad de corregir maloclusiones en pacientes con sectores edéntulos, o con disminución del anclaje de dientes naturales disponibles. Con ellos se obtuvieron soluciones altamente satisfactorias en un gran número de pacientes adultos, y en jóvenes con distintos tipos de anodoncias (Cabaña y cols., 2008; Cabaña y Parmigiani, 2013).

Sherman, (1978) durante un estudio experimental en perros, colocó seis implantes dentales de carbono vítreo en los sitios de extracción de los terceros molares mandibulares. Durante la aplicación de fuerzas ortodóncicas, sólo dos de los

seis implantes permanecieron estables. A pesar de ello se consideró un éxito (Sherman, 1978).

Smith, (1979) estudió en monos los efectos de la carga en implantes recubiertos de óxido de aluminio bioglass, e informó de un movimiento no significativo de los implantes durante la aplicación de la fuerza. Él, describe la interfase entre los implantes bioglass y el tejido circundante como una fusión o anquilosis, a pesar de la observación de las áreas de tejido conectivo que estaban presentes (Smith, 1979).

Roberts y cols. (1984) investigaron la adaptación ósea de los implantes endo-óseos rígidos a las cargas continuas. Estos implantes de titanio con superficie grabada con ácido, se enroscaron en el fémur de conejos de 3 a 6 meses de edad y demostraron que, antes de aplicar la carga se necesitan seis semanas de curación en el conejo (que equivalen aproximadamente a 4-5 meses en los seres humanos) para obtener una estabilidad rígida, concluyendo que los implantes endo-óseos tienen el potencial de ser utilizados como una fuente firme de anclaje óseo para tratamientos ortopédicos y ortodóncicos dentofaciales (Roberts y cols., 1984).

Shapiro y Kokich, (1988) describieron la posibilidad de incorporar los implantes en el tratamiento de ortodoncia. Resaltaron la importancia de la posición de los implantes, así como las indicaciones de casos apropiados y los requisitos necesarios durante el diagnóstico y plan de tratamiento cuando se utilizan implantes para restauraciones de prostodoncia. También insistieron en la necesidad de una higiene oral adecuada para el mantenimiento del implante (Shapiro y Kokich, 1988).

Posteriormente Roberts y cols. (1994) desarrollaron la aplicación clínica de un dispositivo estándar de 3,75 mm x 7 mm de longitud en la zona retromolar. Se colocó un implante como de anclaje para cerrar el sitio edéntulo dejado por la extracción del primer molar inferior. Fijaron el implante al segundo premolar, con el fin de estabilizarlo durante la protracción de los molares, y evitar así, el movimiento distal de los dientes anteriores. La estabilización de la parte anterior premolar hasta el

lugar de extracción permitió el movimiento mesial de los molares sin movimiento distal de los dientes anteriores (Roberts y cols., 1994).

Otro ejemplo de ello fue la utilización de láminas y placas intraóseas en el tratamiento ortodóncico.

Melsen y cols. (1998) introdujeron el uso de ligaduras cigomáticas como anclaje en pacientes parcialmente desdentados. Bajo anestesia local realizaron dos perforaciones en la parte superior de la cresta zigomática y por ambos orificios se pasó un alambre doble trenzado de 0,12 mm y se extendió a la cavidad oral. Después de la cirugía, estos alambres se unieron a la aparatología fija anterior a través de unos muelles de níquel titanio para la intrusión y la retracción de los incisivos superiores. El tiempo aproximado fue generalmente de 3 a 6 meses para la retrusión e intrusión de los incisivos y los resultados se mantuvieron adecuadamente estables (Melsen y cols., 1998).

Block y Hoffman en 1995 presentaron el Onplant®. Este es un implante yuxtaóseo con forma de disco de aproximadamente 8 mm de diámetro por menos de 3 mm de espesor; en su momento se pensó que sería la solución esperada, pero su forma de colocación, necesidad de manos expertas, el tiempo de espera para su óseo-integración, apertura para su utilización, alto coste y las complicaciones de su posterior retirada lo convirtieron en un sistema poco utilizado (Block y Hoffman, 1995).

Wehrbein y cols. (1996) han descrito la zona sagital media del paladar como un sitio de inserción para el implante (3,3 mm de diámetro y longitudes de 4 mm y 6 mm) de anclaje en el tratamiento de ortodoncia maxilar. Después de 10 semanas de la colocación del implante, se extrajeron los dos primeros premolares superiores y durante 9 meses resistieron la fuerza de retrusión hasta el cierre completo del espacio dejado por la exodoncia. La superposición cefalométrica lateral no mostró movimiento del implante y solo 0.5 mm de movimiento mesial de los segundos premolares soportados por el implante durante la retrusión de los 8 mm de los incisivos y caninos (Wehrbein y cols., 1996).

De todos modos los implantes dentales convencionales pueden ser colocados solamente en áreas limitadas, como por ejemplo en la región retromolar (Robert y cols., 1994) o en espacios edéntulos. Otra limitación, ha sido la dirección de aplicación de la fuerza; un implante dental se coloca en la cresta alveolar y es demasiado grande para la tracción de ortodoncia horizontal.

Triaca y cols. (1992), Wehrbein y cols. (1996) fueron pioneros en utilizar los implantes óseo-integrados de menor tamaño en la sutura palatina, con fines ortodóncicos (Triaca y cols., 1992; Wehrbein y cols., 1996).

A pesar de los múltiples beneficios aportados por los implantes y de los excelentes resultados obtenidos, no todas son ventajas a la hora de optar por este tipo de anclaje, que depende de una serie de requisitos como: espacios edéntulos, un acto quirúrgico importante tanto en su colocación como en su retirada, manos expertas en su colocación, elevado coste económico, la necesidad de tiempo para la óseo-integración, y el hecho de que no todos los pacientes en crecimiento son susceptibles de tales beneficios.

Con expectativas de mejorar las dificultades que presentaban los implantes dentales osteointegrados, ya se realizaban experiencias con tornillos de menor tamaño.

El primer caso clínico publicado fué el de Creekmore y Eklund en 1983, quienes trataron de determinar si el hueso podría soportar a un tornillo de pequeño tamaño de Vitallium. Los autores describen la colocación de un minitornillo en el borde inferior de la espina nasal anterior para intruir el sector incisivo superior. Durante la activación, los incisivos centrales superiores se intruyeron alrededor de 6 mm y el tornillo permaneció estable sin movilidad durante todo el tratamiento hasta su retirada (Creekmore y Eklund, 1983).

Kanomi, (1997) determinó que un mini-implante de titanio de 1,2 mm de diámetro era suficiente para ser utilizado como anclaje en la intrusión de los incisivos inferiores. Anticipó la osteointegración entre el microtornillo y el hueso. También

mencionó la posibilidad de utilizar los mini-implantes como anclaje en la tracción horizontal, la intrusión y distalización, así como también en la distracción ósea (Kanomi, 1997).

Costa y cols. (1998) utilizaron mini-tornillos de titanio de 2 mm como anclaje ortodóncico. Éstos se insertaron manualmente con un destornillador directamente a través de la mucosa sin hacer un colgajo previo. Los mini-tornillos fueron cargados inmediatamente. También sugirieron las zonas idóneas de colocación de los mini-tornillos (Costa y cols., 1998).

Tanto Sugawara, (1999) como Umemori y cols. (1999) reportaron el uso de miniplacas quirúrgicas como anclaje esquelético durante la intrusión molar en la corrección de casos de mordida abierta (Sugawara, 1999; Umemori y cols., 1999).

A pesar del éxito conseguido con las miniplacas, los microimplantes de titanio presentan mayores ventajas, como un procedimiento quirúrgico más simple y de menor coste, no obstante la máxima magnitud de fuerza conseguida por el microimplante es menor que la de las mini-placas (Sung y cols., 2006).

Consecutivamente Park, (1999) describió un sistema de anclaje esquelético cortical con implantes de microtornillos de titanio. Después de seis meses de aplicación de fuerzas ortodóncicas con este método de anclaje cortical, consiguió la retracción en masa de los incisivos superiores con una intrusión de 4mm, siendo el resultado más destacado la distalización de 1,5 mm de los molares superiores (Park, 1999).

Clínicamente Park y Kim, (1999) examinaron el anclaje esquelético cortical con implantes de microtornillos de titanio con un 85% de éxito de estabilidad y firmeza de los microimplantes (Park y Kim, 1999).

Ohmae y cols. (2001) informaron de los resultados de una evaluación clínica e histológica sobre los mini-implantes de titanio, utilizados como anclaje de ortodoncia durante la intrusión en perros Beagle (Ohmae y cols., 2001).

Park y cols. (2001) reportaron el uso de microimplantes como anclaje en un

caso de Clase I esquelética con biprotrusión dentoalveolar. Con anclaje posterior a nivel de molares lograron la retrusión completa del sector anterior (Park y cols., 2001).

Lee y cols. (2001) reportaron el uso de microimplantes para el tratamiento de ortodoncia lingual, mostraron que los micro-implantes pueden proporcionar un anclaje fiable y absoluto para el tratamiento de ortodoncia lingual así como en el tratamiento vestibular convencional (Lee y cols., 2001).

Bae y cols. (2002a,b) informaron también de que microimplantes de 1,2 mm de diámetro eran del tamaño suficiente para producir el anclaje necesario durante la retrusión en masa de los 6 dientes anteriores sin pérdida de anclaje (Bae y cols., 2002a,b).

A partir de estas primeras experiencias, comienza en un corto periodo de tiempo, un crecimiento exponencial de estudios e investigaciones clínicas y científicas. También se produjeron innumerables avances en torno a su utilización, como mejoras en su composición, diseño, métodos y protocolos de colocación, en relación al lugar y características óseas como también de tejidos blandos en relación a su implantación; la biomecánica a utilizar en las diferentes maloclusiones, no quedaron exenta de estudio. Desde entonces con el advenimiento de estos dispositivos se superaron y aumentaron significativamente las posibilidades en el campo de la ortodoncia. Numerosos estudios avalan la biomecánica con Microimplantes, ya que son un instrumento simple y efectivo, que ha logrado superar los problemas del control de anclaje y la colaboración del paciente (Cabaña y Parmigiani 2013).

En la literatura científica, encontramos estos aditamentos con diferentes denominaciones: tornillos, minitornillos, microtornillos, mini-implantes, microimplantes, entre otros.



2.1.2 MICROIMPLANTES

De acuerdo con Sung y cols. (2006) refieren diferencias entre los términos de mini y micro implante. El término mini, se usa cuando el diámetro de un implante es de 1.9 mm o mayor. El término micro se utiliza cuando el diámetro del implante es menor de 1.9 mm para enfatizar el pequeño tamaño (como en los términos micrognatia, microsomía, microglosia y microdoncia). El término implante se usa en lugar de tornillo, porque cuando un objeto extraño se retiene en el cuerpo humano durante más de un mes, se puede clasificar dentro de la categoría de implante; (ver MDD 93/42/EEC, fecha Junio 14, 1993, relativo a los aparatos médicos, ANNEXO IX, 1.2 (este es el equivalente europeo FDA – Food and Drug Administration, en los Estados Unidos), (Sung y cols., 2006).

A modo de unificar las denominaciones, en esta tesis nos referimos con el término de microimplante (MI) y (MIs) a microimplantes, que abarca a tornillos y microtornillos, excepto a los mini-implantes o mini-tornillos que son los considerados de un diámetro mayor.

Los MIs se caracterizan por ser el resultado de la evolución de sus antecesores, los implantes óseointegrados, como producto de la necesidad del ortodoncista de ir aumentando las ventajas y perfeccionando su utilización al experimentar su efectividad en el control del anclaje (Cabaña y cols., 2008; Cabaña y Parmigiani, 2013).

En la literatura los MIs comenzaron siendo de titanio de diferentes grados, y actualmente en su gran mayoría son de aleación de titanio (Ti,6Al,4V), que permite disminuir su diámetro y aumentar su resistencia a la fractura.

Originariamente, los microtornillos eran utilizados directamente para fijar pequeños segmentos óseos fracturados o para adherir miniplacas al hueso en el campo quirúrgico. Los ortodoncistas probaron con dificultad conectar hilos elásticos, cadenas elastoméricas y ligaduras metálicas a la cabeza de estos microtornillos, sin embargo este protocolo tenía a menudo consecuencias periodontales, debido a que estas ligaduras estaban situadas por debajo de la cabeza del tornillo. Por

consiguiente, la cabeza del tornillo era embebido por la gíngiva, dificultando una buena higiene con irritación e inflamación constante, de hecho, dificultaba conectar muelles de titanio y otras fuerzas de ortodoncia, y de este modo limitaba la utilidad de este tipo de tornillo (Sung y cols., 2006).

Por ello, para compensar estos inconvenientes, se desarrollaron nuevos MIs específicos para ortodoncia, caracterizados por una cabeza tipo botón con un pequeño orificio que acepta ligaduras y elásticos. Otra ventaja añadida fue, que se hicieron lo suficientemente pequeños (1,2-1,3 mm de diámetro y con diferentes longitudes) como para ser insertados en muchas áreas del maxilar y la mandíbula a las que antes no se podía llegar, por ejemplo, entre las raíces de dientes adyacentes (Kyung, 2002; Kyung y cols., 2003).

Durante el abordaje del tratamiento ortodóncico con la técnica de MI, independientemente de la casa comercial que los manufacture y de los diferentes métodos de colocación de los mismos, existe una gran variedad donde elegir dichos MIs. En la actualidad son de fácil acceso en la literatura científica y comercial, sin embargo, debido a nuestra experiencia clínica, los MIs utilizados en esta Tesis pertenecen a Abso-Anchor Dentos®, Daegu, Korea, que presentan un gran número de variantes en forma, tamaño, diámetro y longitud, de acuerdo a su ubicación anatómica y utilización en los maxilares. (Figura 1).



Figura 1: Variedad de microimplantes. Abso-Anchor Dentos®, Daegu, Korea.



2.1.2.1 Técnica Quirúrgica

Sung y cols. (2006) describen la colocación de los MIs, desde su inserción, aplicación de la carga, como su desinserción una vez finalizada su función como anclaje en ortodoncia (Sung y cols., 2006).

2.1.2.2 Método de colocación

A continuación se describen estos procedimientos de colocación:

Self-tapping (auto-roscantes). Esta técnica se utiliza para los MIs de pequeño diámetro, que se introducen dentro de un lecho óseo previamente formado por el fresado. (Figura 2).

Self-drilling (auto-perforante). Se introducen sin perforación previa, para MIs de mayor diámetro o los de menor tamaño realizados de una aleación de titanio que permite disminuir su diámetro y aumentar su resistencia al torque de inserción. (Figura 3).

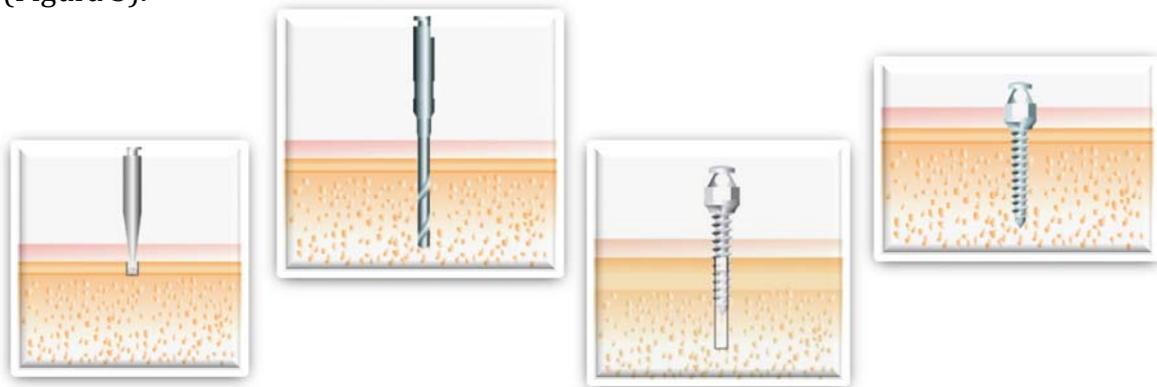


Figura 2: Método de colocación *Self-tapping* (auto-roscantes)

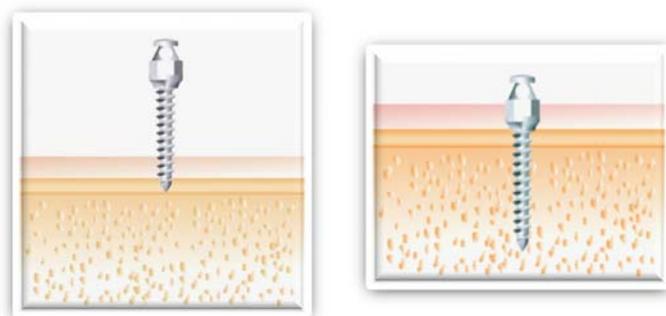


Figura 3: Método de colocación *Self-drilling* (auto-perforante).



Dentro de las consideraciones pre-quirúrgicas, una de las principales ventajas de los MIs es, que se pueden colocar en cualquier lugar de los maxilares, sin embargo es imprescindible para su correcta inserción el conocimiento exhaustivo de los detalles anatómicos y las características de los tejidos blandos, de igual modo, para asegurar el éxito, se deberá elegir la longitud, diámetro y tipo de cabeza adecuado del MI dependiendo de la situación clínica (Sung y cols., 2006).

2.1.2.3 Consideraciones Pre-quirúrgicas

En la preparación aséptica del área quirúrgica, es necesaria una gasa embebida en clorhexidina para lograr la desinfección local.

Una pequeña cantidad de anestesia infiltrativa subperióstica es suficiente, debido a que es un acto quirúrgico simple y es aconsejable no perder la sensibilidad del diente. Esto permite según los autores que, si al insertar el MI, se intercepta o lacera una raíz, el paciente lo comunica, y estamos a tiempo de cambiar la dirección del fresado lejos de ella.

Por otro lado la aguja de la anestesia orienta acerca del grosor de la encía lo que permite calcular la medida del MI, especialmente en la zona palatina. Es muy importante determinar en este acto la encía adherida, debido a que puede presentarse con distintos grosores, si no tenemos esto en cuenta, la elección del MI puede ser de longitud insuficiente, peligrando su supervivencia.

Independientemente del tipo de MI que se pretenda colocar, en caso que fuese auto-perforante es portado directamente con un conductor manual de la misma casa comercial.

Los autores recomiendan utilizar el conductor largo en caso de fácil acceso, el conductor corto unido a un hilo dental sujeto al dedo para evitar que resbale y llegar a zonas más comprometidas. También proveen de un conductor largo con indicador de torque inserto, este ayuda a evitar la fractura de los microimplantes durante su atornillado. La fuerza de resistencia al torque se puede controlar mediante el ajuste del medidor de fuerza. Si el nivel de fuerza indicado se excede, el conductor o driver

liberará al microimplante, y un sonido característico (a menudo descrito como un clic metálico) se puede oír mientras el engranaje dentro del embrague se suelta.

Los microimplantes de titanio son relativamente pequeños, es decir de 1.2 mm y 1.3 mm, ellos se fracturarán cuando la fuerza de torque usada sea mayor de 10 Ncm. De todos modos, menos de 5 Ncm normalmente es suficiente para obtener estabilidad mecánica primaria (Sung y cols., 2006). En física, torque informalmente es “fuerza rotacional”. Las unidades del sistema internacional son los metros Newton, aunque también se usan frecuentemente los metros centinewton (cN-m) y otros (Máximo y Alveranga, 1998).

Park, (2009) de acuerdo a su evidencia clínica, manifiesta que, la fractura de los MIs se produce en la mayoría de los casos en el último giro durante la colocación o el primero durante la extracción. Ejemplo de ello es, el MI de 1,3mm en el cuello y 1,2 mm en el ápice, tiene 16,84 Ncm de torque de fractura, este valor excede el torque de inserción promedio (3-12Ncm), con lo cual la fractura es poco probable (Park, 2009).

Al colocar el MI mediante el método self-tapping (ST) se puede utilizar un fisiodispensador para uso en implantología, con contra-ángulo reductor de 32/1 (400 a 500 rpm) con irrigación de solución fisiológica, que reduce la generación de calor y mantiene el área quirúrgica lubricada, de este modo se realiza un fresado suave en forma de tapping.

Desde un punto de vista puramente mecánico, es mejor colocar un microimplante en una dirección perpendicular a la superficie ósea, teniendo en cuenta que el MI insertado debería ser de 1 a 2 mm más corto que un microimplante insertado diagonalmente.

En el maxilar los MI necesitan tener una angulación de 30º a 60º con respecto al eje longitudinal de las raíces dentarias tanto por vestibular como palatino, con esta angulación aumentamos el área de contacto cortical con el MI y lo alejamos de la raíz contigua.

A diferencia, la mandíbula presenta una cortical vestibular mayor respecto al

maxilar. Esto permite reducir la angulación de inserción del MI a 10°- 60°.

En el espacio retromolar se colocan los MIs con una angulación de 80° a 90° aproximadamente respecto a la superficie ósea, al igual que en la espina nasal anterior.

De igual manera se debe tener en cuenta que el espesor óseo varía de paciente a paciente, como de hemiarcada a hemiarcada en un mismo paciente.

2.1.2.4 Procedimiento Quirúrgico

Una vez atravesada la cortical ósea, no es necesaria demasiada presión sobre el tejido óseo esponjoso debido a su menor densidad; si durante el fresado aumenta la resistencia es debido al contacto con una raíz, por lo que la angulación del fresado debe cambiarse. Normalmente el paciente acusará dolor ante el contacto con una raíz, si tenemos una baja dosis de anestesia. Antes de introducir el MI se debe reevaluar su dirección, longitud, y si es posible utilizar uno de mayor diámetro para una mejor estabilidad primaria.

Se comienza el acto quirúrgico con una fresa piloto redonda N° 2 de 0,9 mm de diámetro, penetrando a través de la encía adherida y realizando sobre la cortical ósea una pequeña indentación. Esta pequeña perforación en el hueso, evita que se deslice la fresa guía, especialmente cuando el MI va a ser insertado diagonalmente.

Luego se continúa con una fresa perforadora-guía de varios diámetros, que oscilan entre 1,0 mm a 1,6 mm.

El diámetro de fresado debe ser 0,2 mm a 0,3 mm menor que el diámetro del MI que se vaya a colocar. Debe tener un ajuste óptimo para evitar poner en riesgo su permanencia. El éxito de los MIs depende de una estabilidad inicial óptima, si ésta no fuese alcanzada, se reemplazaría por un MI de mayor diámetro.

El propósito de la fresa guía es hacer un camino de inserción que guíe la colocación del MI y que evite su fractura como resultado de la presión de la inserción.

Los MIs pueden ser colocados tanto en encía insertada, que es la ubicación de elección idónea, encía libre, como en el límite entre ambas.

Si colocamos el MI sobre encía libre, la maniobra que se realiza, es una compresión y tensión de la misma sobre el hueso, se sujeta y se mantiene con un periostótomo, para evitar que se enrosque ésta durante el fresado.

La instrucción del paciente en técnicas de higiene oral y control de placa se realiza siguiendo iguales pautas rutinarias que en los tratamientos de ortodoncia.

2.1.2.5 Exposición del Microimplante

Dependiendo de la exposición de la cabeza del MI durante su utilización tenemos:

Método Abierto: cuando la cabeza del MI está descubierta. Para su remoción sencillamente se desatornilla en dirección opuesta a su inserción. (Figura 4).

Método Cerrado: cuando el MI es cubierto por encía libre, para ello, hay un diseño de MI sin cabeza preparado para ser sumergido, del cual emerge una ligadura metálica para realizar la fuerza de tracción. Para su eliminación se necesitará de una pequeña incisión. Si durante el tratamiento un MI previsto para ser desinsertado por el método abierto se cubriera de encía o quedase sumergido, no es necesario descubrirlo hasta su desinserción. (Figura 5).



Figura 4: Método Abierto.



Figura 5: Método Cerrado.

2.1.3 CONSIDERACIONES BIOMECÁNICAS DE LOS MICROIMPLANTES

2.1.3.1 Aplicación de la carga

La aplicación de la carga sobre el MI se realiza de forma inmediata o diferida. Se considera carga inmediata, a la activación de la fuerza soportada por el MI en el mismo acto quirúrgico de su colocación. La carga diferida en oposición es la activación del MI posterior a su colocación, que puede variar entre 2 semanas y 2 meses aproximadamente (Melsen y cols., 2000).

Los MI pueden ser cargados independientemente del tiempo, con una carga de entre 30 cN (cN= centi-Newtons) a 200 cN, aproximadamente, de acuerdo a las necesidades biomecánicas del objetivo de tratamiento. Los aditamentos más utilizados son ligaduras metálicas y muelles cerrados de níquel titanio, también se utilizan gomas o hilos elastoméricos.

2.1.3.2 Tipos de anclajes

Celenza y Hochman, (2000), dividen en dos grupos a los implantes en el anclaje para ortodoncia, algunos autores se basan en la misma clasificación para los MI:

Anclaje Directo: cuando nos apoyamos directamente sobre el implante para realizar la fuerza sin utilizar ninguna unidad dentaria de anclaje. (Figura 6).

Anclaje Indirecto: cuando tenemos una unidad de anclaje dentario, el implante se utiliza para reforzarlo o estabilizarlo (Celenza y Hochman, 2000). (Figura 7).



Figura 6: Anclaje Directo.



Figura 7: Anclaje Indirecto.

2.1.3.3 Ventajas de los microimplantes

Los movimientos dentarios que se realizan a través del anclaje con microimplantes, se determinan por los mismos principios y consideraciones biomecánicas que operan durante un tratamiento ortodóncico convencional, por ejemplo: fuerza, momento, centro de resistencia, centro de rotación.

Un microimplante puede ser colocado en diversas áreas de la boca y a diferentes alturas de la encía en relación al plano oclusal, creando múltiples orientaciones biomecánicas, por ejemplo: al igual que en el anclaje convencional de las fuerzas extraorales de tiro alto, medio o bajo. Entonces, varios tipos de movimientos dentarios se pueden producir dependiendo de la posición del microimplante, la altura de la conexión y la magnitud de la fuerza aplicada (Sung y cols., 2006).

Como se mencionó con anterioridad, la evolución de los métodos de anclaje óseo como los tornillos de fijación quirúrgica, implantes retromolares, alambres zigomáticos, Onplant, miniplacas, mini-implantes y microimplantes descritos, han hecho posible superar limitaciones previas en el movimiento ortodóncico clásico, sostenido por este ya aceptado y establecido anclaje en la comunidad ortodóncica, que ha cambiado enormemente la metodología y abordaje de la terapéutica simplificando la biomecánica aplicada, como también en la comodidad que respecta al

confort del paciente (Kuroda y cols., 2007a; Park, 2009).

Entre sus ventajas más destacables se encuentra el control del plano oclusal en los tres planos del espacio, desplazar una dentición entera en la misma dirección, tratamiento de oligodoncias y síndromes complejos. Sin embargo es en los tratamientos multidisciplinarios y desórdenes témporo-mandibulares donde rutinariamente y no menos importante se utilizan los Microimplantes, regularizando planos oclusales, evitando tallados, corrigiendo inclinaciones, a pesar de presentar sectores edéntulos, entre otros movimientos biomecánicos complejos.

De acuerdo a los desórdenes témporo-mandibulares, Bravo (2007) concluye, según la perspectiva actual de consenso, que el tratamiento de ortodoncia bien realizado (con o sin extracciones dentarias) "no es la causa de los desórdenes" témporo-mandibulares, sino que al contrario, en ciertos casos, podría ser una ayuda en la solución, incluso en algunas circunstancias pudiera ser el único y suficiente tratamiento (Bravo, 2007).

2.1.4 DESINSERCIÓN

Es de muy fácil remoción; debido a que no se produce óseointegración o ésta es mínima. Ello simplifica su eliminación. No se precisa anestesia, y si se presentaran molestias por la inflamación de los tejidos circundantes es suficiente la aplicación de anestesia tópica.

Los autores concluyen que la colocación de un microimplante no es un procedimiento quirúrgico invasivo o peligroso. La colocación rutinaria del microimplante por un clínico ortodoncista experimentado le supone pocos minutos y una gran ventaja, porque además comprende la biomecánica requerida por cada tratamiento. Los pacientes no acusan molestias ni inflamación días después de su colocación (Sung y cols., 2006).



2.1.5 SITIOS DE COLOCACIÓN DEL MI

Con el objetivo de presentar guías y datos anatómicos que determinaran la localización segura de los MIs, Park HS (2002) presentó un estudio anatómico en el cual se implantaron MIs de 1,2 mm de diámetro dentro del hueso alveolar, entre las raíces de los dientes, y mediante la medición por medio de imagen CT (tomografía de haz cónico asistida por ordenador) se obtuvieron dichos datos. Este estudio concluyó como regla (Park HS, 2002).

El autor recomienda, que el microimplante puede insertarse en el hueso hasta una profundidad de más de 6 mm en el maxilar y a partir de 5 mm en la mandíbula. Esto significa que el grosor del tejido blando se debe comprobar, así como la calidad del hueso en el lugar de colocación. Las superficies corticales del maxilar son más delgadas y menos compactas que las de la mandíbula, y en consecuencia requieren microimplantes de mayor longitud.

Un microimplante de tamaño reducido, incluso con 1,2 mm de diámetro en la punta y 1,3 mm de diámetro en el cuello sería el suficiente para soportar la carga aplicada. De todos modos, el máximo de las fuerzas utilizadas en el tratamiento de ortodoncia son a menudo menores de 300gr. Esto significa que incluso el tamaño más pequeño del MI de ortodoncia puede resistir mecánicamente una cantidad de fuerza muy superior a la necesaria. De todos modos, cuando se utiliza MI de pequeño diámetro, se debe actuar con precaución ante el riesgo de fractura de éste durante la colocación. De hecho, un MI de mayor diámetro podría tener más posibilidades de producir un contacto o lesiones radiculares.

Los lugares idóneos en relación ósea, y más utilizados para llevar a cabo mecánica de deslizamiento, es colocar el MI por mesial del primer molar superior al igual que en la mandíbula. También, un mayor diámetro puede inducir un aumento de microfracturas óseas alrededor del microimplante cuando se colocan sin necesidad de perforación previa en una cortical densa, es decir, los MI auto-perforantes. El autor

concluye, que la elección del MI se debe llevar a cabo en función a la condición individual del paciente en el que se inserten (Park, 2002, 2009).

Estos dispositivos son lo suficientemente pequeños para colocarse en muchas áreas de la boca, si hay un hueso adecuado para alojarlo. Por lo tanto, el mejor sitio para colocar un microimplante, dependerá de la finalidad del tratamiento así como de las consideraciones biomecánicas específicas. (Sung y cols., 2006).

En relación a los métodos de colocación Chen y cols. (2008) recomiendan el uso de SD (Self-drilling) en el maxilar y en las áreas de hueso cortical fino de la mandíbula, debido al menor daño y riesgo de fatiga o fractura del MI. Por el contrario, aconsejan ST (Self-tapping) en áreas que presenten una cortical densa o incluso aumentar el diámetro del MI si es colocado como autoperforante (Chen y cols., 2008).

2.1.6 ESPESOR DEL HUESO CORTICAL Y DENSIDAD ÓSEA

La estabilidad primaria juega un papel importante en la estabilidad secundaria, por ello, el conocimiento de las características óseas es importante, a pesar que el conocimiento intrínseco aún no es completamente claro, en lo que refiere al metabolismo óseo, maduración, renovación celular y demás aspectos fisiológicos. En implantología se ha descrito la más aceptada clasificación sobre calidad ósea propuesta por Lekholm y Zarb (1985) sobre la cantidad de hueso cortical y trabecular. (Figura 8).

- Hueso tipo 1: Compacto denso.*
- Hueso tipo 2: Compacto poroso.*
- Hueso tipo 3: Trabecular denso.*
- Hueso tipo 4: Trabecular poroso.*

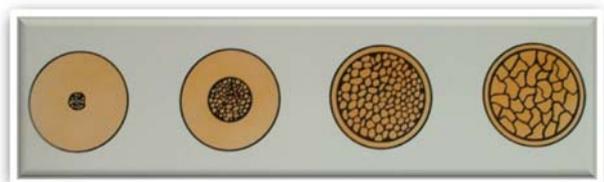


Figura 8: Clasificación Ósea de Lekholm y Zarb.

De acuerdo al estudio anatómico anteriormente nombrado (Park, 2002) el autor informa sobre las medidas y desviaciones estándar del hueso cortical, distancia

entre la superficie ósea y las raíces y distancia entre las raíces en maxilar y mandíbula. Sus datos son importantes en la orientación de la colocación de los MIs. En el maxilar superior el espesor de hueso cortical en el nivel medio de la raíz es de 1,3 mm a 1,5 mm desde los dientes anteriores hacia los posteriores. En la mandíbula, el espesor va de 1,3 mm en los dientes anteriores a 2,9 mm en los dientes posteriores. La densidad del hueso en la región anterior superior es de aproximadamente de 800 HU (Unidad Hounsfield) y el tuberosidad maxilar una densidad de 450 HU (Park y cols., 2008). Los premolares y los caninos presentan mayor densidad en el maxilar superior aproximadamente de 910-940 HU.

En la mandíbula la densidad en el área de los dientes anteriores es de 800 HU pero aumenta hacia los caninos 1000 HU, premolares 1200 HU y molares 1800 HU. Por otra parte el hueso esponjoso en la mandíbula tiene un nivel de densidad ósea similar al maxilar superior. La contribución a la estabilidad del hueso esponjoso es mayor en el maxilar superior que en la mandíbula. Durante el proceso de colocación si se fractura el hueso cortical no se obtiene estabilidad inicial, por esta razón es más seguro utilizar el método con fresas en hueso muy denso y cortical grueso (Park, 2002; 2009; Park y cols., 2008).

Huja y cols. (2005) durante un estudio experimental en perros colocaron 56 mini-tornillos de 2mm de diámetro, 6 mm de longitud con el propósito de determinar si la fuerza de extracción de los mini-implantes en el hueso varía dependiendo del lugar de inserción en el maxilar o en la mandíbula. Los autores concluyen que existen diferencias con una tendencia a una mayor fuerza de extracción en las regiones posteriores de la mandíbula y el maxilar (Huja y cols., 2005).

2.1.7 GENERALIDADES DE LOS MICROIMPLANTES

2.1.7.1 Estabilidad

El fracaso de un MI implica que ha cedido mecánicamente durante el

tratamiento sin cumplir su objetivo de anclaje. Se considera que un MI falló, cuando éste perdió su estabilidad mecánica inicial, presentando movilidad y dolor en el plazo de los tres meses desde su colocación inicial. Son múltiples las variables que influyen en la estabilidad de los MIs, las cuales no se conocen completamente hasta la fecha. El éxito de los MIs es de un 85% a un 95% según diferentes autores, siendo relacionado el fallo de los MIs durante el tratamiento de ortodoncia, con un gran número de factores de uso (Melsen y Lang, 2001; Miyawaki y cols., 2003; Chen y cols., 2004; Park, 2009). Las consideraciones acerca de cómo deben ser sus características y la técnica de colocación con o sin fresado (Chen y cols., 2008) para obtener la mayor tasa de éxito en su utilización también ha sido diversa. De esta manera se han estudiado por su forma, longitud, diámetro, superficie, (Mortensen y cols., 2009; Papageorgiou y cols., 2012; Kim y cols., 2009) como también por la biomecánica y su activación (Park y cols., 2001).

Factores locales como: características anatómicas de localización en los maxilares, espesor de la mucosa gingival como de la cortical, profundidad de inserción, inclinación del MI, presencia de inflamación tampoco ha estado exenta de estudio (Hung y cols., 2012; Miyawaki y cols., 2003). El índice de fallo en relación a los maxilares siempre ha sido superado por la mandíbula, de acuerdo a las evidencias clínicas como experimentales, una de las posibles causas, es la mayor densidad de la cortical mandibular que conduce a un mayor aumento del índice de torque de inserción, como también el sobrecalentamiento producido durante el fresado (Chen y cols., 2008; Park y cols., 2006) De todos modos independientemente, un espesor menor de 1mm aumenta el índice de MIs fallidos (Miyawaki y cols., 2003; Alrbata y cols., 2014).

De acuerdo con Motoyoshi y cols. (2009) el fallo del MI comienza con la resorción ósea que ocurre de un superior a una posición inferior en el hueso esponjoso, lo que resulta en la pérdida de soporte óseo esponjoso. Por consiguiente, la resorción ósea se produce en los márgenes superior e inferior del hueso cortical. Eventualmente, el mini-implante ya no puede resistir la fuerza de ortodoncia, y se

afloja (Motoyoshi y cols., 2009).

Un reciente estudio clínico (Sarul y cols., 2015) concluye que MIs de 8mm colocados en mandíbulas de mujeres y cargados dos semanas después, presentan mayor estabilidad significativa que los MIs de 6 mm.

Sin embargo, al igual que los implantes endo-óseos, óseo-integrados están relacionadas con el huésped, modo de uso terapéutico, como también, con su composición, forma y tamaño del MI, así como con la técnica de colocación. Un aumento de calor durante el fresado, aumenta el índice de fallo, debido a que la cortical de la mandíbula es más densa, como se ha descrito en un estudio sobre el fresado de implantes (Tehemar, 1999).

El índice de fallo del MI aumenta si toca una raíz durante su colocación (Kuroda y cols., 2007b). Por tanto, para prevenir, ha de tenerse en cuenta la morfología de las raíces y el espacio interradicular en el cual se coloca el MI (Park 2002), así como su tamaño, el camino de inserción, y la calidad del tejido blando que lo recubre (Sung y cols., 2006; Park, 2009).

De acuerdo al estudio presentado por Miyawaki y cols. (2003), el aumento del ángulo mandibular condiciona también, un aumento en el índice de pérdida de los MIs, al igual que la incisión durante la colocación, produce una mayor inflamación postoperatoria (Miyawaki y cols., 2003).

La colocación de los MIs en mucosa no queratinizada, sugiere un factor de riesgo tanto clínico (Park y cols., 2006) como experimental (Kim y cols., 2009). Este hecho incrementa el riesgo de infección como de inflamación.

La diferencia entre carga inmediata o carga diferida no es significativa, de acuerdo al estudio de Park y cols. (2006) y Melsen y cols. (2000) por ello, una carga inmediata no deteriora la estabilidad del MI y reduce el tiempo de tratamiento (Park y cols., 2006; Melsen y cols., 2000).

De todos modos la necesidad de anclaje, como propósito principal de su utilización, generalmente ofrece sitios anatómicos de reducido espacio, donde los MIs

de menor diámetro serían los más requeridos. Es aconsejable dejar 0,5mm de distancia entre éste y la raíz dentaria (Kuroda y cols., 2007b; Cho y cols., 2010).

El reducido diámetro de estos dispositivos, permiten la posibilidad de ser colocados en cualquier parte de los maxilares. Si un microimplante fracasa, se puede colocar otro en el área inmediatamente adyacente. La habilidad de sustituir un MI que ha fracasado, tiene como resultado instantáneo una tasa de éxito de casi el 99%, independientemente de si el MI fracasa o se mantiene estable (Sung y cols., 2006).

2.1.7.2 Consideraciones de fallo del Microimplante

Factores que se sospecha que contribuyen a que los microimplantes fallen.

Factores iatrogénicos

➤ Generación excesiva de calor durante el fresado, que resulta en necrosis del tejido óseo.

- Daño o aproximación a la raíz.
- Estabilidad mecánica inicial inadecuada.
- Contaminación del implante.
- Inflamación debido a una negligencia en la higiene oral.
- Inflamación por intromisión de materiales elásticos.
- Daño a estructuras anatómicas (por ejemplo, nervio, arteria o seno).
- Fractura del microimplante.

Factores del Huésped

➤ Enfermedades sistémicas.

➤ Calidad y cantidad de hueso.

➤ Cantidad de encía adherida comparada con el tejido blando móvil disponible.

- Edad y condición física.
- Microflora oral, salivación, respiración oral, tabaquismo, etc.

Factores del Implante

- Elección del material del implante.
- Tipo de superficie del implante.

➤ Forma del tornillo del implante.

Si no se logra la estabilidad mecánica inicial durante la inserción del MI, no se ha de esperar que el MI tenga éxito. La mayor proporción de fracaso del implante ocurre dentro de los primeros 3 meses a partir de la colocación. Sin embargo hay mas factores implicados en el fracaso de un implante, ninguno de los cuales se comprenden completamente.

Por ello, el clínico busca tener información sobre el rendimiento mecánico de estos MIs. Esta información según los autores, podría ayudar a mejorar los diseños de los implantes, reducir el índice de fallo clínicos, y mejorar las guías de uso en ortodoncia (Sung y cols., 2006; Park, 2009). No menos importante es considerar la carga inmediata o temprana. Sin embargo, existen limitaciones obvias para la estabilidad si la calidad ósea es pobre.

Otros métodos se describen en la literatura para valorar la estabilidad de los MIs.

2.1.8 PIT (TORQUE MÁXIMO DE INSERCIÓN)

Se considera al PIT (Torque máximo de inserción) como la fuerza del movimiento máximo en sentido de las agujas del reloj producto de la resistencia de inserción cuando el MI está siendo atornillado en el hueso; ya que esta resistencia es proporcional a la cantidad de compresión del hueso o el estrés radial, puede ser utilizada como una referencia para supervisar la tensión de inserción (Yu y cols., 2012). Algunos investigadores propusieron una guía clínica para el torque de inserción, con el objetivo de maximizar la capacidad de supervivencia de los MIs (Motoyoshi y cols., 2006).

Sin embargo, el torque de inserción es la resultante de muchos otros factores, incluyendo el tamaño del MI, estado de la superficie, diseño de rosca, la calidad del hueso, y así sucesivamente; por lo tanto, no puede ser correlacionado con precisión a las tensiones localizadas directamente (Yu y cols., 2012).

El PIT representa la fuerza de agarre para resistir el aflojamiento y pérdida de

los MIs (Chen y cols., 2008).

En base a la experiencia clínica de diversos investigadores, hasta el momento, el anclaje ortodóncico no requiere que los microimplantes se vuelvan completamente oseointegrados. De hecho, esperar una oseointegración completa no es recomendable, ya que estos microimplantes se eliminan al final del tratamiento ortodóncico. Incluso sin oseointegración total, los microimplantes se pueden cargar inmediatamente después de su implantación, con una retención mecánica excelente dentro del hueso es suficiente (Sung y cols., 2006; Park, 2009).

Kim y cols. (2008) considera al torque de inserción como estándar para evaluar la estabilidad mecánica del MI a la inserción, y el valor de torque de eliminación lo consideran como una medida de la osteointegración y la estabilidad del MI (Kim y cols., 2008).

2.1.9 PRT (TORQUE MÁXIMO DE EXTRACCIÓN)

Se considera al PRT (Torque máximo de extracción) como la fuerza máxima del movimiento al revés de las agujas del reloj para aflojar los MIs, un método para valorar el poder de retención es evaluar las fuerzas de extracción. Los test de extracción se han usado en ortopedia, neurocirugía, cirugía plástica y maxilofacial para evaluar el rendimiento mecánico de los tornillos (Huja, 2005; Chen y cols., 2008).

En las aplicaciones ortopédicas, los tornillos se usan para estabilizar segmentos de óseos y no se cargan directamente. En los MIs usados para anclaje ortodóncico, el mecanismo de tracción es directamente aplicado a la cabeza del tornillo (por ejemplo con un muelle o un elástico), por ello las observaciones son diferentes. Hasta ahora, se han hecho intentos limitados para cuantificar las tensiones inducidas durante la colocación microimplante.

La falta de metodologías o instrumentos para medir las tensiones en el hueso ha obligado al uso de una medida indirecta como es el torque de inserción (Yu y cols., 2012).



2.1.10 BIC (BONE-TO-IMPLANT CONTACT)

Se considera el parámetro BIC – (bone-to-implant contact) al porcentaje de hueso en contacto con el implante. El valor BIC es un parámetro para la superficie lineal del MI que está en contacto directo con la matriz del hueso, se calcula con un software y se expresa como un porcentaje del total de la superficie del MI (Chen y cols., 2008).

De acuerdo a lo anteriormente descrito los MIs en ortodoncia presentan formación de tejido fibroso en la interface hueso-implante, esto sería adecuado porque facilita la retirada del MI al final del tratamiento. Sin embargo un aumento de tejido fibroso puede causar movilidad del implante. Por otro lado el efecto del momento de la carga a partir de la interfaz hueso-implante no está claro.

Ohmae y cols. (2001) observaron que MIs de 1,2mm de diámetro bajo carga, presentaron un 25% de superficie osteointegrada, mientras que aquellos sin carga tenían un 18,9% de osteointegración.

Sin embargo, para Kim y cols. (2005) el pequeño diámetro de un MI de ortodoncia conduce a una menor estabilidad en el momento de rotación ya que el valor del torque de extracción es directamente proporcional al cuadrado del diámetro del implante. A pesar del aumento de osteointegración, esta proporción sería relativamente baja, demostrada, por la remodelación activa y formación menos mineralizada del hueso que tiene lugar alrededor del MI cargado (Kim y cols., 2005).

En base a estos conceptos, la estabilidad de los MIs de cargada inmediata o tardía han sido objeto de investigaciones en los últimos años. En este sentido, algunos estudios histológicos han informado del éxito de la carga inmediata sobre MIs, cuando se consideran factores tales como la estabilidad primaria, no encontrando diferencias significativas en el contacto hueso implante (BIC) en los MIs colocados en modelo experimental canino, entre una carga inmediata o tardía (Ramazanzadeh y cols., 2014).

La pérdida de la estabilidad del MI es un fenómeno irreversible que puede atribuirse a la inflamación o al remodelado óseo (Miyawaki y cols., 2003; Frost, 2004). Las microlesiones ósea generalmente se definen como el fracaso de la matriz detectable por microscopía de luz.

Estudios clínicos sugieren que la carga de torsión sobre los MIs debería evitarse, probablemente debido a que dicha carga podría desunir cualquier integración mecánica o química entre el punto de contacto de este y el hueso (Huja y cols., 2005). De todos modos, Kim y cols. (2009) en su estudio experimental con MIs tratados en su superficie (SLA), concluyen que, los MIs tratados presentaron mayor torque de remoción (PRT) frente a los mecanizados sin tratar, esta respuesta positiva, es apoyada por un mayor índice de óseo-integración y un aumento de resistencia a las fuerzas de rotación antihoraria, lo que aboga a ofrecer valiosas posibilidades biomecánicas en ortodoncia (Kim y cols., 2009).

2.1.11 DESPLAZAMIENTO DEL MI

En cuanto al desplazamiento de los MIs, pueden diferenciarse entre, desplazamiento directo o primario y migración o desplazamiento secundario.

El desplazamiento *Primario* o directo es debido a las características elásticas del hueso y estructuras periodontales, por otro lado.

La migración o desplazamiento *Secundario* bajo carga, se produce durante el tiempo de tratamiento de ortodoncia, causado por procesos de remodelación. El comportamiento de dichos fenómenos, podrían predecir inconvenientes clínicos.

Por otro lado, Liou y cols. (2004) sugirieron que los mini-implantes no permanecieron en sus posiciones bajo carga de ortodoncia aunque se mantuvieron estables (Liou y cols., 2004).

Nienkemper y cols. (2014) informan, que el desplazamiento primario no parece ser clínicamente relevante. La mayoría de los estudios confirmaron que el desplazamiento secundario significativo, ocurrió bajo las tensiones producidas por la ortodoncia en el tiempo. El nivel de desplazamiento fue clínicamente relevante,



teniendo en cuenta la posible interferencia con las estructuras anatómicas, como raíces dentales.

En base a los datos proporcionados en relación con la cantidad y el tipo de desplazamiento, los autores proponen, la descentralización de la inserción dentro del espacio inter-radicular, alejado el MI de la dirección de la fuerza, podría ser favorable. De acuerdo con la propuesta de los autores, este hecho, podría contribuir a minimizar el riesgo de dañar las estructuras anatómicas y reducir las tasas de fracaso de mini-implantes (Nienkemper y cols., 2014).

2.1.12 ANÁLISIS DE ELEMENTOS FINITOS

En el afán por dilucidar el comportamiento de los MIs, se han desarrollado estudios de simulación sobre modelo de elemento finito. Ésta, es una técnica analítica para el cálculo de tensiones y deformaciones dentro de estructuras con carga mecánica. Reducida la estructura a un grupo de pequeños elementos conectados de forma apropiada con un comportamiento mecánico conocido se puede estimar la respuesta de toda la estructura a la carga.

Un estudio diseñado para evaluar las tensiones que desarrolla el hueso cortical durante la colocación del microimplante por el método de ST (Self-tapping), concluye, que no es la fuerza de ortodoncia o el momento de su aplicación, quien determina el pronóstico de la terapia con MI, sino la respuesta del hueso a la inserción del MI (Yu y cols., 2012). Sin embargo las tensiones elásticas son importantes para el hueso adyacente, un umbral crítico de tensión podría desencadenar una reabsorción ósea patológica. En adición, un protocolo de carga inmediata o temprana utilizada rutinariamente en ortodoncia con MIs no permitiría tiempo suficiente para que el hueso alivie estas tensiones de inserción, de remodelación o de otros mecanismos de relajación. Por lo tanto, es bastante probable que el hueso interosca se someta a un cierto nivel de tensión residual antes que la fuerza de ortodoncia sea aplicada (Yu y cols., 2012).

Algunos investigadores han propuesto la colocación de los MIs en ángulos inclinados para ganar una mayor participación de hueso cortical. Sin embargo, los resultados obtenidos por Alrbata y cols. (2014) contradicen esta creencia (Alrbata y cols., 2014).

De acuerdo a sus resultados in-vitro de los análisis numéricos obtenidos, refieren que, la totalidad de la fuerza ortodóncica se transmite al hueso cortical y este la absorbe en un 100% cuando es igual o mayor a 2mm, a pesar de la presencia del hueso trabecular. Los autores recomiendan que entre 1 y 2 mm es aceptable para la estabilidad del MI con participación del tejido del tejido esponjoso (Alrbata y cols., 2014).

2.1.13 MICROIMPLANTES Y SU RELACIÓN CON EL SISTEMA ÓSEO

Múltiples líneas de investigación continúan y se realizan esfuerzos para establecer los factores que influyen en la estabilidad de los MIs. De todos modos, en los últimos años ha aumentado considerablemente la utilización de este tipo de anclaje temporal, por ser el resultado de la evolución de sus antecesores, los implantes óseo-integrados, como producto de la necesidad del ortodoncista de ir aumentando las ventajas y perfeccionando su utilización al experimentar su efectividad en el control del anclaje.

Para obtener éxito en lo que respecta a la colocación y mantención del MI, el hueso que los soporta debe presentar una cierta calidad, considerando como ventaja destacada, su rápida utilización, puesto que no se necesita de la espera de la óseo-integración para su uso.

2.1.13.1 Hueso Medular, Laminar y Compuesto

Una vez colocado el microimplante durante la cicatrización participan tres tipos de hueso: el hueso medular, laminar y compuesto.

El hueso medular es altamente celular y de rápida formación (30 μ /día aproximadamente). Durante la fase inicial del proceso de cicatrización el hueso

medular llena los espacios en la interfase hueso-implante. Las fibras están orientadas al azar y tienen poca resistencia, dado que el hueso medular es más tolerante que el tejido óseo maduro tiene gran importancia en la estabilización durante el proceso de cicatrización. Esta etapa está controlada principalmente por citoquinas locales provenientes del coágulo sanguíneo y los tejidos lesionados adyacentes. Una vez que se calma la reacción de cicatrización, los factores mecánicos localizados y metabólicos sistemáticos determinan la forma y función del hueso en el área de la interfase.

El hueso laminar es el tejido principal para soportar las cargas, es el componente predominante de un interfase hueso-implante maduro. Se forma relativamente después (menos de $1\mu/\text{día}$), tiene una matriz organizada y está densamente mineralizada.

El hueso compacto es una combinación de hueso laminar paravascular depositada sobre la matriz ósea del hueso medular. Durante la fase inicial de cicatrización de una matriz de hueso medular (callo), altamente poroso, emana del periostio intacto no descubierto en la periferia de la herida. El callo altamente bascular crece hacia el implante tanto en superficie del periostio como en la del endostio. Las cavidades paravasculares se rellenan con láminas de alta calidad, alcanzando una resistencia adecuado para soportar las cargas (Roberts, 2002).

La formación de hueso compuesto es un paso importante para lograr la estabilización en el caso de un implante durante el rígido proceso de integración, en el caso de los MI, este es mínimo (Park, 2009; Kim y cols., 2005).

Esta cierta calidad ósea, estaría determinada entre otros factores, por el espesor de las corticales, como también de la consistencia y disposición del trabeculado óseo. Considerando los últimos avances en biología ósea, se dispone cada vez más, de pruebas de que la masa y la resistencia, al analizar el concepto biomecánico óseo, se relaciona con el estímulo dado por la función muscular sobre dicha estructura (Roberts, 2006). Estas caracterizaciones serían consecuentes con la influencia de la consistencia de la dieta, mediada a través de la función oclusal, este jugaría un papel significativo en la cantidad de carga funcional sobre el complejo

óseo, obteniendo como resultado una estructura ósea de acuerdo al estímulo recibido.

2.1.13.2 Modelado y Remodelado

Modelado es una serie de eventos impares de formación y reabsorción que modifican el tamaño, forma o posición del hueso. El remodelado ocurre sobre el hueso pre-existente.

El modelado está controlado principalmente por las cargas funcionales mientras que el remodelado responde a las demandas metabólicas de calcio (iones). Es el medio principal de adaptación esquelética a las cargas funcionales y terapéuticas. Los cambios relativamente moderados en la distribución del tejido óseo a lo largo de las superficies óseas corticales afectan dramáticamente la capacidad de soportar cargas. Todos los huesos son capaces de adaptarse mediante los mecanismos de modelado. Los eventos localizados de reabsorción y formación ósea son los medios del “micro-modelado” para resistir las cargas funcionales (Frost, 2004).

La masa y geometría ósea reflejan la distribución del estrés asociado con la carga dinámica.

El remodelado del hueso cortical (reorganización interna) se logra mediante los conos de corte-relleno. El último es una unidad funcional de osteoblastos y osteoclastos organizándose alrededor de los vasos sanguíneos proliferantes. El hueso trabecular (esponjoso) se remodela de forma similar “conos de hemicorte-relleno” donde se remueve y reemplaza un volumen de hueso específico en un sitio determinado.

La diferencia principal en el remodelado trabecular es la falta de un delicado suplemento sanguíneo interno, los conos de hemicorte-relleno dependen de la vascularidad de la medula. El remodelado del hueso trabecular es del 20 al 30 % por año. Bajo la mayoría de las circunstancias el remodelado del hueso cortical es del 2 al 10 % por año aproximadamente. Dado que solo una porción de la corteza está en fracción metabólica el promedio de remodelado del hueso cortical es de 3 a 10 veces menor que el hueso trabecular adyacente (Roberts, 2002). (Figura 9, Roberts 2002).

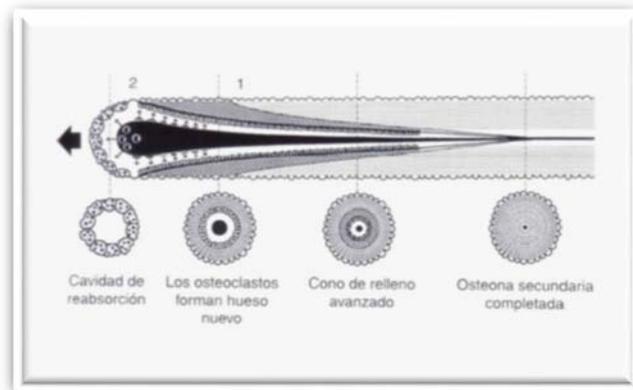


Figura 9: Cono de corte/relleno.

2.1.13.3 Biomecánica Ósea

Además de la importancia del calcio metabólico, el remodelado óseo también está afectado por el estrés mecánico y la deformación. Este es el mecanismo corporal para prevenir el acumulo excesivo de microdaños.

En 1892 Wolff, observó que el hueso sometido a una carga mecánica puede modificar su estructura. Desde el punto de vista biológico se describen 3 actividades básicas que determinan la masa ósea, la fuerza y la fragilidad: a) el crecimiento longitudinal, b) el modelado y c) el remodelado. Mediante la aplicación de una carga al hueso se genera tensión (stress) y se produce su deformación (strain). Frost describe rangos umbrales de stress-strain que controlan biomecánicamente las diferentes etapas de formación ósea (Gagliardi y Rosemffet, 2001). (Figura 10, Roberts 2002).

Las células óseas son sensibles a las fuerzas (deformación). La historia de picos de deformación de cargas dinámicas (ciclo normal) está relacionada con la magnitud y frecuencia de las cargas funcionales. A medida que aumenta el pico de deformación del ciclo de cargas, la jerarquía fisiológica responde de la siguiente forma:

- Prevención de la atrofia ósea.

- Mantenimiento de la masa ósea.
- Hipertrofia ósea.
- Sobrecarga patológica (fallo por fatiga).

Esta relación escalonada de efectos que conllevan a la deformación ha sido ampliamente aceptada, pero debemos recordar que la deformación que controla estos eventos puede ser específica por área y para cada especie (Roberts, 2002).

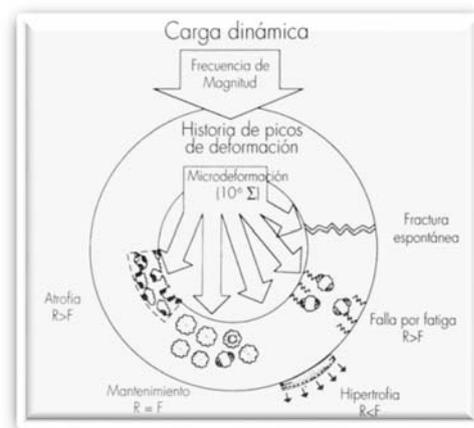


Figura 10: Teoría del Mecanostato.

El mecanismo por el cual este proceso incrementa la masa ósea no es bien conocido; al respecto se mencionan influencias neurales, vasculares, hormonales, así como la generación de campos eléctricos que favorecen el trofismo del hueso. De todos modos es difícil precisar con exactitud cuál es la verdadera influencia del ejercicio sobre el hueso porque no hay instrumentos de medición válidos para objetivarla, por lo que hay que ser muy cauto al sacar conclusiones sobre los informes que relacionan el trabajo físico con la masa ósea dado que metodológicamente muchos de ellos no son comparables (Gagliardi y Rosemffet, 2001).

La inactividad y la inmovilización producen pérdidas de la masa, la fuerza y la contracción muscular; la ausencia de presión o tensión transmitida al hueso genera su pérdida. El reposo prolongado en cama, la parálisis parcial o total de los miembros inferiores, tal como le sucede a los pacientes que tienen lesiones medulares o la

ingravidez (astronautas) son algunos ejemplos de osteoporosis de causa mecánica. Por otro lado, la tensión y la carga generada por el movimiento son estímulos para el hueso que varían según la actividad desarrollada y su intensidad (Gagliardi y Rosemffet, 2001; Kiliaridis y cols., 1998).

De acuerdo a estos amplios conceptos, la mayoría de los estudios clásicos han demostrado la influencia de los mecanismos de respuesta del aparato masticatorio, a las fuerzas que soporta durante su función, es importante su conocimiento, en la integración de los efectos de la masticación sobre el crecimiento y desarrollo de la cara. Mientras que múltiples factores genéticos y ambientales influyen sobre el crecimiento facial, varias líneas de estudios, sugieren que los cambios en la consistencia de la dieta y los relacionados con la tecnología del procesamiento de la comida, contribuyen en alguna proporción a las variaciones en el tamaño, forma y características del esqueleto y musculatura faciales (Lieberman, 2004, Kiliaridis 2006; Corruccini y Whitley, 1981).

Basados en la evidencia experimental y antropológica, los investigadores defienden que factores ambientales, especialmente la consistencia física de la dieta, afectan al desarrollo del aparato masticatorio creando variaciones en el fenotipo oclusal (Becher, 1981).

Otros estudios encontraron una correlación histológica, con una disminución significativamente menor en los sistemas haversianos secundarios presentes en los cuerpos mandibulares de primates con dieta blanda en comparación al resto alimentados con dieta dura (Bouvier y Hylander, 1981).

En general, la literatura que muestra asociación entre la función de los músculos masticatorios, y las características macro y microscópicas del esqueleto facial es enorme (Kiliaridis, 2006).

El metabolismo y biomecánica del sistema óseo deben ser bien conocidos para el uso del MI como las diferencias del tejido óseo entre el hueso maxilar y mandibular y su reacción ante las cargas recibidas. Importantes estudios sobre la adaptación del sistema óseo al medio mecánico, que se produce mediante cambios en la masa ósea, la

distribución geométrica, la organización de la matriz y la orientación de las laminillas. Una función normal ayuda a construir y mantener la masa ósea por lo contrario los huesos con carga inferior a la óptima se atrofian como resultado del aumento de la frecuencia del remodelado y la inhibición de la formación de osteoblastos (Roberts, 1989, 2006; Tanaka y cols., 2005).

En esta situación las conexiones, entre las trabéculas se pierden y las corticales se adelgazan desde la superficie endóstica (Roberts, 2006).

Los efectos de la consistencia de la dieta y el impacto que ejerce la musculatura sobre el desarrollo de los maxilares están hoy ampliamente demostrados por el mundo científico y no será necesario extendernos aquí; los que son variados son los escenarios en los que se produce y derivan las diferentes investigaciones.

La mayoría de los estudios clínicos y experimentales sobre MIs sólo han considerado la falta de estabilidad y la pérdida de los MIs desde aspectos diferentes a los propuestos en esta tesis. Por ello, no hemos encontrado estudios que traten de valorar la impronta de la influencia de la consistencia de la dieta sobre la estabilidad de los Microimplantes.

2.2 POSIBLE TOXICIDAD DE METALES PESADOS EN RELACIÓN A LOS MICROIMPLANTES

2.2.1 MICROIMPLANTES EN TRATAMIENTOS MULTIDISCIPLINARES

Los tratamientos de ortodoncia desde siempre fueron casi en exclusiva propiedad de pacientes en crecimiento. Durante el siglo pasado en 1960 aproximadamente más del 95% de los tratamientos estaban dirigidos a niños y adolescentes. A finales de la década de 1990 esa cifra había aumentado por encima del 20 % ganado por pacientes adultos, que recibían tratamiento de ortodoncia. De hecho según Bravo, (2007) y Proffit, (2008) en los últimos años la ortodoncia se ha convertido en una rama cada vez más importante de la odontología, tendencia que es probable se mantenga, ante la alta prevalencia en la demanda y extensivamente en la edad (Bravo, 2007; Proffit, 2008) de los pacientes.



En el presente convivimos con una exacerbación de los valores estéticos, que influyen de manera notable en la imagen personal, actividad social, y hasta en el suceso laboral. Esto ha impactado de lleno en la actividad ortodóncica. Por lo expuesto se deduce claramente el aumento de pacientes adultos que requieren de tratamiento ortodóncico de forma independiente o como parte del tratamiento odontológico multidisciplinario (Cabaña y Parmigiani 2013).

Por ello, los microimplantes (MIs) han sido aceptados como una de las herramientas más efectivas en el control del anclaje dentario, como anclaje provisional, durante el tratamiento de ortodoncia. No solo es eficiente el MI en el control de anclaje para conseguir un óptimo resultado, sino también por reducir la duración del tratamiento, llevando al mínimo la colaboración del paciente. Estas condiciones hacen que los microimplantes sean cada vez más utilizados en tratamientos multidisciplinarios en adultos (Cabaña y cols., 2008; Park, 2009).

Pero una de las preocupaciones que nos encontramos en la actualidad es la presencia, sobre todo en pacientes adultos, de aleaciones metálicas y restauraciones de amalgamas que pudieran interactuar con las aleaciones que trabajamos en ortodoncia (brackets, ligaduras, arcos, microimplantes),(Cabaña, 2014). (Figura 6, 7).

Según la Asociación Dental Americana (ADA), los metales utilizados en odontología se clasifican en aleaciones altamente nobles, con 60% o más de su contenido en algún metal noble como oro, platino o paladio entre otros, y titanio o aleaciones de titanio con un contenido igual o mayor del 85% de este metal; aleaciones nobles con una proporción igual o mayor al 25% de metales nobles y aleaciones con predominio de materiales base en el que el metal noble está presente en menos del 25%.

De acuerdo a lo anteriormente mencionado el uso de aleaciones metálicas en forma de prótesis estomatológicas (puentes, coronas, implantes, etc.) sumadas a las obturaciones de aleación de mercurio, amalgamas dentales, que pueda llevar el paciente, más las aleaciones que encontramos a menudo en la composición necesaria de alambres y brackets para llevar a cabo el propio tratamiento de ortodoncia, hacen

que todo este material, sumergido en un medio bucal sea potencialmente corrosivo como viene descrito en la literatura. Actuando juntas las propiedades iónicas, térmicas, microbiológicas y enzimáticas del medio oral pueden conducir a la degradación de los metales donde ha de asumirse que el paciente puede sufrir algún grado de exposición a los productos de corrosión de estas aleaciones (Matasa, 2006).

2.2.2 OXIDACIÓN Y CORROSIÓN GALVÁNICA DE LOS METALES

Cuando se utilizan materiales metálicos no solamente se deben tener en cuenta sus propiedades físicas y mecánicas en boca sino también su posible reactividad con el medio en el que van a actuar. Los metales pueden sufrir un daño químico o electroquímico; un daño químico es la oxidación que sufre un metal en un medio que contiene oxígeno. La oxidación es la pérdida de electrones y depende de la facilidad con que el átomo metálico puede perder electrones (Machi, 2002).

Metales alcalinos como el sodio, el potasio, el calcio se oxidan con facilidad. No así los metales nobles como el oro y los del grupo de platino (platino, paladio, iridio, rodio, osmio, ruterio) que mantienen firmemente sus electrones.

Este tipo de corrosión representa una combinación de mecanismos de oxidación y de solubilización. La velocidad de corrosión depende de la facilidad con que el metal pierde sus electrones y del tipo de líquido en que esté sumergido. En soluciones ácidas y PH ácido se acelera la corrosión. Al interactuar dos metales, la producción de iones y electrones sumergidos en una solución crea un potencial eléctrico. El metal que tiene mayor potencial de electrodo actuaría como ánodo, mientras el otro lo hace como cátodo. Así como el ánodo se corroe, el metal que actúa como cátodo puede cubrirse con productos de reacción con aniones y pigmentarse (Macchi, 2002).

La liberación de iones metálicos puede producir diferentes tipos de toxicidad y reacciones patológicas al incorporarse al organismo (Case y cols., 1994; Frisken, 2002). Múltiples estudios evidencian las reacciones orgánicas al emplear aleaciones

metálicas en medios agresivos como lo es la cavidad oral (Barret y cols., 1993; Hwang y cols., 2001).

Algunas aleaciones de metales no noble pueden emplearse en el medio bucal, previamente pasada por el fenómeno de pasivación, en combinación con algunos metales como el cromo, es capaz de formar una capa de óxido pasivadora. También lo hacen el aluminio y el titanio (Macchi, 2002).

2.2.3 CORROSIÓN Y MICROIMPLANTES

Hanawa (2004) ha demostrado que el cobalto de la aleación de cobalto-cromo, el níquel a partir de acero inoxidable y vanadio de la aleación de Ti-6Al-4V podrían liberarse (Hanawa, 2004). Los pequeños porcentajes de Al y V liberados de las aleaciones podrían ser potencialmente tóxicos en los fluidos corporales (Zaffe D y cols., 2003; De Moraes y cols., 2009). La corrosión de los mismos podría limitar la 'vida de un Microimplante' provocando un fallo mecánico, ya que se produce en los implantes de cadera, placas óseas, y minitornillos (Chassot y cols., 2004; Olmedo y cols., 2003, Frisken y cols., 2002; Gritsch y cols., 2012). Los MIs como el resto de los dispositivos que se sumergen en el ambiente oral, forman una película de óxido de superficie pasiva para resistir la corrosión. El óxido de la superficie desempeña un papel importante en el proceso de corrosión debido a sus propiedades mecánicas y electroquímicas que pueden afectar el proceso de fractura y repasivación (Goldberg y cols., 2004). Aunque es un metal inerte, otros estudios indican toxicidad sistémica asociada a fallos de la osteólisis y peri-implantitis (Danesh-Meyer, 1994) y la toxicidad en los macrófagos (Valles y cols., 2008).

Patil y cols. (2015) han mostrado que el daño inducido en la superficie de los MIs por la corrosión y cráteres es mayor en el grupo de MIs recuperados frente a los MIs recuperado que han fallado. En sus investigaciones encontraron que la composición elemental de la superficie recuperada MIs estaba dentro de la norma ASTM. El MI recuperado mostró adsorción de oxígeno, nitrógeno, calcio, fósforo, hierro, flúor, sodio, cloro, magnesio, cerio y potasio. Las alteraciones de la superficie

se observaron con mayor frecuencia en la región del cuerpo en las roscas y las fracturas de la región de la punta del MI dado su reducido espesor (Patil y cols., 2015). En cuanto a metales pesados y elementos traza liberados durante la corrosión de los MIs, calcio (Ca ++) fue mayor en el grupo de los no recuperados MIs (región del cuerpo) y hierro (Fe), que aumentan en las cuatro áreas del MI fallido en comparación con la región del cuerpo del recuperado correctamente. Además, el cerio (Ce) estaba en mayor proporción en la cabeza y el cuello del MI que en las regiones del cuerpo y la punta de la MIs recuperado. Por otro lado, los niveles de cerio se incrementaron en las regiones de cabeza y cuello de los MIs, aunque estos aumentos parecen ser atribuidos a la composición de la dieta de los tubérculos cultivados en suelos ricos en cerio y agua.

El calcio y el cerio mostraron más variabilidad que otros iones y oligoelementos en el estudio de Patil y cols. (2015). La película de óxido de titanio en la superficie no está completamente oxidada y es relativamente reactiva ya que el calcio y el fosfato podrían finalmente precipitar. Otros elementos traza asociados a la estabilidad de los MIs como el hierro que se asocia con MIs fallidos (Patil y cols., 2015). Este aumento de los niveles de hierro provienen del aumento del flujo sanguíneo y las condiciones locales de la inflamación en la periimplantitis, ambos asociados con el fracaso del 30% de microtornillos no exitosos (MI) y la mayoría de los implantes (Miyawaki y cols., 2003). Por otra parte, el efecto de aluminio sobre la viabilidad celular depende de la rugosidad de la superficie, tratamiento de superficie de MI (Hiromoto y cols., 2004).

Hwang y cols. (2001) detectaron niveles Ti por debajo del límite de detección de la técnica analítica empleada ($<0,3 \mu\text{g} / \text{ml}$) en los estudios de ortodoncia. Aunque, cierta controversia discute la seguridad de los metales en las aleaciones (Ti-6Al-4V) en los tratamientos de ortodoncia, comparados frente a los implantes en pacientes (Hwang y cols., 2001). Se sabe que la liberación de iones metálicos (Ti-6Al-4V) está muy por debajo de sus límites de toxicidad en modelos experimentales (De Moraes y cols., 2009). Estos estudios han detectado que la liberación de iones metálicos de MI

(Ti-6Al-4V) estaba muy por debajo de los niveles que se asociaron a la ingesta diaria recomendada (2 y 2 ng / ml para Ti y Mn, respectivamente). Weingart y cols. (1994) mostraron altos niveles de Ti en los ganglios linfáticos de perros (0,01-9,0 ppm) después de 40 semanas de la colocación del MI (Weingart y cols., 1994).

Bajo condiciones ácidas, Barrett y cols. (1993), informaron ligeros aumentos de iones Ni en la solución que contiene el aparato sumergido con alambre de Ni-Ti en comparación al aparato con SS alambre (Barret y cols., 1993; Hwang y cols., 2001; Mikulewicz y cols., 2011; Kuhta y cols., 2009) mostraron que cambios en el pH se asocian a la liberación de Ni en varias aplicaciones de ortodoncia (Kuhta y cols., 2009; Gürsoy S y cols., 2005). Otros factores que contribuyen a las condiciones ácidas son las bebidas carbonatadas y productos que contienen fluoruro, tales como pastas de dientes y enjuagues bucales. El fluoruro aumenta la susceptibilidad a la corrosión de algunos metales, especialmente de titanio (Golvano y cols., 2015).

Otro estudio no encontró diferencias significativas en la liberación Ti, y lo que se asocia con implantes exitosos frente a la liberación de Ti después de fracaso del implante y la inflamación local asociada (Jacobs y cols., 1998, 2008). En estos estudios, factores tales como diferentes períodos de implantación, diferentes modelos animales y el tamaño de los implantes/MIs son claves en los diferentes resultados obtenidos (Friskén y cols., 2002). Sin embargo, las fuerzas mecánicas de fricción durante la colocación y retirada del MI no contribuyen a las principales alteraciones en su superficie. Además, titanio (Ti), vanadio (V) y aluminio (Al) como principales contribuyentes de MI aunque el oxígeno, nitrógeno, calcio, fósforo, hierro, flúor, sodio, cloro, magnesio, cerio y potasio también pueden estar presentes en los MIs. De hecho, el oxígeno está relativamente presentes en mayor proporción en los MIs recuperados que en el grupo de control de los MIs (Iijima y cols., 2015).

Aparte de la periimplantitis, los cambios relacionados con el hueso también contribuyen al fracaso del MI, ya que el cuerpo y la punta de los MIs están en contacto con el hueso, y expuestos a estrés y tensiones. La formación de una biopelícula en el

implante es otro factor que provoca el ataque bacteriano al sistema óseo circundante, que junto con la inflamación local y el desgaste de partículas restantes puede conducir a la pérdida de los implantes (Jacobs y cols., 1998) y en extensión, falta de estabilidad de los MIs. Estos iones metálicos podrían migrar a los órganos distales (Case y cols., 1994; Frisken y cols., 2002).

De Morais y cols. (2009) demostró niveles elevados de Ti, Al y V en los tejidos (riñón, hígado y pulmón) después de 1, 4 y 12 semanas de la colocación en las tibias de conejos de Ti-6Al-4V de los mini-implantes (De Morais y cols., 2009). Sin embargo, la extrapolación de estos resultados en ortodoncia debe tomarse con cautela ya que la liberación de los metales en la boca es diferente frente a la evidencia en los casos de mini-implantes demostrados en este estudio (De Morais y cols., 2009).

Por otro lado, estos aumentos no alcanzaron el límite de toxicidad. El tratamiento de la superficie del Ti y sus aleaciones inducen la curación ósea más rápida en los implantes, la mejora de la osteo-integración aunque el aumento de la liberación de metales pesados en la superficie MI mejora su reactividad (De Maetzu y cols., 2003).

Estos complejos de proteínas de metal son reconocidos por las células inmunes y provocan respuestas alérgicas específicas en pacientes que conducen a un aflojamiento aséptico de implantes (Martin, 2004). De hecho, los complejos proteína – titanio podrían actuar como haptenos no clásicos (Thierse y cols., 2005; Jacobs y cols., 1998), que son reconocidos por los linfocitos T.

Los niveles de seguridad de Al en pacientes con empastes dentales todavía no se han establecido (Cabaña-Muñoz y cols., 2015a), a pesar de la posible implicación del aluminio en la enfermedad de Alzheimer, aún cuando no se ha estudiado una relación causa – efecto asociada a la presencia de amalgamas dentales.

Por otro lado, el V (vanadio) se puede acumular en el cuerpo, induciendo alteraciones biológicas en pacientes que tienen aflojamiento aséptico de los implantes

(Brien y cols., 1992). Sin embargo, su liberación en MI es mínima y ésta por debajo del límite permitido de toxicidad que se observó en los tejidos en el estudio de los conejos (De Morais y cols., 2009). Por otro lado, la toxicidad de V no representa un alto riesgo para la salud en los pacientes con implantes.

A continuación, se describe brevemente el papel de los biomarcadores de exposición a metales pesados y la implicación de los sistemas antioxidantes SOD-1 y Glutación.

2.2.4 METALES PESADOS Y SU INFLUENCIA SOBRE EL ORGANISMO

Los metales pesados son compuestos ubicuamente presentes en la corteza terrestre y muchos de ellos son esenciales para la vida en cantidades infinitesimales. La actividad humana ha conducido al incremento de exposición a metales en el medio terrestre, considerando prioritarios la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) metales pesados como el Pb, Cd, Hg y Zn dentro de una lista prioritaria de 129 contaminantes (USEPA, 2013). En este sentido, metales pesados como el mercurio (Hg), Aluminio (Al), Cadmio (Cd), Plomo (Pb) importantes desde el punto de vista toxicológico y otros como el Zinc (Zn) y el Cobre (Cu) se consideran metales esenciales. Algunos actúan como co-factores de la actividad enzimática de enzimas con capacidad detoxificante como la SOD-1 Cu/Zn dependiente o SOD-2 Mn dependiente, que han sido objeto de estudio en pacientes odontológicos de la presente tesis. No obstante, la exposición a elevadas concentraciones por encima de sus mecanismos de regulación puede conducir a efectos perniciosos en los organismos (Diamond y cols., 2015).

La actividad humana como consecuencia del progreso ha aumentado la contaminación ambiental por actividades como la minería, la incineración (especialmente para el mercurio) o procesos metalúrgicos o bien actividades derivadas de la agricultura, entre otras (UNEP, 2013).

A pesar de que los metales pesados son contaminantes ambientales con una

baja tasa de biodegradación en el medio, la implementación de medidas restrictivas en su uso ha permitido reducir bastante la contaminación ambiental por metales pesados y otros xenobióticos (Casteleyn y cols., 2015).

El uso de técnicas analíticas para medir sus niveles permite también biomonitorizar la posible toxicidad de metales pesados en el medio ambiente y en organismos mediante el uso de biomarcadores de exposición. La concienciación medioambiental y las normativas/decretos bioregulatoras para reducir su emisión atmosférica reducida ostensiblemente sus efectos perniciosos aunque hoy en día persisten aún sus efectos nocivos.

Por otra parte, el avance científico en el uso de nuevos biomateriales odontológicos más biocompatibles han reducido la exposición a metales pesados en el ámbito odontológico. Sin embargo, y a pesar del uso de medidas reguladoras persisten casos de susceptibilidad a metales por las amalgamas o implantes en pacientes, especialmente mercurio, alergias a nickel o cromo-cobalto en pacientes con tratamientos de ortodoncia debido a la corrosión galvánica. Por ello, la interacción entre iones metálicos de prótesis presentes con anterioridad en boca y su posible liberación por corrosión podría conducir a toxicidad y en sinergia con amalgamas o implantes, que están de forma permanente en boca frente al corto periodo de tiempo presente en boca de los tratamientos de ortodoncia.

Numerosos estudios avalan las técnicas analíticas como la espectrometría de masas (ICP-MS) para fácilmente detectar cantidades infinitesimales de metales /oligoelementos (Puchyr y cols., 1998), ya que se trata de una técnica sencilla y económica para poder monitorizar los niveles desde metales pesados en muestras biológicas (Fossi, 1994). De hecho, existe un reglamento europeo REACH que incluye un sistema de registro integrado de sustancias y productos químicos nocivos para la salud animal y humana (consultar normativa REACH en la literatura). En este registro se indican biomarcadores para monitorizar el grado de exposición a sustancias nocivas para la salud humana, incluyendo metales pesados. A continuación, se

describen brevemente las vías de absorción, distribución y excreción de los principales metales pesados en amalgamas dentales, especialmente Hg, Al, Ag, Ba, Cu, Zn, Sn, que son los constituyentes prioritarios de los empastes.

2.2.4.1 MERCURIO

2.2.4.1.1 HISTORIA DEL MERCURIO

El mercurio es un elemento químico que a temperatura ordinaria es un metal líquido de color plateado, brillante y muy denso. Ocupa el lugar 80 de la tabla periódica de los elementos. El símbolo del mercurio es Hg que se deriva de la palabra griega hydrargyros, la cual significa "agua plateada" (Goldwater, 1972). Los romanos llamaron al mercurio "Argentum Vivum", que significa "Quick Silver" o "plata líquida" debido a que era el único elemento conocido que era líquido a temperatura de ambiente.

El mercurio es conocido desde la antigüedad y ha sido utilizado por casi todas las culturas (Goldwater, 1972). Se creía que podía prevenir enfermedades tales como reumatismo, disentería y cólicos. Aristóteles recomendaba este elemento diluido con saliva para tratar ciertas enfermedades de la piel. En algunos lugares los agricultores lo usaban para producir mejores cosechas.

Los árabes usaban el mercurio como parte esencial en medicamentos para tratar enfermedades de la piel. Los italianos adoptaron estas ideas y usaron el mercurio como tratamiento en contra de los piojos y la sarna (D'itri y D'itri, 1977) (Sunderman, 1988).

En la Edad Media comienzan a identificarse los efectos adversos del uso de mercurio. Muchos de los trabajadores de las minas de mercurio en España se enfermaron gravemente o murieron de intoxicación (D'itri y D'itri, 1977).

Paracelsus, en la Edad Media, fue el primer hombre que intentó explicar los efectos adversos del mercurio en el ser humano.

El pensó que lo peligroso del mercurio era aplicarlo externamente y que ingerirlo no haría daño pues el cuerpo lo eliminaría en forma de sudor, excreción u orina. Otros mercurialistas recomendaban el uso del elemento en forma de ungüentos, ingerido, y hasta inhalado. A corto o largo plazo, el enfermo empeoraba y se hacía susceptible a otras enfermedades que podían causarle la muerte.

En el siglo XVI, se amplió el conocimiento sobre los efectos adversos del mercurio, y comenzó a disminuir su uso. Para el año 1557, el francés Jean Fernel fue el primero en describir los síntomas y signos del envenenamiento con mercurio. Para ese entonces, el mercurio era utilizado en la medicina como antidiurético. El mercurio fue la primera sustancia en ser objeto de legislación para controlar las enfermedades que causaba (Goldwater, 1972).

2.2.4.1.2 APLICACIONES

Se le consideró un metal pesado, algo que sucede cuando el elemento posee una densidad relativamente alta y resulta tóxico en cierta medida para los seres humanos. El mercurio se usa en termómetros ya que su coeficiente de dilatación es prácticamente constante. Se utiliza también en otros tipos de aparatos científicos como la bomba de vacío, barómetros y rectificadores e interruptores eléctricos.

El vapor de mercurio se usa en lámparas como fuente de rayos ultravioleta para usos domésticos y en procesos de esterilización del agua. El mercurio se combina con todos los metales comunes, excepto hierro y platino, para formar aleaciones que se llaman amalgamas.

Las amalgamas de zinc y sodio se utilizan como agentes reductores. La amalgama de plata y estaño se usa aún en la actualidad como relleno para las obturaciones dentales. El mercurio puede aparecer en insecticidas, vacunas, colorantes, protectores para la madera, etc.

Forma amalgamas con los metales alcalinos y con otros metales como el oro, la plata y el plomo. Estas aleaciones se descomponen con el calor liberando el mercurio.



Es ligeramente volátil a temperatura ambiente produciendo vapores muy tóxicos, y por otro lado se solidifica a presión elevada tomando un aspecto parecido al de la plata (Zhou y cols., 2015).

2.2.4.1.3 MERCURIO (HG): ABSORCIÓN, ACUMULACIÓN Y ELIMINACIÓN

El mercurio está presente en la cadena trófica. En condiciones normales es absorbido, usualmente como metilmercurio, por algas al inicio de la cadena trófica, que son consumidas por peces y otros organismos del eslabón superior de la cadena trófica. Los peces absorben completamente el metilmercurio (lo eliminan en cantidades muy pequeñas). El metilmercurio no se excreta al no ser soluble y se acumula fundamentalmente en el tejido adiposo de organismos superiores en la cadena trófica, ya que la bioacumulación de mercurio por otros predadores contribuye a la biomagnificación de los niveles de mercurio en la cadena trófica. Como ejemplo el arenque tiene concentraciones de 0.01 ppm de millón y el tiburón blanco mayores de 1 ppm (EPA). Por tanto, uno de los principales factores ambientales que pueden contribuir a los niveles de mercurio encontrados en los organismos, incluido el hombre, es el consumo de pescado (Nielsen y cols., 2015), siendo el selenio y los curcuminoides "antídotos" (fitonaturales) frente a la intoxicación por metales pesados (Bjørklund, 2015; Cabaña-Muñoz y cols., 2015b). El mercurio puede aparecer en forma de vapor de mercurio o como metilmercurio y puede ser liberado de las amalgamas dentales (Eyeson y cols., 2010).

Existen numerosos estudios que han evaluado la toxicidad del mercurio y los límites de exposición al vapor de mercurio en humanos, sobre todo durante la extracción de las amalgamas dentales (EPA, 1997; Eyeson y cols., 2010), aunque éstos niveles de emisión pueden variar en función de la Agencia estatal que determina los niveles de emisión (Richardson y cols., 2009).

El mercurio fundamentalmente existe en tres formas: inorgánico, orgánico y elemental o metálico. El mercurio inorgánico puede ser tóxico, ya que podría causar



problemas renales. La absorción del mercurio depende del tipo de la forma en que esté presente el compuesto, bien sea orgánica o inorgánica, ya que el mercurio a temperatura ambiente en su forma elemental es metálico (25 ° C) y se volatiliza y libera en forma de vapor de mercurio (Jallad, 2015). Éste hecho ocurre especialmente cuando se produce la retirada de las amalgamas dentales. El mercurio inorgánico muestra una menor absorción gastrointestinal (7 %) en humanos frente al 75 % de la vía inhalatoria por parte del vapor de mercurio, que prácticamente no se absorbe a nivel intestinal (Jallad, 2015).

Por ello, es importante controlar la liberación de vapor de mercurio por la vía inhalatoria durante la eliminación de la amalgama, ya que la mayor parte del mercurio metálico (elemental) podría directamente acceder al sistema nervioso central por su carácter lipofílico y el alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados del cerebro (Lohren y cols., 2015). La principal absorción (90-95 %) del mercurio ingerido es en forma de metil-mercurio y se acumula sobre todo en los riñones (Geier y cols., 2011).

El mercurio se transporta en plasma por proteínas como la albúmina (Valko y cols., 2005), mientras que el metil-mercurio fundamentalmente se acumula en el tejido adiposo y en el encéfalo. Por otro lado, los órganos mercuriales pueden rápidamente descomponerse "in vivo" a mercurio inorgánico (Scheuhammer, 1987) y de 2-3 meses en sangre en aves de la región de Murcia (España) (Espín y cols., 2014).

El mercurio se propaga en la cadena trófica y una vez absorbido se acumula en tejidos grasos siendo su excreción baja. Aunque la mayor parte de la ingestión de mercurio en humanos se debe al mercurio contaminado presente en el pescado, también forma parte de termómetros y es el principal componente de las amalgamas dentales. Dado que se presupone una vida media de 2 a 3 meses para el mercurio inorgánico, su determinación constituye un marcador agudo de exposición (Scheuhammer, 1987).

El mercurio en su forma líquida se absorbe poco en el tracto gastrointestinal.

Por otra parte el mercurio elemental emite gases en forma de vapor de mercurio, que es realmente absorbido y transportado en sangre a la membrana de los alveolos y atraviesa la barrera hematoencefálica al ser directamente inhalado, accediendo al sistema nervioso central e induce neurotoxicidad (Roberts y Charlton, 2009). Finalmente, el mercurio se excreta través de las heces y de la orina (Scheuhammer, 1987).

La exposición a mercurio puede ocasionar sintomatología en humanos, pero pueden pasar años hasta que aparecen ciertos síntomas es de carácter insidiosa. Sin embargo, la exposición aguda a metil-mercurio podría producir sintomatología en pacientes como temblores, siendo la enzima láctico deshidrogenasa LDH un marcador de daño (Merino JJ y cols., 2014). Además, el metil-mercurio puede reducir la actividad de la enzima AST, que compite con otros elementos esenciales como el zinc o el calcio, entre otras (Bhasin y cols., 2014).

El mercurio constituye el componente mayoritario de las amalgamas dentales (alrededor de 50 % en peso), con la plata que representa un 41 % del total, el estaño (Sn, 31 %), Cu (28 %) y en algunos casos Zn en proporciones menores. Ésta es fundamentalmente la composición de la amalgama dental que portaban los pacientes con empastes en el presente estudio, midiéndose en pelo por espectrometría de masas (ICP-MS). A continuación, se indican una breve descripción sobre la relevancia del mercurio en pelo como biomarcador y su análisis comparativo con el mercurio inorgánico.

2.2.4.1.4 MERCURIO EN EL ÁMBITO ODONTOLÓGICO

Existe amplia controversia sobre la toxicidad del mercurio en el ámbito odontológico y toxicológico (Homme y cols., 2014; Roberts y Charlton, 2009). Parece ser que la exposición diaria en humanos a mercurio es de 1 µg/día asociado a la inhalación de vapor de mercurio y de 1 µg /día asociado a la ingestión de las formas iónicas de mercurio (Clarkson y cols., 1988; Mackert Jr, 1987). En 1999, Ahlqwist y cols., encontraron una correlación positiva en suero entre los niveles de mercurio en

sangre, y el número de empastes en boca en un cohorte de 1462 pacientes, (Ahlqwist y cols., 1999). El mercurio puede provocar fallos renales, neurotoxicidad, alergias entre otros procesos patológicos en humanos (Roberts y Charlton, 2009).

La normativa de la OSHA (Occupational Safe Health Administration, del inglés) Agencia de Seguridad Ocupacional estimó que los niveles permisibles de vapor de mercurio es $0.1 \mu\text{g} / \text{m}^3$ de aire como límite. La LOAEL ("Lowest Observed Adverse Effect Levels") ha estima que la exposición crónica de inhalación (RFC: $25 \mu\text{g} / \text{m}^3$ de aire durante 8 horas diarias; 40 horas/semana), lo que supone un LOAEL ($0.025 \mu\text{g} / \text{m}^3$) (Ngim y cols., 2013; Foo y cols., 2006). Datos disponibles indican que la exposición al vapor de mercurio oscila entre valores de 0.009 a $1 \mu\text{g} / \text{metro cúbico}$ en Canadá (Richardson y cols., 2009). Parece ser que las hembras muestran un mayor riesgo que los machos a la exposición de mercurio en estudios toxicológicos, razón por la cual fundamentalmente elegimos una población de mujeres con amalgamas dentales durante largo periodo de tiempo. Richardson y cols. (2009) propone ajustar los valores de LOAEL y REL para el vapor de mercurio de $0,06 \mu\text{g} / \text{m}^3$ (Drake y cols., 2001; Fawer y cols., 1983; Piikivi y cols., 1989).

Los valores de referencia de exposición publicados están en valores de $0.3 \mu\text{g} / \text{m}^3$, referencia de concentración en aire (RFC según USEPA, 2007). En función de la Agencia de Evaluación Ambiental que evalúa el dato, los valores de LOAEL (Lowest-observed-adverse-effect-level) oscilan entre $25\text{-}26 \mu\text{g} / \text{m}^3$ (Richardson y cols., 2009).

2.2.4.2 MINERALOGRAMA

Generalmente, la determinación del mercurio en orina (U-Hg) sirve para detectar la exposición a mercurio inorgánico en humanos y supone una toma no invasiva de muestra biológica en pacientes y en modelos experimentales (Karimi y cols., 2015). Sin embargo, la fiabilidad del pelo como indicador de los niveles de vapor de mercurio parece ser discutible. Por el contrario, correlaciones significativas entre los niveles de mercurio total en pelo (T-Hg) y mercurio en orina (U-Hg), así como entre los niveles de mercurio inorgánico (I-Hg) y el mercurio total gaseoso en el aire

ambiental parece estar clara. Los niveles de total mercurio en pelo están en rangos de 1 µg/g de pelo, aunque estos niveles pueden estar significativamente incrementados en casos de la exposición ocupacional al mercurio.

El mercaptoetanol, presente en algunos champús elimina el 30 % del mercurio en pelo por lo que se recomienda que no se lave el pelo el paciente durante la toma del mismo. El mercurio inhalado constituye la fracción mayor (97.4 %) del mercurio inorgánico presente en personas expuestas ocupacionalmente al mercurio. De hecho, los niveles del mercurio inorgánico en pelo constituyen una herramienta ocupacional para la determinación de mercurio. Además, que la determinación del U-Hg mercurio en orina mide la exposición aguda y podría ser indicativa de una posible acumulación en riñón (Barregard, 1993; Clarkson, 2002). De hecho, la World Health Organization (WHO, 1990, 1991), Organización mundial de la salud ha reportado que existe una correlación entre los niveles de mercurio en aire y los determinados en orina (Tsuji y cols., 2003). Por otra parte, varios estudios han puesto de manifiesto que existe una correlación entre los niveles de mercurio inorgánico en pelo (I-Hg) y los medidos en orina (U-Hg). Los niveles de mercurio en pelo están 250 a 300 veces más concentrado que en plasma (WHO, 1990).

Factores ambientales como el consumo de pescado podrían interferir con los niveles de mercurio en pelo (Morrissette y cols., 2004; Peterson y cols., 2015). El mercurio se incorpora al folículo piloso en proporción a su contenido en sangre y una vez incorporado en pelo es estable en el tiempo (WHO, 1990). Generalmente, el metilmercurio representa del 80 % al 98 % del total del mercurio medido en poblaciones consumidoras de pescado (WHO, 1990; Dolbec y cols., 2001). Como se indicó con anterioridad, el valor pronóstico del pelo para medir el nivel de vapor de mercurio es discutible, ya que el 80 % de este se inhala y permanece en el cuerpo.

El vapor de mercurio absorbido es oxidado a mercurio divalente inorgánico (Hg^{2+}) en los glóbulos rojos y es transportado a los tejidos y también puede acceder al sistema nervioso central si es inhalado. El principal depósito del mercurio

inorgánico es el riñón, y se excreta por la orina y heces. Por ello, principalmente se considera el mercurio urinario (U-Hg), originado en los riñones, como el principal biomarcador de exposición a vapor de mercurio, y refleja la dosis acumulada de mercurio en el riñón (WHO, 1991).

Varios estudios han validado y refrendado el análisis de mercurio en pelo como un método bioindicador fiable y validable (Li y cols., 2015; Rajae y cols., 2015.). Un reciente estudio ha medido los niveles de mercurio total, en plasma, orina, pelo y uñas en 40 trabajadores de GOLDSMITH, con valores medios de mercurio en pelo de 4.21 µg/g, plasma (11.8 µg/L), orina (167 µg/L), uñas (5.91 µg /g) donde fueron tan altos como el control RBCs (1.64 µg L⁻¹), plasma (0.55 µg L⁻¹) (Gul y cols., 2015). Recientemente, Li y cols. (2015) evidencian en trabajadores del arroz concentraciones de metil mercurio MeHg medias de 2.07 ± 1.79 µg/g, y de MeHg en sangre de 2.20 por 9.36 µg/L. Los niveles de MeHg constituyeron en este estudio el 52.8 ± 17.5% y 71.7 ± 18.2% del total del mercurio en sangre y pelo, respectivamente. En este estudio, los niveles de MeHg no mostraban variaciones mensuales (Li y cols., 2015).

Por ello, y dada la exposición en dentistas durante su práctica clínica diaria y los niveles de exposición al mercurio en pacientes con amalgamas dentales, conviene extremar las medidas de seguridad durante la extracción de empastes dentales con protocolos seguros (Cabaña-Muñoz y cols., 2015b).

2.2.4.3 ALUMINIO (Al): ABSORCIÓN, ACUMULACIÓN Y DISTRIBUCIÓN

El Aluminio (Al) es un oligoelemento no esencial presente en sangre a concentraciones de 2-4 µg /100 ml y en suero en concentraciones menores de 10 µg /100 ml. El Al se concentra fundamentalmente en los pulmones, hígado y en los órganos genitales. La ingesta de Al está próxima a 10 mg diarios, dependiendo del lugar de recogida de los nutrientes. La absorción del Al se produce en el intestino delgado asociado al hierro (Fe), pero también pueda absorberse en el estómago o

directamente por inhalación. La absorción del Al en el intestino se favorece por la vitamina D. Su acumulación se produce en cerebro, pulmones, hígado, tiroides y se elimina por las heces, y en menor medida por la vía renal y biliar (Marco, 2003; Bhasin y cols., 2014).

2.2.4.4 PLATA (Ag): ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y ACUMULACIÓN

En principio no se ha demostrado su esencialidad y la concentración en suero debe ser muy baja (menos de 1 μg /L). Su toxicidad en principio es baja, pero en forma de sales puede ser muy tóxica, ya que se puede formar nitrato de plata, plata clorada, sulfato de plata y óxido de plata. La plata presenta un grado de absorción bajo, por lo que su toxicidad es baja, y se ha observado en casos de fallo renal agudo. Existen altos niveles de plata hepática en casos de fallo renal crónico.

Por otro lado, la plata tiene interacciones metabólicas con el cobre (Cu) y el Selenio (Se), ya que la plata actúa como un antagonista dietario del cobre (Oh y cols., 1981). La plata puede acentuar los signos de déficit de cobre. La plata se absorbe poco, fundamentalmente a través de la mucosa oral, garganta y tracto digestivo.

Se sabe que la toxicidad inducida por plata produce anemia y argirosis. De hecho, en trabajadores expuestos a altos niveles de plata se observa una coloración en piel e irritación de garganta y dolor de estómago como consecuencia de su toxicidad (Marco, 2003).

2.2.4.5 BARIO (Ba): ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y ACUMULACIÓN

En principio, se desconoce la función fisiológica de este oligoelemento no esencial denominado bario (Ba). El bario constituye un inhibidor de la absorción del calcio (Ca).

2.2.4.6 COBRE (Cu): ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y ACUMULACIÓN

La mayor parte del cobre (90 %) se transporta en plasma unido a una proteína

plasmática denominada ceruloplasmina y el 10 % restante se une a la albúmina mientras que una fracción pequeña forma complejos con aminoácidos como la Histidina o Treonina. El 2 % el cobre que se transporta en plasma va unido a la SOD-1 de los eritrocitos. El cobre muestra un efecto antagónico sobre el selenio (Se) y la absorción del cobre se disminuye por el cobalto (Co), molibdeno (Mo), vitamina C, ácido fólico, selenio, fitatos o exceso de Zn, éste último compite con las mismas proteínas transportadoras a nivel intestinal. La absorción de cobre es favorecida por los aminoácidos histidina/treonina y se sabe que la ceruloplasmina y la albúmina que facilitan su absorción desde el estómago y duodeno. En el duodeno existen células que contienen metalotioneina. La deficiencia de cobre aumenta la susceptibilidad de las células al daño oxidativo al disminuir su capacidad para producir SOD-1, pero un exceso de Cu activan reacciones redox en la célula incrementando la producción de lipoperóxidos mediante reacciones de Fenton (Valko y cols., 2005). El cobre se acumula en hígado, y se incorpora a la ferroxidasa, aunque también puede acumularse en riñones, médula ósea y cerebro. La eliminación de Cu se realiza a través de la bilis y se elimina por orina.

Entre otras funciones fisiológicas, el cobre facilita la absorción del hierro, favoreciendo su movilización y captación por parte de la transferrina al intervenir en el metabolismo de la hemoglobina, ya que si no hay cobre no se forma hemoglobina. Existen alteraciones fisiológicas asociados tanto a un déficit como a un exceso de cobre y un exceso de cobre pueden inhibir la conversión de 5 hidroxitriptamina a serotonina (Marco, 2003). El tratamiento de la hipercipremia se realiza con oligoelementos como el selenio y el molibdeno, que antagonizan la función del cobre. Por otra parte, para normalizar sus niveles, es importante considerar los niveles de otros oligoelementos como el hierro (Fe), Manganeso (Mn) o Zinc (Zn), especialmente cuando se suplementa con L-amino ácidos y vitamina B6 en pacientes (Marco, 2003).

2.2.4.7 ZINC (Zn): ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y ACUMULACIÓN

El Zn es un cofactor necesario para más de 300 enzimas y hormonas y se

requiere para la síntesis de ácidos nucleicos y de hormonas tiroideas. El 80 % del Zinc (Zn) está presente en los hematíes como metaloenzima en la anhidrasa carbónica, mientras que en plasma se asocia a la albúmina (15 %) y a eritrocitos (5 %). Aproximadamente un 20-30 % del Zn de la dieta se absorbe directamente por el intestino delgado y yeyuno y se almacenan como unos 2 mg. El Zn se acumula sobre todo en próstata, huesos (30 %), riñones, retina, músculo y piel. El 75 % del Zn se encuentra en los eritrocitos y se transporta en sangre por la transferrina y la ceruloplasmina. La asimilación del Zn en el cuerpo se promueve por la vitamina C, B1, B12, B6 y por carnosina.

Sin embargo, la absorción del Zn puede ser inhibida por sustancias con capacidad quelante, como calcio, fosforo, cobre, selenio, leche, alcohol, carbonatos, fitatos, taninos, entre otros. El Zn es necesario para la síntesis de ácidos nucleicos y forma parte como cofactor de la enzima SOD-1 Cu-Zn dependiente. Otro aspecto reseñable es que actúa como cofactor enzimático de metaloenzimas. El Zn y el Cu estimulan la producción interna de antioxidantes como el glutatión y la SOD-1 (Kuppusamy y cols., 2005), claves como mecanismos de defensa frente a la toxicidad de metales pesados, que posteriormente desarrollo en otros puntos de la introducción. De hecho, mutaciones en el gen que codifica Cu/Zn SOD-1 se asocian con esclerosis múltiple amiotrófica o enfermedad de Lou Gehring (Solsona y cols., 2014).

Por otro lado, contribuye a la estabilización de las membranas biológicas acoplándose a grupos tiol y es un inductor de metalotioneínas, evitando que los grupos tiol puedan reaccionar con hierro (Fe). Por otra parte, el Zn puede proteger frente al aumento de PSA (Antígeno prostático) inducido por el cadmio (Cd), que puede estar presente en los fertilizantes. De hecho, el Zn promueve que las metalotioneínas se unan al cadmio (Cd).

Por otra parte, el zinc puede actuar como cofactor en enzimas necesarias para la formación de neurotransmisor serotonina y melatonina e indirectamente afecta al metabolismo de la dopamina (neurotransmisor) (Frick y cols., 2015). El Zn se encuentra relacionado con más de 200 metaloenzimas que participan en vías

metabólicas diferentes. Por otro lado, la toma de cobre disminuye los niveles de Zn, ya que es su antagonista.

Sin embargo, la sobreexposición a Zn incrementa los niveles de metalotioneinas y su descenso aumenta la susceptibilidad al estrés oxidativo. El Zn desempeña una función clave frente a la inducción de estrés oxidativo por metales pesados, ya que al unirse a los grupos SH sulfidrilo (presentes en proteínas como el Glutatión) los protege de su oxidación.

Por otra parte, el Zn al ser un elemento antagónica del cobre es capaz de proteger de la oxidación inducida por metales rédox tales como el Fe y el Cu, al desplazar éstos metales de la zona de unión de la célula evitando que se produzcan reacciones de Fenton, que aceleran el estrés oxidativo (Valko y cols., 2005).

El zinc curiosamente, está considerado como un nutriente nutrigenómico. Más de 22.000 genes se han identificado que responden a diferentes cantidades de zinc (Marco, 2003).

Se sabe que la acumulación de Zn en hígado y la producción de cobre y ceruloplasmina (proteína transportadora de cobre; Cu), provocan un aumento de cobre y una disminución local de Zn en las encías, lo que produce inflamación del epitelio gingival (Luoma y cols., 1984). Por otro lado, es importante considerar que el Zinc (Zn) compite con la absorción de selenio, manganeso, cobre y de hierro. De hecho, el tratamiento prolongado con altas dosis de Zn produce depleción de cobre. Los niveles de Zn en pelo se correlacionan con los alcanzados a nivel tisular (Marco, 2003).

A continuación, dada la orientación en ortodoncia del estudio de los metales en boca se analiza el papel de la liberación de iones metálicos por la corrosión galvánica en pacientes con amalgamas dentales, que podría incrementarse si existe previamente a un tratamiento de ortodoncia. Por ello, se analiza el efecto de la corrosión galvánica sobre el sistema antioxidante.



2.2.5 SISTEMA DE PROTECCIÓN EXÓGENO

Los antioxidantes como las vitaminas C, A, E reducen la peroxidación lipídica y flavonoides y los polifenoles pueden proteger a las membranas celulares y garantizar la integridad de las células. El bioquímico Richard A. Passwater definió un concepto fundamental en el uso de antioxidantes, que algunos autores definen como sinergia antioxidante. Mientras que D. Harman, como ya he señalado, fue el primero en postular que ciertos antioxidantes podrían alargar la vida reduciendo el estrés oxidativo y centró sus estudios en la actividad que cada uno realizaba por separado. Passwater demostró que la sinergia de varios nutrientes antioxidantes resultaba más efectiva que la toma aislada de cada uno de ellos (Hernández, 2012).

2.2.6 BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN A METALES PESADOS Y SISTEMAS ANTIOXIDANTES ENDÓGENOS

2.2.6.1 Radicales libres

Los radicales libres (RL) son átomos o moléculas que contienen oxígeno y presentan un electrón libre en la órbita externa para emparejarse con él (Cheeseman y Slater, 1993; Hernández, 2012).

Los RL se producen durante la transferencia de electrones en la cadena respiratoria en la mitocondrias, en el transcurso de la fagocitosis y en casos de exposición al sol, por acción de los rayos UV. Aunque los radicales libres tienen una vida muy corta, de una milésima de segundo, son tremendamente reactivos y se propaga la producción de radicales libres con extrema rapidez.

Con el fin de evitar la propagación de RL, todas las células vivas (animales y vegetales) poseen un potente dispositivo enzimático. Estas enzimas, que permiten la eliminación de los radicales antes de que comience su acción destructora sobre los



elementos celulares, activa las defensas tales como la Superóxido Dismutasa (SOD), la catalasa (Fe) y la Glutación Peroxidasa (GPX). Para lograr el correcto funcionamiento de estos vitales sistemas antioxidantes, es necesario asegurar el aporte de los catalizadores que las activan: Zn, Cu, Mn, Se, especialmente. El Zinc, además, entre muchas actividades enzimáticas, actúa como protector de las proteínas y del Glutación.

La actividad óptima de la enzima Glutación Peroxidasa (GPX) es inherente a la cantidad y calidad de Glutación, un amino-azufrado tripéptido (N-cisteína, L-glicerina, ácido glutámico), especialmente en su formación activa (GSH o glutación reducido). Una de las mejores maneras de estimular los niveles de Glutación reducido es mediante la ingesta óptima de vitamina C.

A continuación, se indican los radicales libres más importantes

➤ Superóxido (O_2^-)

El superóxido se forma durante el procesamiento normal del oxígeno molecular por parte del cuerpo. Es una molécula de O con un electrón de más, el más común de todos los radicales libres, que induce daños sobre las membranas celulares, las mitocondrias y los microsomas. En casos de deficiencia de SOD, el superóxido seguirá buscando otro electrón y el daño oxidativo estará asegurado.

➤ Peróxido de Hidrógeno (H_2O_2)

Se puede considerar que es un derivado de la descomposición de los superóxido ya mencionados. Aunque no es tan reactivo como estos, también es altamente oxidativo. El poder del peróxido de Hidrógeno o agua oxigenada, es contrastado por las enzimas GPX (Glutación peroxidasa) y catalasa, que protegen frente al peróxido de hidrógeno, desdoblándolo en agua (H_2O) y oxígeno (O_2).

➤ Radical Hidróxilo (OH)

Cuando la GPX no realiza debidamente su labor sobre el peróxido de hidrógeno, antes mencionado, este no se transforma directamente en agua, y el

resultado es un derivado muy tóxico: el radical hidroxilo. En tan solo una milésima de segundo roba un átomo de hidrógeno a cualquier otra molécula, propagándose de manera devastadora. La enzima metionina reductasa y algunos nutrientes antioxidantes podrían prevenir la toxicidad de este radical libre.

➤ Oxígeno Simple (O_2)

Aunque el Oxígeno normal (O_2) es muy estable, al exponerse a la luz solar, el enlace químico se rompe y el oxígeno resultante es (O_2). Por otra parte, existe otra fuente indeseable de radicales libres, que no son derivados de nuestro metabolismo, como los que se mencionan con anterioridad, sino moléculas como xenobióticos ambientales. Entre los más representativos, cabe destacar: gases de escape de los vehículos, cuerpos sulfurados, halógenos, etc., y de las aguas (nitratos, fosfatos, detergentes, etc.), las margarinas de aceite hidrogenados, los alimentos asados o a las brasas, los alimentos carbonizados, los metales pesados (plomo, cadmio, aluminio, mercurio, etc.) de algunos alimentos procesados y derivados de la industria, los aditivos alimentarios, los pesticidas y abonos químicos (Hernández, 2012).

2.2.6.2 Generalidades sobre Biomarcadores

Los biomarcadores de exposición permiten conocer la presencia de un determinado compuesto tóxico en el organismo en cantidades traza o alguno de sus metabolitos de degradación en fluidos o tejidos, por lo que la recolección de muestras como el pelo, orina o sangre es mínimamente invasiva en pacientes para la medida de éstos metales o xenobióticos ambientales.

La producción de especies reactivas de oxígeno (radicales libres) es una de las principales causas asociadas a la toxicidad de metales pesados, bien sea de forma directa o indirecta por la activación de los sistemas antioxidantes endógenos (Valko y cols., 2005). Los radicales libres pueden producir daños en el DNA o los lípidos de la membrana celular, formando lipoperóxidos y alterando el normal funcionamiento celular sobre (ej.: vapor de mercurio tiene alta afinidad por los eritrocitos). La excesiva producción de radicales libres desequilibra el balance entre los sistemas de

defensa antioxidante (ejemplo: SOD-1, catalasa, etc.) y los niveles de moléculas prooxidantes (como por ejemplo: lipoperóxidos – como el malonaldehído) (Valko y cols., 2005). Por tanto la actividad de sistemas antioxidantes podrían constituir un buen biomarcador de la exposición a determinados metales pesados (Kuppusamy y cols., 2005).

Esquema de las reacciones de Fenton producidas por Cu^{2+} o Fe^{2+} , que propagan y amplifican la producción de radicales libres en las células. (Figura 11).

Nuestro trabajo analiza la relación entre niveles de metales pesados y la activación de sistemas antioxidantes endógenos en pacientes odontológicos, que se relata a continuación.

Como consecuencia de la respiración celular se producen especies reactivas de oxígeno (ROS, radicales libres: O_2^- , $\text{HO}\cdot$) las reacciones de oxidación-reducción (Limón-Pacheco y Gonsebalt, 2009).

Una molécula antioxidante al chocar con un radical libre le cede un electrón, privándole de su capacidad reactiva “ataca” a los fosfolípidos de membrana o los ácidos nucleicos (DNA) (Valko y cols., 2007). En el organismo existen varios antioxidantes, entre los que destacan el glutatión (GSH), los carotenoides y flavonoides, el ácido úrico o las vitaminas C y E que ayudan a prevenir éstos efectos perniciosos de los radicales libres.

El principal mecanismo de toxicidad de los metales pesados es la excesiva producción de radicales libres (Ercal y cols., 2001), tal como se reseñó con anterioridad.

En el proceso de eliminación de radicales libres, los metales pesados interaccionan con el metabolismo del Glutatión (GSH) (Jozefczak y cols., 2015). De hecho, la conjugación del metal con Glutatión (GSH) favorece su eliminación por la bilis, pero reduce la capacidad antioxidante del Glutatión (Quig, 1998). Una vez que los metales pesados han agotado las reservas de Glutatión, se sintetiza nuevo GSH gracias a la actividad enzimática de la gamma-glutamyltransferasa GST (Ercal y cols.,

2001).

El agotamiento del Glutati3n no obstante sigue produci3ndose por la presencia de metales pesados y cada vez existe un suministro progresivamente m3s reducido de Glutati3n, que va minando los sistemas de defensa antioxidantes end3genos dependientes de Glutati3n (Stohs y Bagchi, 1995).

Por otro lado, se sabe que un 3nico 3tomo de mercurio (Hg) o bien cadmio (Cd) pueden unirse hasta a dos mol3culas de GSH, provocando su excreci3n (Bridges y Zalpus, 2008).

Cuando esto se produce, existen mecanismos compensatorios activados por otras enzimas detoxificantes que tratan de paliar 3stas deficiencias. No obstante, varias de estas respuestas adaptativas end3genas frente a la toxicidad de metales pesados podr3an ser inactivadas por la uni3n de metales pesados al centro activo catal3tico de las enzimas antioxidantes si 3stas contienen grupos sulfidrilo (SH), como es el caso de GSH (Quig, 1998).

De ah3 que se eleven los niveles end3genos de Glutati3n (GSH) como mecanismo de defensa frente a la presencia de metales pesados paralelamente al incremento las actividades de las enzimas implicadas en el "reciclaje" del glutati3n (GPX, Glutati3n peroxidasa y GR: Glutati3n reductasa).

Adem3s, tambi3n, aumentan los niveles de metalotioneinas (Quig, 1998). Las metalotioneinas muestran una mayor afinidad por el mercurio y el cadmio que por el Zn. Dichas metalotioneinas son dep3sitos intracelulares para el almacenamiento de Cu, Zn, y son especialmente ricas en ciste3na, por lo que son capaces de "secuestrar" metales no esenciales (Quig, 1998).

Los mecanismos de defensa antioxidante frente al estr3s oxidativo operan a varios niveles, ya que el secuestro de metales con capacidad pro-oxidante por la activaci3n de mecanismos redox (Fe y Cu por reacciones de Fenton) por parte

proteínas quelantes (como la ceruloplasmina que transporta el cobre, Cu, o la transferrina que quela el hierro, Fe) evita que se propague la producción de radicales libres al reducir las reacciones de Fenton inducidas por el Cu/Fe. Estas reacciones de Fenton activadas Fe y Cu amplificarían la producción de ROS (especie reactiva de oxígeno).

Por otro lado, la prevención en la formación de radicales libres inducida por metales pesados mediante el secuestro de oxígeno por proteínas que lo utilizan (ej.: citocromo oxidasa o la oxihemoglobina, entre otras) constituye otro mecanismo endógeno de defensa frente al estrés oxidativo (Valko y cols., 2005, 2007).

Otro factor clave de defensa frente al estrés oxidativo consiste en la eliminación catalítica de radicales libres y de especies reactivas de oxígeno por parte de enzimas detoxificantes como SOD-1 (SuperoxidoDismutasa-1), catalasa y antioxidantes tioles específicos. Además, otra línea de defensa se basa en la reducción de radicales libres mediante donadores de electrones como el Glutati6n (GSH), o las vitamina C (Ácido asc6rbico) y E (Alpha tocoferol), el 6cido 6rico y la bilirrubina (Lim6n-Pacheco y Gonsebalt, 2009) que palian la sobreproducci6n de radicales libres inducida por metales pesados.

Finalmente, la eliminaci6n o reparaci6n de mol6culas da±adas (ej.: l6pidos de membrana, fosfol6pidos y el ADN) por la acci6n de proteasas y enzimas reparadoras del ADN, es clave en la inducci6n de respuestas end6genas de defensa frente a los radicales libres (Valko y cols., 2005).

Los niveles de enzimas antioxidantes dependen del tipo de tejido y de c6lula considerada, siendo la mitocondria el principal productor de radicales libres, por lo que contiene altos niveles de Glutati6n y de enzimas detoxificantes SOD-1 y GPX para prevenir la excesiva producci6n de radicales libres (Valko y cols., 2005, 2007).

Las enzimas Glutati6n peroxidasa (GPX), Glutati6n reductasa (GR), Glutati6n-S-transferasa, participan junto a las enzimas detoxificantes SOD-1 y la catalasa en el control de los niveles de radicales libres en situaciones homeost6ticas y/o

patológicas (Valko y cols., 2007; Merino y cols., 2014).

A continuación, se describen brevemente las acciones detoxificante eliminadora de radicales libres por parte de las enzimas SOD-1 y GPX/GR, implicadas en el reciclaje del Glutati6n, que se explica a continuaci6n (Figura 11).

2.2.6.3 Glutati6n

El trip6ptido Glutati6n (GSH, gamma-glutamyl-L-ciste6na) contiene grupos sulfidrilo (SH) por la presencia de amino6cido ciste6na, lo que le confiere su capacidad para donar electrones (Klaassen y cols., 1985). El GSH es sintetizado por la acci6n de la gamma-glutamylciste6na sintetasa (gamma-GCS), que produce la uni6n gamma pept6dica entre el 6cido glut6mico y la ciste6na y la enzima GSH sintetasa agrega la glicina con posterioridad (Lim6n-Pacheco y Gonsebatt, 2009). Los niveles de Glutati6n se ajustan continuamente en la c6lula por el balance entre su s6ntesis, el reciclado del disulfuro de Glutati6n (GSSG) y su uso por sus enzimas (Kidd, 2007).

Por tanto, el Glutati6n representa un importante sistema end6geno antioxidante gracias al poder sulfidrilo (SH) que porta la ciste6na como mol6cula reductora, ya que intercepta radicales libres como el an6n hidroxilo (OH.) y tambi6n es el sustrato de la enzima GPX (Glutati6n Peroxidasa).

Por otro lado, el Glutati6n regula la acci6n de la Glutati6n-S-transferasa como mecanismo protector frente a los radicales libres y protege a las c6lulas de la muerte celular programada por apoptosis (Valko y cols., 2007).

La sinergia de otras enzimas como la GST catalizan la conjugaci6n del GSH con metales mientras que la GR reduce el Glutati6n oxidado (GSSR) a su forma reducida (GSH) (Gurer y Ercal, 2000).

Finalmente, la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (6-GDPH) cataliza la reducci6n de NADP+ a NADPH, cofactor necesario para que se regenere el Glutati6n reducido (GSH) a partir del oxidado (GSSR) (Aquilano y cols., 2014). (Figura 11).

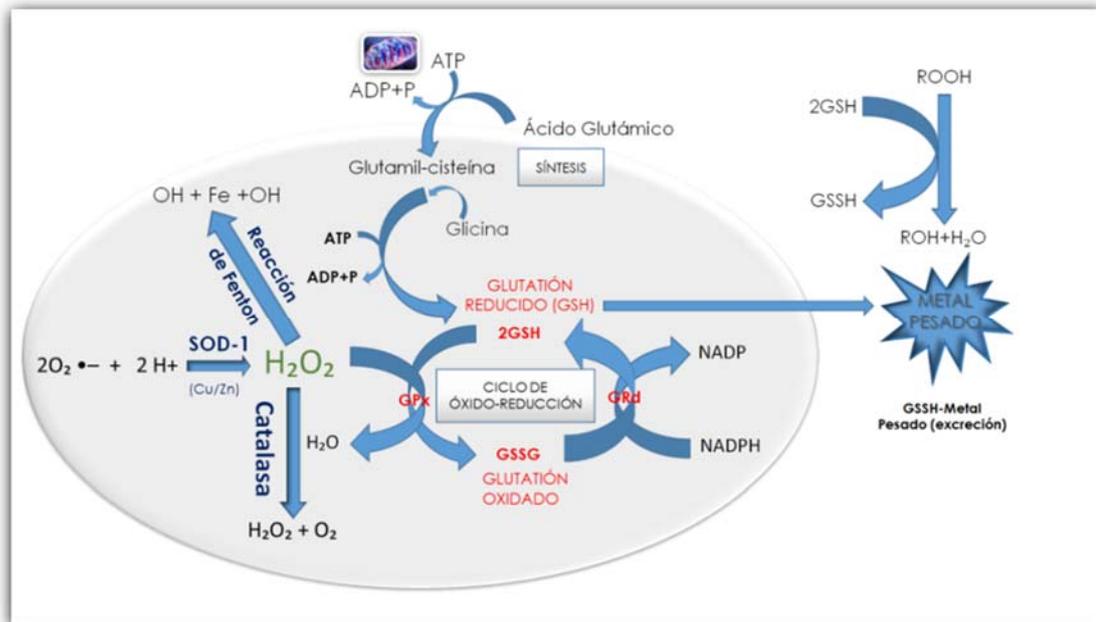


Figura 11: Sistemas antioxidante end6genos en la c6lula (SOD-1, Glutati6n y catalasa) para prevenir la producci6n de radicales libres.

La enzima SOD-1 elimina el an6n super6xido $O_2^{\cdot-}$, produciendo H_2O_2 y ox6geno molecular O_2 . Por su parte, la acci6n de la catalasa elimina 6ste agua oxigenada (per6xido de hidr6geno) generada y produce agua y ox6geno molecular. El Glutati6n es "reciclado" mediante la acci6n del sistema enzim6tico GPX/GR. Las enzimas implicadas en el metabolismo del Glutati6n GPX (Glutati6n peroxidada, que oxida el Glutati6n (GSH) y la enzima GR (Glutati6n reductasa) que lo reciclan los niveles de Glutati6n requeridos para la c6lulas mediante procesos de ciclos de 6xido-reducci6n, que requieren del cofactor NADPH. Finalmente, mediante conjugaci6n con el Glutati6n en su forma reducida (GSH) podr6an eliminarse los metales pesados. Por otra parte, la s6ntesis del Glutati6n requiere de la presencia de ciste6na. Finalmente, la presencia de metales pesados con el Fe^{++} o el cobre (Cu^{++}) podr6an propagar la producci6n de radicales libres mediante reacciones de Fenton, amplificando los niveles de radicales libres presentes en las c6lulas.

Los mecanismos eliminadores de especies reactivas de ox6geno operan de forma conjunta por con la acci6n detoxificante de enzimas como GPX, CAT, SOD-1. Por ejemplo, la enzima SOD-1 sin6rgicamente participa en la eliminaci6n de radicales libres con la catalasa y la GST. Esta enzima GST contiene hierro y se localiza en los peroxisomas contribuyendo a la eliminaci6n de per6xido de hidr6geno, produciendo la oxidaci6n del Glutati6n Reducido (GSH) (Lim6n-Pacheo y Gonsebatt, 2009).

La localización citosólica y mitocondrial de la enzima GPX requiere de selenio como cofactor, por lo que cofactores como el selenio, Zn o Cu son claves en la activación de estas enzimas antioxidantes, estudiadas en la presente tesis doctoral.

El Glutatión reducido es "reciclado" por la acción del sistema enzimático GPX/GR y la SOD-1, elimina el anión superóxido O_2^- mientras que la catalasa desdobra el agua oxigenada (peróxido de hidrógeno) en agua y oxígeno. (Figura 11).

2.2.6.4 SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1)

Concretamente, la enzima SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1) cataliza la eliminación del anión superóxido (O_2^-), generando peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno (O_2) como subproductos de degradación. Finalmente, la catalasa (CAT) desdobra éste peróxido de hidrogeno en agua (H_2O) y oxígeno (O_2) para completar el mecanismo detoxificador. La enzima SOD tiene varias isoformas dependiendo de su localización celular (SOD-1: citosólica o presente en plasma en eucariotas) mientras que la isoforma SOD-2 es mitocondrial. La isoforma SOD-1 es Cu-Zn dependiente y se localiza específicamente en citoplasma, núcleo y plasma en eucariotas; a diferencia de la isoforma mitocondrial (SOD-2) que es Mn-dependiente (Limón-Pacheco y Gonsebatt, 2009).

Por tanto, los niveles de moléculas antioxidantes como el Glutatión (GSH) o la actividad de enzimas antioxidantes SOD-1 podrían constituir biomarcadores de toxicidad a metales pesados en pacientes odontológicos.

La SOD-1 actúa sinérgicamente con el Glutatión para eliminar radicales libres en la célula. (Figura 11).

2.2.6.5 Alteraciones sobre sistemas antioxidantes endógenos inducida por metales pesados

Se sabe que niveles elevados de Plomo (Pb) y de mercurio (Hg) pueden incrementar los niveles de Glutatión reducido (GSH) como mecanismo adaptativo

frente a la toxicidad de éstos metales, lo que podría facilitar la excreción del mercurio u otros metales (Martínez-Haro y cols., 2011).

Por otro lado, algunos metales como el Pb, Hg²⁺, y Cu pueden actuar como agentes hemolíticos (Penugonda y Ercal cols., 2011), ya que la interacción de metales pesados con eritrocitos incrementa los niveles de superóxidos, en los eritrocitos ya que el Pb²⁺ puede interaccionar con la hemoglobina. Contrariamente, un aumento de la actividad SOD-1 bloquea la capacidad hemolítica de éstos metales. La causa principal del aumento de los niveles de GSH se debe a una disminuida actividad GPX (Jin y cols., 2015), pero causas alternativas podrían incrementar la actividad CAT o de la peroxidación lipídica inducida por plomo (Pb). Por otra parte, el plomo inhibe la actividad SOD-1, ya que desplaza a los metales Zn y Cu, que son necesarios para su activación.

Otros mecanismos asociados a la toxicidad de Cadmio (Cd) o Plomo (Pb) se basan en la oxidación de la hemoglobina, que ha sido descrita en aves (Millán y cols., 2008). Además, el mercurio aumenta la producción de subproductos derivados de la peroxidación lipídica, que reducen los niveles de GSH, ya que el mercurio se une al propio glutatión y podría interferir con la actividad de enzimas antioxidantes (SOD, GPX, GR, GST, y 6-GDPH) bajo exposición a mercurio o plomo (Lund y cols., 1991; Verity y cols., 1975).

No obstante, también se ha visto que una baja exposición a mercurio es capaz de estimular la actividad SOD, la actividad xantina oxidasa y también puede promover un aumento de los niveles de glutatión reducido (GSH) además de aumentar la actividad enzimática de CAT, GR, GPX (Ariza y cols., 1998). Por otro lado, la inhibición de la fosforilación oxidativa mitocondrial que se encarga de generar energía (ATP en la célula a partir de ADP y fósforo, P), es otro mecanismo implícito en la toxicidad del mercurio, ya que se ha descrito que la exposición a metil-mercurio decrece los niveles de ATP (Lund y cols., 1991). De hecho, el metil-mercurio puede aumentar: la producción de peróxido de hidrógeno y de O₂·- y la peroxidación lipídica (Verity y cols., 1975). Además, el aumento de calcio intracelular asociado al metilmercurio activa reacciones enzimáticas, que aumentan los niveles incrementados de H₂O₂ y de



O2.- (Ercal y cols., 2001). La presencia de Hg²⁺ acelera la producción de peróxidos lipídicos.

Como se ha venido describiendo en los apartados anteriores y en un intento de justificar el desarrollo necesario de un protocolo de seguridad, ante una exposición al vapor de mercurio mayor del que ya es presente y ubicuo en nuestra vida.

A continuación de forma global se desarrollan aspectos generales diferentes pero relacionados a lo expuesto anteriormente.

2.2.7 EFECTO Y ACTUALIDAD DEL MERCURIO EN EL MEDIO AMBIENTE

Los metales pesados como el cadmio, plomo, mercurio, níquel, estaño y aluminio están presentes en el medio ambiente. Estos metales pesados ocasionan diversas alteraciones celulares: son antagonistas de numerosos oligoelementos como el zinc, cobre, hierro, manganeso, calcio, magnesio, e inhiben los sistemas enzimáticos, son pro oxidantes en las células y tejidos (Ariza y cols., 1998), y en el caso del mercurio, al ser lipofílico se acumula en el sistema nervioso, hígado, riñones y cerebro induciendo múltiples trastornos (Park y cols., 2012).

Algunos metales son indispensables, como los oligoelementos, pero otros deben rechazarse por ser tóxicos debido a su masa atómica, como el mercurio, el aluminio y el plomo. Se denominan metales pesados porque su peligrosidad se debe a dos características, su conductividad eléctrica es muy elevada y pueden modificar su forma química sin destruirse. Por ello, provocan anomalías estructurales en función de las enzimas que desembocan en bloqueos enzimáticos, más tarde afectan al sistema inmunitario y posteriormente dan lugar a procesos de patologías imprevisibles (Bjorkman y cols., 2007).

El mercurio entra en el medio ambiente de diferentes formas. Parte del mercurio entra a través de procesos naturales, como erupciones volcánicas, actividad geotérmica y la erosión de las rocas que contienen mercurio. Sin embargo, la mayor parte del mercurio que existe en la actualidad en el medio ambiente entró en él como resultado de la actividad humana (fuentes antropogénicas). Cuando el mercurio ya se

encuentra en el medio ambiente acuático o terrestre, puede volatilizarse y reentrar en la atmósfera. (Figura 12).

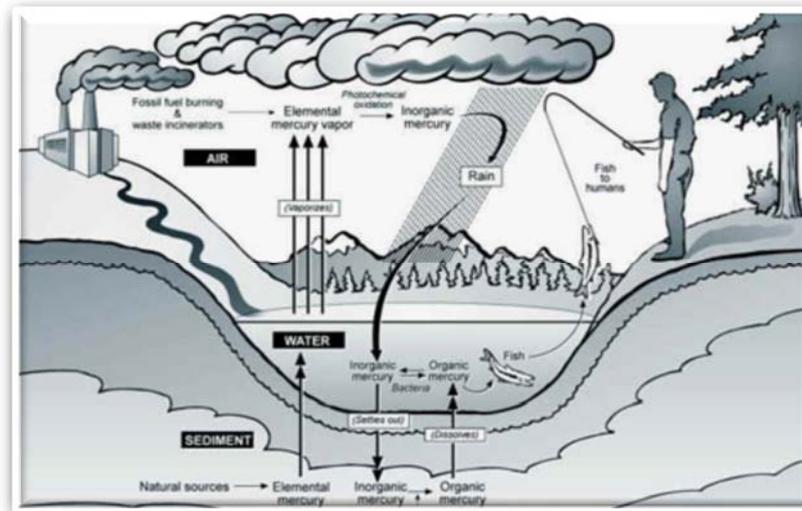


Figura 12: Fuentes antropogénicas del mercurio.

Debido a que el mercurio elemental tiene una alta tensión superficial, forma gotas pequeñas, compactas y esféricas cuando es liberado en el medio ambiente. Aunque las gotas mismas son estables, la alta presión del vapor de mercurio, comparado con otros metales, hace que el mercurio se evapore. En lugares cerrados el mercurio puede constituir un riesgo por inhalación. Al aire libre el mercurio elemental se evapora y entra en la atmósfera (EPA, 2007).

La exposición ocupacional al mercurio sigue siendo un problema actual a nivel industrial, como la minería de mercurio; la producción de cloro-álcali; la fabricación de termómetros, lámparas fluorescentes, baterías y otros productos que contienen mercurio; la extracción y refinación de oro, plata, plomo, cobre y níquel; y en el campo de la odontología.

Aproximadamente el 80% del vapor de mercurio inhalado es absorbido por el tracto respiratorio o a través de los senos nasales y luego entra al sistema circulatorio para ser distribuido por todo el organismo (Cherian y cols., 1978). La exposición crónica por inhalación, incluso a concentraciones bajas, ha demostrado causar efectos



tales como temblores, disminución de la habilidad cognitiva y alteraciones del sueño en los trabajadores (Ngim y cols., 1992).

La toxicología del mercurio es diferente, según su especie química y si la intoxicación es aguda o crónica. En intoxicaciones agudas, el Hg metal presenta un cuadro clínico de debilidad, escalofríos, sabor metálico, náuseas, vómitos, diarrea, tos y opresión torácica.

La intoxicación crónica por mercurio se caracteriza por temblor intencional, gingivitis con salivación excesiva y eretismo. El eretismo consiste en un comportamiento extraño con excitación, timidez excesiva e incluso agresividad. Estos signos están presentes después de exposiciones prolongadas, con niveles urinarios de más de 300 $\mu\text{gHg/L}$ (Magos y cols., 2006).

Sin embargo, la toxicidad química crónica, no menos complicada que los efectos agudos causados por la exposición a corto plazo en dosis altas, es en los últimos años motivo de preocupación acerca de los efectos crónicos de la exposición a largo plazo a dosis relativamente bajas de contaminantes en las aguas, el alimento y el medio ambiente.

Debido a que el organismo metaboliza a diferentes químicos de varias maneras, las pequeñas dosis de algunos contaminantes crean efectos acumulativos que eventualmente afectan negativamente a nuestra salud, mientras que la exposición similar a otros químicos no causa ningún daño. El mercurio y el plomo son ejemplos de un químico en el cual pequeñas dosis, pueden resultar una acumulación en una concentración tóxica en el tiempo. Estos efectos crónicos no ocurren de repente, sino que se desarrollan gradualmente a través de la exposición a concentraciones bajas a largo plazo.

Esto podría explicar la toxicidad crónica al mercurio, especialmente insidiosa, porque los síntomas son variables e inespecíficos, las pruebas de diagnóstico están a menudo mal entendidas, y los tratamientos son especulativos en el mejor de los casos (Homme y cols., 2014).

Una forma de proteger al público de las exposiciones agudas y crónicas es por medio del control de las concentraciones máximas permisibles de contaminantes

designados en el agua, en los alimentos y en el ambiente (EPA, 2007).

La intoxicación crónica de mercurio se describe en la literatura toxicológica, pero aún no es reconocido por la mayoría de los médicos e instituciones.

Sin embargo, la creciente preocupación pública y una comprensión científica más amplia de los daños causados por la contaminación por mercurio local, nacional y global ha llevado a muchos gobiernos a empezar a tomar medidas significativas para controlar las emisiones atmosféricas de mercurio en el medio ambiente.

Tal es así, que el Papa Francisco en su Encíclica LAUDATO SI' expresa, que la humanidad ha ingresado en una nueva era en la que el poderío tecnológico nos pone en una encrucijada pues somos los herederos de dos siglos de enormes olas de cambio: desde el motor a vapor hasta las nanotecnologías. Con el fin de asumir los resultados de las investigaciones científicas, como la contaminación con mercurio en la minería de oro y otros contaminantes, aconseja computar el uso del espacio ambiental de todo el planeta para depositar residuos gaseosos que se han ido acumulando durante dos siglos y han generado una situación que ahora afecta a todos los países del mundo (Encíclica Papal 2015).

Los conocimientos científicos sobre los daños a la salud humana y al medio ambiente causados por la exposición al mercurio han aumentado a lo largo de los años y muchos gobiernos ya han tomado medidas para controlar dentro de sus jurisdicciones. Países como Suecia, Noruega y Dinamarca llegaron de forma voluntaria a la decisión de prohibir la amalgama de mercurio. La reducción de amalgama dental está concebida como medida precursora de la eliminación completa de este producto en los años venideros. Con base en la evidencia disponible, Austria, Alemania, Finlandia, Noruega, el Reino Unido y Suecia aconsejan a los dentistas evitar específicamente las amalgamas dentales que contienen mercurio durante el embarazo (Hujoel y cols., 2005).

Además del impacto personal de la amalgama de mercurio en un paciente, se produce también un impacto ambiental importante con su uso. Según un cálculo de

1995 sobre las cremaciones en Estados Unidos, aproximadamente 500.000 personas fueron cremadas, lo que liberó aproximadamente 1,25 toneladas métricas de mercurio en el aire (EPA, 2002). Algunos cálculos sugieren que las liberaciones de mercurio desde los crematorios serán la mayor fuente de contaminación aérea hacia 2020, totalizando unas 7,7 toneladas sólo en Estados Unidos. Sin embargo, en Estados Unidos, el uso de amalgamas dentales de mercurio está declinando. Entre 2004 y 2007, el contenido de mercurio de las amalgamas dentales usadas en Estados Unidos declinó casi en un 50 por ciento, desde 27,5 toneladas métricas en 2004 a 15 toneladas métricas en 2007 (ADA, 2007).

En la UE actualmente, la utilización de materiales libres de Hg se ha elevado en aproximadamente un 66% de todas las restauraciones dentales, y su uso es cada vez mayor (Servicio Biointelligence, 2012). Por tanto, el CCRSM (Comité Científico los Riesgos Sanitarios y Medioambientales) está de acuerdo con las conclusiones de dentistas Europeos (CED, 2012) donde se determina que es una importante cuestión la evaluación de los riesgos potenciales de estos materiales alternativos, considerando un trabajo en progreso por parte de la evidencia sobre toxicología.

En España conforme a la última normativa como así también la FDA (Food and Drug Administration) y la ADA (Asociación Dental Americana) apoyan la amalgama de Hg como material seguro y eficaz para las restauraciones dentales (FDA 2013; ADA 2013) de este modo, este tipo de relleno dentario continua vigente con un consumo anual de 372 toneladas de mercurio para uso dental en todo el mundo, de acuerdo con el programa de las Naciones Unidas para el Medio ambiente realizado en el 2005 (UNEP 2013; IAOMT, 2013).

Aunque en Octubre del 2013, más de 140 naciones firmaron en la Convención de Minamata, un conjunto de medidas jurídicamente vinculantes para reducir la contaminación por mercurio que se forjó en los últimos 4 años por el Programa de las Naciones Unidas (UNEP 2013). Los participantes convinieron en reducir gradualmente el uso de la amalgama dental a través de un menú de estrategias para

desalentar el uso de amalgama y promover alternativas (UNEP, 2013; Homme y cols., 2014).

En el convenio hay una lista de los productos que deben ser eliminados progresivamente hacia el año 2020. Entre los productos que deben ser eliminados progresivamente están las pilas, los tubos fluorescentes, algunos cosméticos, plaguicidas, biocidas y antisépticos tópicos; e instrumentos no electrónicos, tales como barómetros, higrómetros, manómetros, termómetros y esfigmomanómetros (para medir la presión sanguínea).

Un producto también que será eliminado progresivamente es la amalgama dental.

El convenio sobre mercurio estipula que cada nación reduzca gradualmente el uso de amalgama, y recomienda qué medidas deben adoptarse. Los países deben llevar a cabo al menos dos de las medidas, que incluyen:

- Promover alternativas sin mercurio.
- Cambiar los planes de estudios de las escuelas de odontología y re-entrenamiento de los dentistas.
- Fomentar planes de seguros a favor de restauraciones dentales sin mercurio en reemplazo de la amalgama.
- Optar por una “reducción gradual” de la amalgama dental.

Para finalizar, existe una gran controversia en la literatura sobre este tipo de rellenos. Es difícil cuantificar y evaluar los efectos del Hg en cada persona debido a que cada individuo es particular y singular. La absorción, distribución y detoxificación varía de una persona a otra, incluso de diferente sexo (Homme y cols., 2014; Mutter y cols., 2011).

No es fácil identificar las restauraciones de mercurio, como la causa si la enfermedad se presenta, o si los rellenos han contribuido a la enfermedad, salvo en casos de toxicidad extremas (Colson, 2012).

No sólo es difícil el diagnóstico, los tratamientos son polémicos y son



especulativos en el mejor de los casos. Incluso la eliminación de la amalgama es problemática, causando altas exposiciones de partículas de amalgama respirable, así como al vapor de mercurio (Richardson 2003).

Si bien cada vez hay una mayor conciencia en la protección durante la eliminación de amalgamas dentales, existen un reducido número de protocolos desarrollados de bioseguridad. El protocolo por referencia mayormente referenciado es el que contempla la IAOMT (Academia Internacional de Medicina Oral y Toxicología). El Protocolo de extracción segura de amalgamas dirigido a odontólogos consta de 8 pasos que se describen a continuación.

1. Mantenga las amalgamas frías. Toda la eliminación debe ser hecha bajo un spray de agua fría con cantidades copiosas de agua. Una vez que la eliminación haya comenzado, el vapor de mercurio será expulsado continuamente del diente.

2. Utilice un aspirador de alto volumen. Una extremidad del aspirador de alto volumen debe ser situada cerca del diente (a menos de 1 cm. y medio) en todo momento para evacuar el vapor de esta área del paciente. Pulir la amalgama puede crear niveles muy peligrosos de mercurio y se debe evitar especialmente para el paciente intoxicado por mercurio.

3. Proporcione una fuente alternativa de aire. A todos los pacientes a los que se les elimina o coloca una amalgama se les debe proporcionar una fuente alternativa de aire y debe ser instruido para no respirar a través de su boca durante el tratamiento. Una mascarilla nasal como por ejemplo la que se utiliza con el equipo de anestesia de óxido nitroso es excelente. El aire es mejor y el oxígeno es aceptable aunque no está requerido. Si se utiliza sólo aire, debe estar limpio y libre del vapor de mercurio, preferiblemente tomado desde fuera de la clínica dental.

4. Eliminación inmediata de la aleación de mercurio. Las partículas de la aleación de mercurio deben ser lavadas y aspiradas tan pronto como son generadas. El relleno se debe seccionar y quitar en trozos grandes para reducir la exposición.



Actualmente la Academia Internacional de Medicina Oral y Toxicología (IAOMT) ha aprobado la eliminación con y sin el uso de un dique de goma. Existe una cierta evidencia para apoyar ambas opiniones puesto que altos niveles de partículas de mercurio y de amalgama se pueden encontrar debajo del dique. Todos los miembros están de acuerdo en que, tanto si se usa o no un dique de goma oral, los pacientes deben ser instruidos para no respirar a través de su boca y no tragar las partículas de amalgamas. Algunos expertos afirman que es mejor quitar la amalgama primero y posteriormente aplicar el dique aislante si es necesario realizar procedimientos restaurativos.

5. Lavado y cambio de guantes. Después de que los rellenos se hayan eliminado, quite el dique de goma si fue utilizado y haga un lavado de boca al paciente por lo menos durante 30 segundos con agua fría y succión. Elimine guantes y sustituya por un nuevo par. Si a continuación va a realizar un procedimiento restaurativo entonces re aplique un dique nuevo y proceda.

6. Limpie al paciente inmediatamente. Cambie inmediatamente el atuendo de protección del paciente y limpie su cara.

7. Considere la ayuda alimenticia. Considere ayuda alimenticia apropiada antes, durante y después de la eliminación. Tomar chlorella o selenio, p. ej. y beber mucha agua.

8. Mantenga el aire de la habitación puro. Instale purificadores de aire o ionizadores para el bienestar general.

Tanto la Asociación Dental Americana (ADA) como el Centro de Control y Prevención de Enfermedades Infecciosas (CDC) y la Administración de Seguridad en Salud Ocupacional (OSHA) han establecido una serie de normas que todos los odontólogos deben cumplir (Garner, 1996; CDC Updated U.S., 2001) sobre protocolos de bioseguridad. Estas están en relación a la contaminación microbiológica basadas en el riesgo de contagio infeccioso entre profesional y pacientes o entre pacientes,



pero no se contempla en ningún caso la prevención y protección de la contaminación tóxica del mercurio sobre los pacientes, profesionales y medio ambiente.

De acuerdo a lo expuesto y en un intento de investigar la integración de todos estos conceptos que se viven y experimentan diariamente en nuestra especialidad ortodóncica, nos conduce a profundizar en el desarrollo de este trabajo de investigación experimental y clínico que se expone a continuación.





HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Las Hipótesis planteadas en nuestro estudio fueron

Hipótesis Nula I

- a) La consistencia física de la dieta no influye durante el crecimiento en el Torque máximo de inserción (PIT) de los Microimplantes
- b) La consistencia física de la dieta no influye en la estabilidad de los Microimplantes bajo carga inmediata

Hipótesis Nula II

- a) Las amalgamas dentales no aumenta la presencia de metales pesados en pelo, como tampoco, la actividad enzimática (SOD-1) ni los niveles de Glutación reducido (GSH) en portadoras de amalgamas dentales
- b) De acuerdo a la literatura científica, referente a la toxicidad del mercurio, no es necesario protocolos de seguridad durante la eliminación de las amalgamas dentales



OBJETIVOS

Los Objetivos propuestos para nuestro estudio fueron

Objetivo I

- a) Comparar biomecánicamente a través del PIT (Torque máximo de inserción) los efectos que tienen sobre el hueso las diferentes consistencias físicas de la dieta dura y blanda administrada durante el crecimiento hasta la edad adulta en perros Beagle (hembra), cuando se insertan los Microimplantes
- b) Comparar biomecánica e histológicamente la estabilidad de los Microimplantes insertados en perros *Beagle* (hembra), previamente alimentados con dietas de diferentes consistencias física (dura y blanda) evaluando los parámetros PIT (Torque máximo de inserción), BIC (Superficie total contacto hueso-implante) y PRT (Torque máximo de remoción)
- c) Aceptar o rechazar las hipótesis de inicio I

Objetivo II

- a) Determinar si la presencia crónica de amalgamas dentales afecta los niveles de metales pesados (pelo) medidos por espectrometría de masas (ICP-MS), así como la actividad de la enzima SOD-1 y los niveles de Glutati3n reducido (GSH)
- b) Posibilidad de desarrollar un protocolo de protecci3n de bioseguridad durante la eliminaci3n de restauraciones de amalgama dental mediante el uso de filtros nasales de carb3n activo
- c) Aceptar o rechazar las hipótesis de inicio II





MATERIALES Y MÉTODOS

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 OBJETIVO I a-b

a) Comparar biomecánicamente a través del PIT (Torque máximo de inserción) los efectos que tienen sobre el hueso las diferentes consistencias físicas de la dieta dura y blanda administrada durante el crecimiento hasta la edad adulta en perros Beagle (hembra), cuando se insertan los Microimplantes.

b) Comparar biomecánica e histológicamente la estabilidad de los Microimplantes insertados en perros *Beagle* (hembra), previamente alimentados con dietas de diferentes consistencias física (dura y blanda), evaluando los parámetros BIC (Superficie total contacto hueso-implante), PIT (Torque máximo de inserción), PRT (Torque máximo de remoción).

Este objetivo, detalla los materiales necesarios y procedimientos seguidos durante la realización de los experimentos llevados a cabo en modelo canino. Para una mayor comprensión y seguimiento del proceso, se desarrollará cronológicamente dentro del Objetivo I ambas subdivisiones a y b.

El Comité de Ética para la Experimentación Animal de la Universidad de Murcia, España, aprobó el protocolo de estudio de acuerdo a las directrices establecidas por la Unión Europea, acorde a la legislación vigente. Los animales fueron alojados en perreras siguiendo las normas de la UE para la protección de animales utilizados en experimentación (Directiva 63/2010/UE).

Las condiciones ambientales se mantuvieron de manera constante a lo largo de todo el estudio, consistiendo en ciclos de 12 horas de luz y 12 de oscuridad, temperatura estable entre 22-24°C, humedad constante entre 55% - 10%, en el Servicio de Animales de Laboratorio del Servicio de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidad de Murcia. Cada perro fue identificado mediante microchip subcutáneo en la zona inter-escapular.



4.1.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Los criterios de inclusión necesarios para llevar a cabo la experimentación fueron, que los individuos debían estar en etapa de crecimiento, tener la misma edad y el mismo sexo.

4.1.2 GRUPOS EXPERIMENTALES

Seis perras Beagle de 5 meses de edad se alojaron en el estabulario animal de la Universidad de Murcia, España.

Después de su llegada a las instalaciones, los especímenes de 5 meses de edad fueron divididos aleatoriamente en 2 grupos de tres individuos cada uno.

Durante el tiempo de duración del estudio, que abarcó el período de crecimiento restante y edad adulta hasta los 23 meses, los individuos recibieron una dieta de igual calidad nutritiva pero de distinta consistencia física. (Figura 13).

El Grupo de dieta dura (HD, del inglés, Hard diet) fue alimentado con una dieta de consistencia sólida, seca y dura, constituido por pienso seco ad-libitum y huesos de ternera para roer, suprimiendo los huesos para roer en la etapa de presencia de los microimplantes colocados en boca.

El Grupo dieta blanda (SD, del inglés, Soft diet) fue alimentado con una dieta de consistencia blanda, suave y húmeda constituido por pienso en lata sin hueso para roer. (Figura 13).

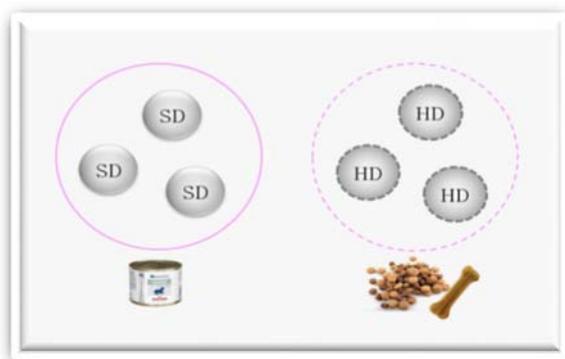


Figura 13: Grupo Dieta Dura (HD)- Grupo de Dieta Blanda (SD).



Durante el crecimiento y edad adulta de los animales, la dosis y calidad alimentaria estuvo de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, monitorizados por los veterinarios del laboratorio del centro del animalario.

Se realizaron controles periódicos del estado general de salud de los individuos, como el control del peso de ambos grupos sometidos a diferentes consistencias de dieta, por los responsables del centro.

El control de higiene se monitorizó durante la etapa experimental, bajo anestesia se realizó el detartraje necesario para la eliminación de la placa y sarro dental, previo Plac-control, sondaje periodontal, eliminación de placa y enjuagues con gluconato de clorhexidina al 0,20%.

4.1.3 COLOCACIÓN DE LOS MICROIMPLANTES

4.1.3.1 Materiales

Se utilizaron un total de 144 MI de rosca (Absoanchor, Dentos, Daegu, Korea) de aleación de titanio (Ti-6Al-4V). Tamaño SH 1312-07 cónico, con 1,3 mm de diámetro en el cuello y 1,2mm cerca de la punta con longitud de rosca que va en contacto con hueso de 7mm. (Figura 14).

- Conductor manual corto y largo (Absoanchor, Dentos, Daegu, Korea).
- Indicador digital de precisión ACTA MT, al cual se adaptó el cabezal a las mismas dimensiones y perfil de la cabeza del MI (Atlas Copco, Stockholm-Sweden).
 - Periostótomo Hu-Friedy P9- Molt.
 - Fisiodispenser Surgical Motor System W&H ZIMMER Dental.
 - Contra-ángulo reductor 20:1 W&H ZIMMER Dental.
 - Fresa redonda NTI H1S de 0,9 mm de diámetro.
 - Fresa guía de 1mm de diámetro y 6 mm de longitud en su parte activa (Absoanchor, Dentos, Daegu, Korea).
 - Ligaduras metálica larga diámetro 12mm. M07003.

- Muelles de níquel-titanio Dentos close-coilspring. (Imperortho).
- Composite Filtek Supreme XTE FLOW 3M ESPE jeringa 2gr.
- Lámpara fotopolimerizable 3M ESPE Elipar™ FreeLight™ 2.
- Separadores bucales.
- Plac-control, Eritrocina, Vitis.
- Gluconato de clorhexidina al 0,20 % PerioKin Solución 250ml.
- Cavitron MECTRON Multipiezo.
- Máquina fotográfica CANON EOS 600D.



Figura 14: Material e instrumental quirúrgico.

4.1.3.2 Método Quirúrgico

Primeramente se preparó la mesa quirúrgica con todo el material e instrumental necesario para llevar a cabo la primera etapa experimental.

Para la colocación de los MIs se procedió a la sedación con posterior anestesia general, este procedimiento se repitió para todos los animales.

Para la sedación se utilizó Calmo Neosan® -Maleato de Acepromacina 0,1 mg/Kg de peso corporal (Vía SC) (Pzifer, S.A.). Buprex® -Buprenorfina 12 mcg/kg

(Shering Pluyer).

Una vez sedado, se colocó un catéter intravenoso (20-22 G) para la inducción de anestesia mediante Propofol (0,4 mg/kg/min). Medetor® - Medetomidina cloridrato 1 mg 10 ml (Virbac España S.A.).

Anestesia Ultracain®, Carticaína con Epinefrina 40/0,005mg/ml NORMON, S.A.

Los MIs fueron colocados por vestibular bilateralmente en el maxilar y la mandíbula. La técnica se llevó a cabo de forma aséptica mediante detartraje previo y enjuagues con una solución de gluconato de clorhexidina al 0,20 %.

Todos los MIs fueron colocados por el método autoroscante o ST (Self-Tapping) (Chen 2008). Los microimplantes se colocaron a través de la mucosa, sin incisión previa y con dirección aproximadamente perpendicular logrando un anclaje monocortical en lugares específicos en el hueso cortical maxilar y mandibular por vestibular. Los pasos de la técnica que se llevaron a cabo se describe a continuación.

- Una gasa embebida en gluconato de clorhexidina al 0,20% se colocó sobre la mucosa que alojaría al MI para conseguir una desinfección local.
- Sobre la encía adherida se realizó una marca con una sonda periodontal que fue de guía para el primer fresado de un orificio piloto. En encía libre o móvil, se realizó una maniobra de compresión y tensión de la misma sobre el hueso, sujeta con un periostótomo para evitar que se enrosque ésta durante el fresado.
- Sobre esa marca, se fresó penetrando a través de la encía y se realizó sobre la cortical ósea una pequeña indentación con una fresa redonda de 0,9mm de diámetro. Para ello se utilizó un fisiodispensador para uso en implantología, con un contra-ángulo reductor de 32/1 (400 a 500 RPM) con irrigación de solución fisiológica, que reduce la generación de calor y mantiene el área quirúrgica lubricada.
- Con una fresa perforadora-guía de 1mm de diámetro y 6mm de longitud, sobre el lecho dejado por la anterior fresa, se profundizó suavemente labrando un camino de inserción que guió la colocación del MI y de este modo se

redujo el riesgo de una posible fractura como resultado de un aumento de presión durante la inserción.

➤ Con el conductor manual se portó el MI y se colocó con un movimiento único de rosca evitando la lateralización centrífuga y sin llegar al final del ajuste de la inserción final.

➤ Con el indicador digital de precisión se realizó el último ajuste de penetración del MI en el interior del hueso y se midió el torque máximo de inserción (PIT).

➤ Los MIs a pares fueron cargados de forma inmediata a una fuerza horizontal, continua y constante de 150 Ncm aproximadamente cada uno, por medio de un muelle de nique-titanio cerrado uniendo las cabezas de los MIs con una ligadura metálica y protegida a la vez por un botón de resina fotopolimerizable. El objetivo de la resina, fue fijar mejor el muelle al MI y evitar su desunión como también el roce y laceración de los tejidos blandos móviles.

Un vez tomados los registros del PIT y activados los MIs con carga inmediata los perros se trasladaron del quirófano al estabulario y continuaron bajo supervisión veterinaria, hasta su total recuperación. (Figura 15).



Figura 15: Toma de registro del PIT.

No fue necesaria administración de antibiótico. Inmediatamente pasada la anestesia, los perros continuaron con sus respectivas dietas, a excepción del grupo que recibían dieta de consistencia sólida, a los cuales se suprimieron los huesos a

roer, solamente conservaron el pienso seco ad-libitum. El grupo de dieta de consistencia blanda continuó con alimentación blanda y húmeda.

Con los MIs bajo carga inmediata y mantenida la dieta diferenciada en cada grupo experimental, se continuó durante las 16 semanas siguientes. Y así se controlaron periódicamente, hasta el día de la eutanasia.

La estabilidad de los MI se midió con pinzas dentales, considerando como fallo al MI que después de su colocación y periodo de experimentación fuera perdido.

4.1.4 OBTENCIÓN DE MUESTRAS

En esta última fase, la eutanasia siguió el siguiente protocolo farmacológico:

Para el sacrificio se indujo una sobredosis de Pentobarbital sódico vía intravenosa (Dolethal, Vetoquinol S.A. Spain) previa sedación con Acepromacina.

Tras la eutanasia a las 16 semanas de la colocación de los MI, certificado por la Veterinaria la muerte del perro, se tomó el torque máximo de remoción (PRT) a excepción de los MIs que fueron escogidos para el procesamiento de muestras histomorfométricas.

Todas las intervenciones quirúrgicas y eutanasia se realizaron bajo la supervisión de la Veterinaria del centro de Experimentación Animal de la Universidad de Murcia.

Los huesos maxilares que contenían los MIs se disecaron y se seleccionaron 32 MIs con el tejido óseo que lo contenía alrededor para la evaluación histológica. Antes de enviar las muestras para su procesamiento, se tomaron radiografías y se enumeraron aleatoriamente sin definir la procedencia del grupo al cual pertenecían.

El resto de los MIs fueron extraídos previa medición del (PRT) torque máximo de remoción, con un movimiento en contra de las agujas del reloj, para aflojar y extraerlos al final del experimento. Se utilizó el mismo instrumento de medición para el registro obtenido del torque máximo de inserción (PIT).

Las muestras fueron colocadas en formaldehído 10% durante 72hs y posteriormente cambiadas a PBS durante 7 días (Chen y cols. 2008), tiempo



suficiente para ser transportada al Departamento de Patología Oral, de la Universidad de Kyungpook National University, Daegu, Korea, donde se llevó a cabo su procesamiento.

Estos 32 MIs con tejido alrededor que se seleccionaron para evaluación histológica de ambos grupos presentaban áreas interradiculares simétricas de los maxilares y las mandíbulas de todos los perros. Estas muestras se infiltraron en tinte de hueso Villanueva de óxido propileno a partir de una solución al 70% de alcohol y tinte. Este procedimiento incluía 11 pasos y duró más de tres semanas.

Antes de ser sumergido en el tinte Villanueva de óxido propileno, los especímenes se deshidrataron y desgrasaron con etanol graduado. Cada implante incrustado en el hueso se seccionó sagitalmente con una sierra digital de baja velocidad (Accutom-50; Struers, Ballerup, Dinamarca) con un grosor de 500 μm . Estas secciones se pulieron con una máquina de pulir (Rotopol-35; Struers) hasta que los implantes y el tejido circundante se podía ver claramente. Las diapositivas del microscopio, preparadas mediante la colocación de secciones aplanadas con una baja fluorescencia, fueron observadas con un microscopio de luz y un microscopio fluorescente.

El análisis histomorfométrico se llevó a cabo sobre las imágenes digitalizadas del microscopio con un sistema de cámara (Olympus, Tokio, Japón). Las imágenes obtenidas con una ampliación de 100 veces se combinaron con figura incluyendo la superficie del implante entero y se analizó con un software de análisis de imagen (Image & Microscope Technique, Goleta, California). Para cada MI (Chen y cols. 2008) las secciones de contacto con el hueso se midieron y se expresaron como porcentajes de BIC (contacto hueso-implante).

4.1.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el software Sigma Plot 11.0. Para cada grupo experimental, se indicó la media de los valores de BIC, PIT y



PRT y el error relativo (varianza/raíz de n), siendo n el tamaño muestral de cada grupo experimental. Las diferencias entre los grupos experimentales se evaluaron mediante el análisis de Mann-Whitney, dado que no existe homogeneidad de varianza en la mayoría de los casos y sólo en algunos casos mediante t de Student.

En caso de que p sea menor de $p < 0.05$ se considera una diferencia entre grupos analizados estadísticamente significativas.

4.2 OBJETIVO II a

a) Determinar si la presencia crónica de amalgamas dentales afecta los niveles de metales pesados (pelo) medidos por espectrometría de masas (ICP-MS), así como la actividad de la enzima SOD-1 y los niveles de Glutación reducido (GSH).

El presente estudio fue aprobado por los comités éticos de la Universidad de Murcia (España) de acuerdo a la declaración de Helsinki. Todos los sujetos involucrados en el presente estudio fueron correctamente instruidos para participar en el mismo y dieron su aprobación mediante el correspondiente consentimiento informado firmado, manteniendo su anonimato y privacidad en todo momento.

Por otro lado, la clínica CIROM (Centro de Implantes y Rehabilitación Oral Multidisciplinaria) está acreditada mediante la normativa española de AENOR por el (certificado CD-2014-001; ER-0569/2014) y normativa UNE-EN ISO 9001:2008 y UNE 179001-2001, España). Este estudio ha sido desarrollado siguiendo las directrices de STROBE.

Los criterios de inclusión/exclusión para las pacientes se indican a continuación.

4.2.1 CRITERIO DE INCLUSIÓN

En el presente estudio, seleccionamos pacientes (mujeres) con empastes dentales en boca durante al menos 10 años (media: 15 años) en función de si tenían cuatro o más de cuatro amalgamas dentales en boca, basándonos en estudios



previamente publicados (Babi y cols., 2000). El diseño experimental incluye un grupo de mujeres con cuatro o menos de cuatro amalgamas dentales en boca (<4, n=27); aquellos sujetos mujeres con más de cuatro amalgamas (>4) (n=15) y un grupo control de edad similar sin amalgamas dentales y sin implantes en boca. Como no se observaron diferencias significativas sobre los niveles de metales pesados testados en pelo, ambos grupos de pacientes con amalgamas dentales se englobaron en un único grupo denominado Amalgamas (n=42, <4+>4). Como mínimo se eligió como criterio de inclusión la presencia de amalgamas en boca durante al menos 10 años (media: 15 años) como criterio principal de inclusión. La edad media de las pacientes es de 44 años.

Otro criterio de inclusión fue la ausencia de patología psiquiátrica o de desórdenes neurológicos y/o metabólicos. Las pacientes no tenían historial previo de patología tiroidea ni fueron o han sido recientemente tratadas con quelantes como ni historial previo de anemias. Las pacientes no tienen alteraciones hepáticas ni patología previas (hepatitis, etc.) o enfermedad renal previa.

4.2.2 CRITERIO DE EXCLUSIÓN

Se excluyeron del presente estudio, aquellos pacientes con enfermedades metabólicas o desórdenes neurológicos de acuerdo al DMS 4. Otro criterio de exclusión fue aquellas que toman estimulantes, anticonvulsionantes y drogas psicotrópicas atípicas.

4.2.3 TAMAÑO MUESTRAL

El tamaño muestral total fue de 55 pacientes, de las cuales 42 portaban amalgamas dentales durante al menos 10 años (media: 15 años) y 13 controles sin empastes/sin implantes. Los pacientes se eligieron en un rango de edad similar (44 años como media del grupo). Las mujeres del presente estudio tienen un status socio-económico medio/alto y todas viven el área de Levante en España, siendo la mayoría de la región de Murcia (España).

Las muestras de pelo se tomaron en todas las pacientes, cortando con tijeras

aproximadamente 0.25 g de la zona occipital, y se enviaron a Dr. Data (EEUU) para la determinación de una plétora de metales pesados en pelo por espectrometría de masas ICP-MS en Doctor's Data, USA). Los niveles de metales pesados se midieron en $\mu\text{g/g}$ (Al, Hg, Ag, Ba, Sb, As, Be, Bi, Cd, Pb, Pt, Tl, Th, U, Ni, Sn, Ti). Doctor's Data es un laboratorio pionero en la determinación analítica, entre otros, de metales pesados con más de 35 años de experiencia en el testaje de metales pesados y de otras marcadores analíticos.

Por otra parte, se sacó sangre a las pacientes y se aisló plasma mediante la centrifugación a 2700 rpm de la sangre durante 10 minutos. Se separaron varias alícuotas del plasma para su posterior congelación y determinación de los niveles de Glutación reducido (GSH) y de la actividad SOD-1 (Superóxido dismutasa-1), siguiendo los protocolos adaptados según Tiwari, 2013 y Merino y cols., 2014.

4.2.4 ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA ENZIMA SOD-1 Y NIVELES SISTÉMICOS DE GLUTATIÓN REDUCIDO (GSH)

4.2.4.1 Medida de la actividad SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1)

La actividad SOD-1 (Superóxido dismutasa-1) se midió según protocolos adaptados de Merino JJ (Tiwari y Chopra 2013; Merino y cols., 2014). Para ello, se adicionó al plasma 0.1 mM EDTA, 50 mM desodium carbonato sódico y 96 mM azul de nitro tetrazolio (NBT). En placas de 48 pocillos y por triplicado, se añadió 470 μl de la mezcla indicada a todas las muestras de plasma de portadoras de amalgamas dentales y a las muestras controles. Se añadió 30 μl de plasma sobre la placa y tras añadir la mezcla del reactivo indicada, se midió la auto oxidación de la hydroxylamine por adición 0.05 ml hydrochloride de hydroxylamine (pH 6.0).

Finalmente, la actividad enzimática SOD-1 se midió por cambios en la densidad óptica a 560 nm durante 2 minutos en intervalos de cada 30/60 segundos y se normalizó por la proteína total, siendo expresada la densidad óptica en (Unidades de actividad/min/ μg de proteína) proteína total añadida intervalos y normalizada con Optical Density (D.O) byprotein.



4.2.4.2 Determinación de los niveles de Glutación Reducido (GSH)

La concentración de Glutación reducido se determinó mediante protocolo adaptado por Hissin y Hilf (1976). Brevemente, se añadió fosfato sódico (0.1 mM) más EDTA (5 mM) (pH 8.0) y H_3PO_4 (25%) que se añadieron a todas las muestras. El plasma se centrifugó durante 30 minutos a 13.000 r.p.m. y se tomó el sobrenadante. Los niveles de Glutación reducido se determinaron tras añadir 200 μ l of 40 mM N-etilamiday 100 μ l de OPD (orto-ptalaldialdehido), midiéndose a 350 m excitación y 420 nm de emisión, tras 15 minutos de incubación a temperatura ambiente.

4.2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el software (V17.0) y Sigma Plot 11.0, mientras que la potencia del estudio se calculó con el programa G Power (licencia y uso permitido por UCLA (Los Ángeles, USA). Para cada grupo experimental, se indicó la media de los metales pesados en pelo y el error relativo de la media. El error relativo de la media se evalúa con la varianza del grupo dividido por la raíz de n, siendo n el tamaño muestral de cada grupo experimental (incluidos controles). Las diferencias entre los grupos experimentales se evaluaron mediante ANOVA y posterior análisis post-Hoc mediante el test de Bonferroni o por la t de Student (2 colas) si se comparan entre dos grupos experimentales dos a dos.

En los casos donde no existe homogeneidad de varianza se observa en el test de Levenex un efecto significativo ($p < 0.05$), lo que indica que no existe homogeneidad de varianza. En tal caso, se evaluó mediante el test no paramétrico de Kruskal Wallis cuando existía variabilidad individual si existen diferencias significativas entre los grupos experimentales estudiados. Las diferencias se asumen estadísticamente significativas si $p < 0.05$ y altamente significativas cuando $p < 0.01$.

Ejemplos ilustrativos de medida de metales pesados en pelo por espectrometría de masas (ICP-MS). (Figura 16).



Figura 16: Resultados de metales tóxicos y oligoelementos en pelo.

4.3 OBJETIVO II b

b) Posibilidad de desarrollar un protocolo de bioseguridad durante la eliminación de restauraciones de amalgama dental mediante el uso de filtros nasales de carbón activo.

De acuerdo a los apartados descritos anteriormente sobre los efectos del mercurio en el organismo y su repercusión e interacción con otros metales que se utilizan en las distintas especialidades de la odontología como la prótesis, implantes y ortodoncia etc., esta sección tiene por objetivo único, el abordaje de los protocolos actuales de seguridad sobre la eliminación de restauraciones de amalgamas y la actualidad de su uso en la clínica dental.

El propósito de este apartado, es abordar la literatura específica, en cuanto a protocolos de extracción de las amalgamas dentales y revisar los estados actuales de los distintos organismos públicos y recomendaciones sobre el uso de la amalgama dental.

Todos los sujetos involucrados en el presente estudio fueron correctamente instruidos para participar en el mismo y dieron su aprobación mediante el



correspondiente consentimiento informado firmado, manteniendo su anonimato y privacidad en todo momento.

Por otro lado, la clínica CIROM (Centro de Implantes y Rehabilitación Oral Multidisciplinaria) está acreditada mediante la normativa española de AENOR para el (certificado CD-2014-001; ER-0569/2014) y normativa UNE-EN ISO 9001:2008 y UNE 179001-2001, España).

4.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes que presenten restauraciones de amalgama dental y consienten que se retire la amalgama con protocolo de eliminación con filtros nasales.

4.3.2 CRITERIO DE EXCLUSIÓN

- Pacientes que presenten obstrucción de vías aéreas nasales temporal o permanente.
- Alteraciones cognitivas que no se ajusten al protocolo de eliminación.
- Mujeres embarazadas.

4.3.3 MATERIAL

4.3.3.1 Material Preoperatorio

- Instrumental de exploración y bandeja de anestesia.
- Instrumental y material de aislamiento, goma dique (nitrilo. Roeko, FlexiDam. Coltene®), perforador de goma, clamps (Satin Steel HuFriedy®), porta-clamps Ivory (Heraus) y arco de Young.



- Instrumental para la realización de la cavidad operatoria. Incluye instrumental rotatorio. Turbina, micromotor y contra-ángulo.
- Excavador o cucharilla de Black.
- Fresas específicas (truncocónica de diamante (talla 012), redonda extra larga de diamante Nº 2 para turbina, redonda nº3 de carburo de tungsteno, para contra-ángulo).
- Matrices metálicas y porta matriz.

4.3.3.2 Material para la Obturación

- Instrumental de bola pequeña o pitch. Para colocar, si es necesario, la base cavitaria en el suelo de la cavidad.
- Ácido ortofosfórico al 37%.
- Adhesivo dentinario para restauraciones directas de composites, compómeros.
- Jeringa de Composite-fotopolimerizable.
- Instrumento espátula para transportar y colocar el composite en la cavidad de forma adecuada.
- Lámpara de polimerización.

4.3.3.3 Material de Pulido

- Fresas y gomas.
- Piedra pómez y pasta profiláctica para pulir.
- Discos de pulir montados en un mandril.
- Tiras de pulir para espacios inter-proximales.



4.3.4 METODOLOGÍA

Previamente se prepara el equipo profesional de trabajo, con los pasos adecuados a seguir. A continuación, desglosaremos el procedimiento para la retirada de las restauraciones de amalgama dental con filtros de carbón activo.

4.3.4.1 Examen inicial

1ª Visita

Se realiza una historia clínica general y dental completa. Se toman registros que incluyen radiografía panorámica y fotografías intraorales, se realiza el odontograma correspondiente y se solicita al paciente datos o radiografías anteriores (si las hubiere). Antes del examen bucal se analiza el motivo de la consulta, si el cambio de restauración es por fines estéticos o por razones de intoxicación o sensibilidad a los metales remitida por su médico.

2ª Visita

Siempre acompañado de algún familiar, se le explica el diagnóstico y el procedimiento a realizar en cuanto a duración, cantidad de restauraciones, coste económico y si debe tomar o no algún suplemento. Se le explica los detalles del procedimiento que conciernen a la protección del paciente, del equipo de profesionales y del gabinete dental. Firma del consentimiento informado.

4.3.4.2 Protocolo de amalgama

3ª Visita

El objetivo de este procedimiento es reducir al mínimo cualquier exposición adicional del paciente, de nosotros mismos o de nuestro equipo al mercurio.



4.3.4.3 Protección del paciente

Al paciente se le cubre con un delantal de plástico debajo del babero dental para cubrir su ropa; con gafas protectoras para los ojos y gorro para el cabello. Además se le suministra por vía oral un comprimido de carbón activo, chlorella o zeolita, poco antes de comenzar el protocolo de extracción. También se prepara una dilución con carbón activo, chlorella o zeolita y agua para que se realice enjuague antes, durante y después del tratamiento de extracción. Esto ayuda a interceptar las partículas y quelar metales disueltos que pudieran filtrar durante el proceso.

4.3.4.4 Protección del personal de la clínica

El protocolo de protección llevado a cabo se aplica igualmente para los dentistas como auxiliares e higienistas dentales que se detallan a continuación.

- Delantal plástico sobre la ropa, con el objetivo de un aislamiento, que preserva la ropa libre de partículas de Hg, al ser retirado con posterioridad al finalizar el acto operatorio.
- Gafas para proteger los ojos, lo suficientemente grandes para que cubran pómulos, cejas y contorno de facies alrededor de los ojos.
- Gorro para proteger el pelo, en caso de las mujeres se recoge el pelo dentro del gorro.
- Máscara de filtrado homologadas con filtros especiales de carbono activo. Cualquier exposición al mercurio requiere que el operador lleve una máscara aprobada con filtro de mercurio. Se utiliza Máscaras de 3 M, aprobado por NIOSH/MSHA, para protección respiratoria contra no más de: 0.5 mg/m³ de vapores de Mercurio o no más de 5 ppm de Cloro. Filtros para máscara de 3M (filtros ·M 6096 A1HgP3 R).
- Protectores para zapatos (cubre zapatos PVC serie N° 3021).
- Guantes de nitrilo sin polvo MEDICALINE (P.S. Clase 1).



4.3.4.5 Gabinete dental

- Con el objetivo de mantener el gabinete dental libre de partículas nocivas, se requiere de ventilación natural, mediante apertura de ventanas al exterior, acompañados de purificadores del aire o ionizadores y filtros de alta potencia.
- La mesa operatoria se protege con paño quirúrgico donde se deposita el instrumental de trabajo. (Figura 17).



Figura 17: Protocolo de extracción de amalgama. Protección del paciente y profesionales.

4.3.4.6 Técnica. Acto operatorio: secuencia de tratamiento a seguir

- Colocación del dique de goma.

Colocación del dique de Goma (nitrilo), para evitar que las partículas entren en contacto con la mucosa oral y puedan ser absorbidas.

Antes de la colocación del dique de goma se realiza la técnica anestésica infiltrativa con Ultracain, articaina con epinefrina 40/0,005mg/ml NORMON, S.A.

Se utiliza una goma de nitrilo FlexiDam (Roeko-Coltene). Se perfora el dique de goma con un perforador específico para colocar el clamps con ayuda del higienista dental. Inmediatamente con la ayuda del porta-clamps se coloca el clamps en el perímetro del diente a tratar. Una vez aislado, se comprueba el sellado de la goma en el contorno del diente.



- Colocación del filtro nasal de carbón activo para el paciente.

Se utilizan Filtros Nasales Inspira Health® (carbón activo) para interceptar las partículas de vapor de mercurio. El paciente debe ser instruido para no respirar a través de su boca, solo lo hará por la nariz durante el tiempo que finalice todo el procedimiento. Hay dos medidas de filtros nasales (medianos y grandes), se elige el más indicado de acuerdo con los orificios nasales del paciente (Figura 18).



Figura 18: Colocación del dique de goma, gafas de protección y filtro nasal de carbón activo.

- Aspiración de alto volumen.

Se utiliza una aspiración de alto volumen con succión continua del agua sobre el dique de goma en el sitio donde se extrae la amalgama.

Con ayuda de la higienista dental, una extremidad del aspirador de alto volumen se coloca cerca del diente (a menos de 1,5 cm.) en todo momento para evacuar el vapor de mercurio que se genera durante el acto operatorio. Un segundo aspirador realiza la extracción de saliva colocado bajo el dique de goma.

- Eliminación de la aleación de mercurio.

Antes de comenzar con la retirada de la restauración, se selecciona una fresa de diamante troncocónica (talla 012) para contornear y seccionar el relleno de amalgama e intentar quitar en trozos de mayor tamaño y reducir la exposición,

durante el tallado. Para minimizar el vapor de mercurio y disminuir la temperatura generada por la fresa se irriga con abundante agua fría. Inmediatamente con la ayuda de una pinza de algodón se retiran los trozos seccionados. Para la eliminación completa de la aleación de mercurio sobre las paredes de la cavidad dentaria se utiliza una fresa de contra-ángulo de carburo tungsteno N° 3 con abundante irrigación. (Figura19).

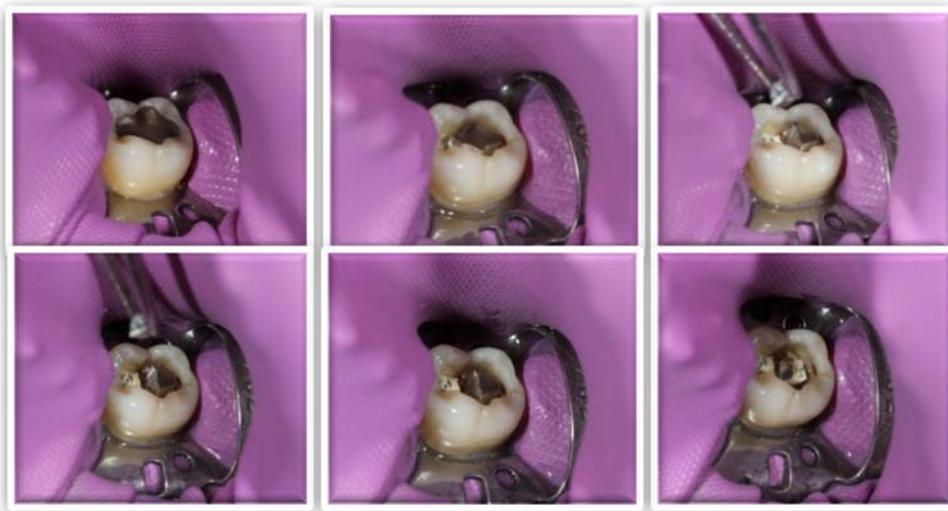


Figura 19: Acto operatorio, secuencia de fresado y retirada de trozos de amalgama dental.

➤ Desinfección de la cavidad operatoria.

Con la ayuda de una torunda de algodón diluida en Diguconato de Clorhexidina al 0,20 % se desinfecta la cavidad operatoria de la restauración durante 5 minutos. (Periokin solución 250 ml).

➤ Eliminación del dique de goma, enjuague y cambio de guantes.

Se retira con cuidado el dique contaminado con restos de la aleación del mercurio y se aconseja enjuagar con carbono activo o chlorella. Se retiran los guantes contaminados y la punta del eyector de succión y se los sustituye a ambos. A

continuación se prepara el procedimiento de restauración definitivo, entonces se re-aplica un dique de aislamiento nuevo.

- No se recomienda eliminar o quitar el atuendo de protección del paciente.

Sólo una vez finalizada la restauración definitiva debido a la volatilización y depósito de partículas de mercurio al ambiente del gabinete dental.

- Reevaluación de la cavidad operatoria.

La reevaluación de la cavidad permite seguir la opción más correcta. Se evalúa la cantidad de remanente dentario y la profundidad de la cavidad que nos indica si el proceso de restauración definitivo se realiza de manera directa con una restauración de resina composite o mediante una técnica indirecta (inlay u onlay) compartida con el laboratorio dental.

- Colocación del nuevo dique de goma.

Una vez finalizado el proceso de eliminación de la amalgama dental, se procede a la técnica de restauración definitiva habitual con composite.

- Restauración definitiva con composite.

Se realiza una restauración directa con composite. Si la cavidad fuese profunda se utiliza una base cavitaria, posteriormente se graba el esmalte superficial de la cavidad operatoria con ácido ortofosfórico al 37% durante 20 segundos, para luego realizar la técnica adhesiva y por último se coloca por capas de 1,5mm la restauración con composite. Luego se procede al acabado y pulido y control de oclusión de la restauración.

- Finalización del procedimiento de extracción de amalgama.



Una vez que el procedimiento de extracción de amalgama ha finalizado y terminado la restauración definitiva con composite, se humedeció una gasa con carbón activo y chlorella y se pasó alrededor del diente restaurado como así también sobre la mucosa del carrillo, piso de boca y lengua, para asegurar que no hay partículas residuales después del proceso. Finalizado el procedimiento se retiró el atuendo de protección al paciente y operadores.

➤ Recomendaciones post-operatorias.

Se dejó 30 minutos el ionizado y renovación del aire en funcionamiento en el gabinete dental antes de su próxima utilización.

Se le indicó al paciente las recomendaciones habituales después de un tratamiento restaurador.





RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 OBJETIVO I

EFFECTOS DE LA DIETA DURA (HD) /DIETA BLANDA (SD) SOBRE PARÁMETROS MECÁNICOS (PIT, PRT, BIC) EN PERROS BEAGLE (HEMBRAS)

A continuación, se indican únicamente los resultados estadísticamente significativos para los parámetros biomecánicos e histológicos estudiados (PIT, PRT, BIC). La muestra experimental que conformó el presente estudio consta de dos grupos de 3 perros Beagle hembra cada uno. El grupo de perros alimentados con dieta dura (HD, Hart Diet, del inglés) y aquellos alimentados con dieta blanda (SD, Soft Diet del inglés). Desde los 5 meses de edad y hasta los 23 meses que terminó el estudio, ambos grupos recibieron una dieta de diferente consistencia física, pero de igual calidad nutritiva. Los individuos de ambos grupos no mostraron ninguna diferencia sustancial a nivel general en su estado de salud durante todo el estudio y toleraron muy bien ambas dietas, ya que sólo se observó un menor peso en el grupo de dieta blanda (SD) frente aquellos alimentados con la dieta dura (HD).

Tras las 16 semanas de la colocación de los microimplantes en boca (144 exactamente) se describe una tasa de éxito del 89,71 % (7 fallidos de los 72 microimplantes totales para los de dieta blanda (SD) (3 superior y 4 inferiores) frente al 83,33 % para los alimentados con una dieta dura (HD); perdiéndose 12 de ellos (4 MIs en Maxilar y 8 en Mandíbula).

Ambos grupos experimentales presentaron inflamación gingival, y se observaron muelles de titanio atrapados y sumergidos en la encía. Sólo en 5MIs se observó una aparente estabilidad. Sin embargo, estos estaban sujetos por la hipertrofia gingival que los sostenía.

5.1.1 Evaluación del Torque máximo de inserción (PIT: Torque Insertion Peak) en perros alimentados con dieta blanda (SD) considerados conjuntamente el Maxilar y la Mandíbula, frente al grupo de dieta dura (HD: Max y Mand)

El análisis del test de Mann-Withney mostró un incremento significativo del porcentaje de PIT en los perros alimentados con dieta dura (HD) considerados conjuntamente el PIT Maxilar (Max) y el PIT Mandibular (Mand), en comparación al PIT total de los de dieta blanda (SD) (Maxilar y Mandibular juntos)($p=0.041$). (Figura 20).

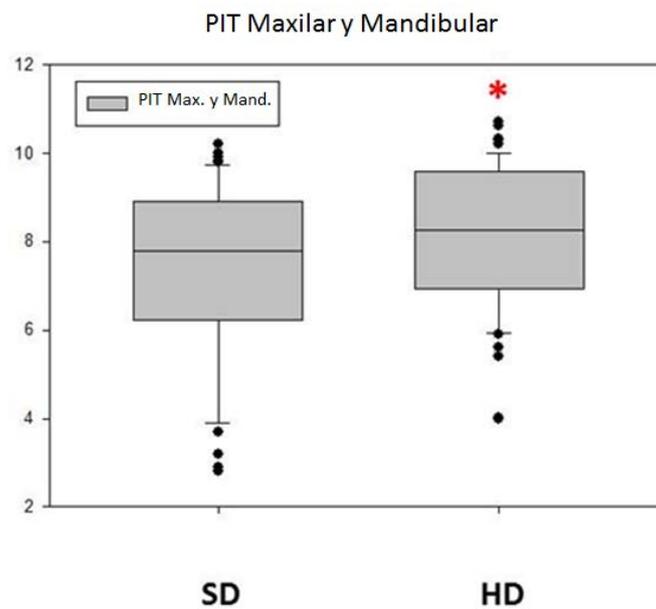


Figura 20: Incremento del PIT Total considerados conjuntamente Maxilar y Mandibular en los perros alimentados con dieta dura (HD).

PIT: Torque máximo de Inserción

SD: Dieta blanda Soft Diet

HD: Dieta dura Hard Diet

5.1.2 Efectos de la dieta blanda (SD) y dieta dura (HD) sobre el PIT Maxilar

El porcentaje de PIT (Torque máximo de Inserción) Maxilar aumentó en los perros alimentados con dieta dura (HD) frente a los alimentados con dieta blanda (SD), según el análisis estadístico no paramétrico de Mann-Whitney ($p < 0.05$; Figura 21).

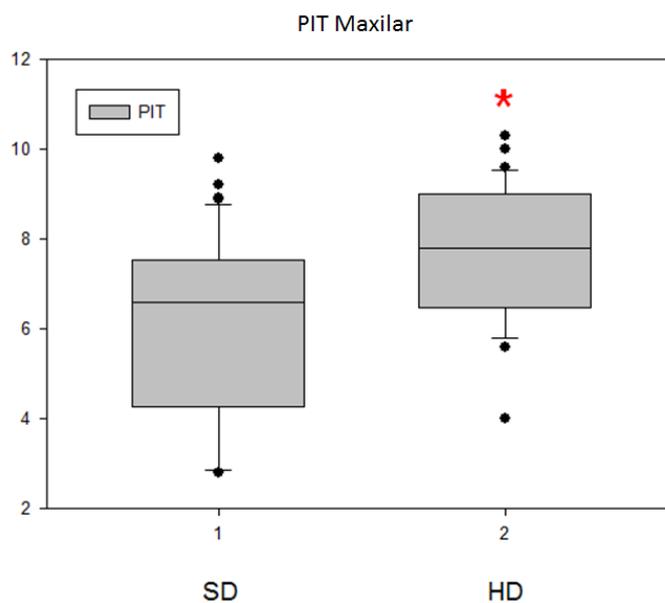


Figura 21: Elevados niveles de PIT Maxilar en perros alimentados con dieta dura (HD)

PIT=Torque Máximo de Inserción (Peak Insertion Torque, del inglés).

PIT: Torque de Inserción (Peak Insertion Torque, PIT total del inglés)

SD: Dieta blanda Soft Diet

HD: Dieta dura, Hard Diet

* $p < 0.05$ vs SD

Los efectos entre el grupo de dieta blanda (SD) y el grupo de dieta dura (HD) sobre el PIT Mandibular, no revelaron datos estadísticamente significativos (PIT-Mand; $p > 0.05$; n.s)



5.1.3 Efectos de la dieta dura (HD) sobre el PIT Maxilar y Mandibular

Los perros alimentados con dieta dura (HD) mostraban valores de PIT significativamente más elevados en la Mandíbula en comparación a la zona del Maxilar ($p < 0.05$, Figura 22).

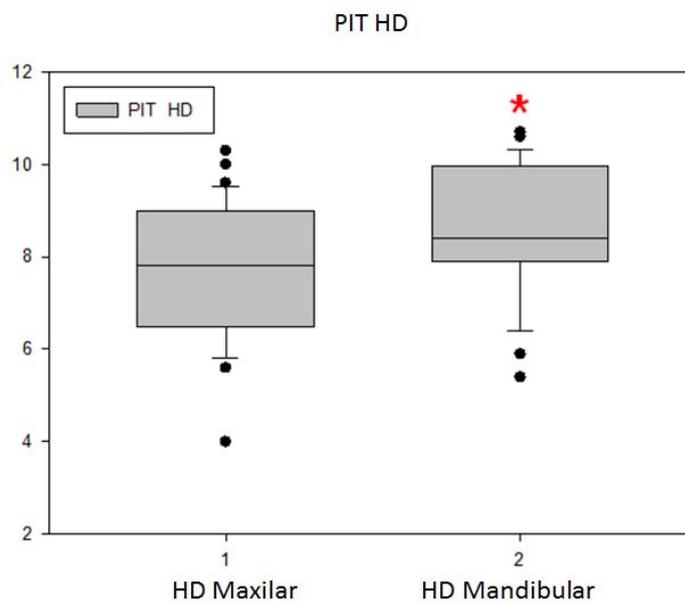


Figura 22: Elevados niveles de PIT mandibular frente al maxilar en los perros alimentados con la dieta dura (HD).

* $p < 0,05$ vs HD (Max)

HD Mand= PIT Total Mandibular en perros alimentados con dieta dura (HD)

HD Max= PIT Total Maxilar en perros alimentados con dieta dura (HD)



5.1.4 Efectos de la dieta blanda (SD) sobre el porcentaje de PIT (Torque máximo de Inserción) Maxilar frente al Mandibular

El análisis no paramétrico de Mann-Whitney reveló niveles incrementados de PIT (Torque máximo de Inserción) en la Mandíbula de perros alimentados con dieta blanda (SD) frente a los obtenidos para la zona del Maxilar (SD) ($p < 0.05$, Figura 23).

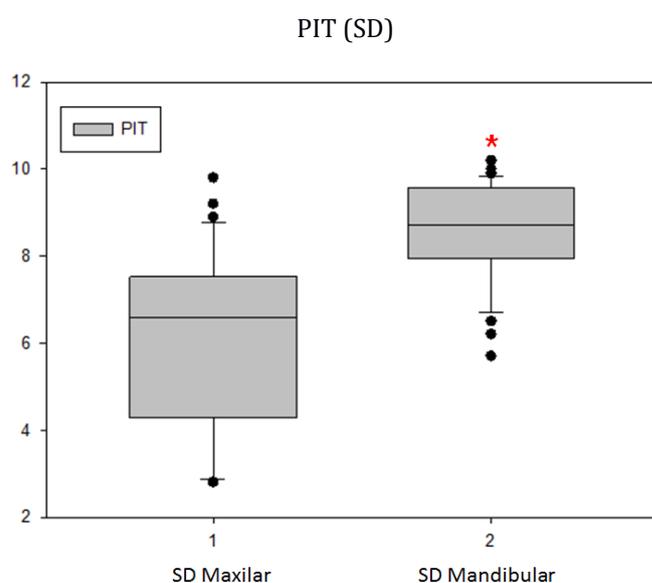


Figura 23: La dieta blanda (SD) incrementa el porcentaje de PIT (Torque de Inserción) Mandibular frente al PIT del Maxilar (SD, Max).

SD Max= PIT Maxilar en perros alimentados con dieta blanda (SD)

SD Mand= PIT Mandibular en perros alimentados con dieta blanda (SD)

* $p < 0.05$ vs SD (Max)

Los efectos de las diferentes dietas dura (HD) o blanda (SD) cuando se comparan conjuntamente el maxilar y la mandíbula en relación al lado derecho vs izquierdo, no mostraron diferencias significativas en el Torque máximo de Inserción (PIT) ($p > 0.05$; n.s.)

Los efectos de las diferentes dietas dura y blanda (HD vs SD) cuando se comparan conjuntamente el maxilar y la mandíbula en relación al lado derecho o izquierdo, no mostraron diferencias significativas en el Torque máximo de Inserción (PIT) ($p > 0.05$; n.s.)



5.1.5 Efectos de la dieta blanda (SD) y dieta dura (HD) sobre el PRT Mandibular

Los valores de PRT (Torque máximo de remoción) Mandibular fueron significativamente más elevados en los perros alimentados con dieta blanda (SD) frente a los de dieta dura (HD) ($p=0.007$; $p<0.05$, Figura 24).

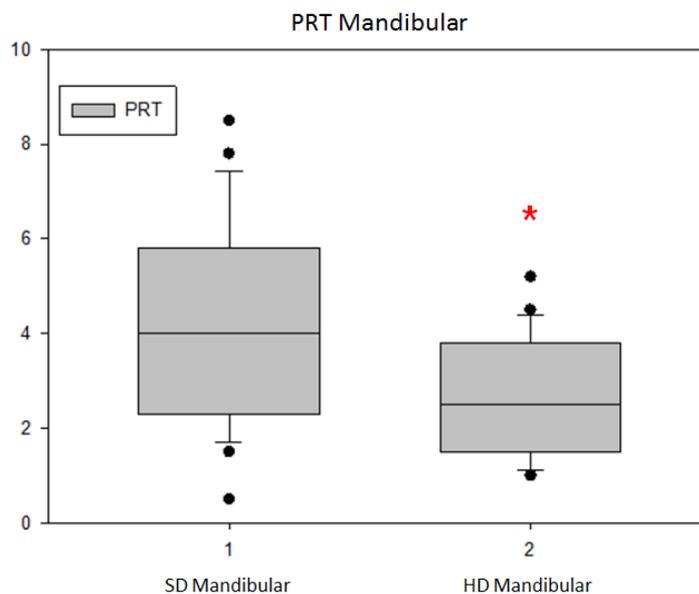


Figura 24: Elevados niveles del PRT Mandibular en los perros alimentados con dieta blanda (SD)

SD (Mand)= Dieta blanda en la Mandíbula

HD (Mand)= Dieta dura en la Mandíbula

* $p<0.05$ vs SD (Mandíbula)

Los efectos entre la dieta blanda (SD) y dieta dura (HD) sobre el PRT (Torque máximo de Remoción) de los MIs del Maxilar no evidenciaron datos estadísticamente significativos ($p>0.05$; n.s.)



5.1.6 Análisis del porcentaje de PRT (Torque máximo de Remoción o extracción) en el lado derecho de perros Beagle alimentados con dieta blanda (SD) frente a los de dieta dura (HD)

Los datos estadísticos muestran un descenso significativo del PRT considerados conjuntamente Maxilar y Mandibular derecho para los perros alimentados con dieta dura (HD) frente a los de dieta blanda ($p=0.01$, Figura 25).

En este caso, la potencia del estudio (1-beta) es de 0.7 para una nivel de significación p (alfa=0.05). Por el contrario del lado izquierdo no se observaron resultados significativos.

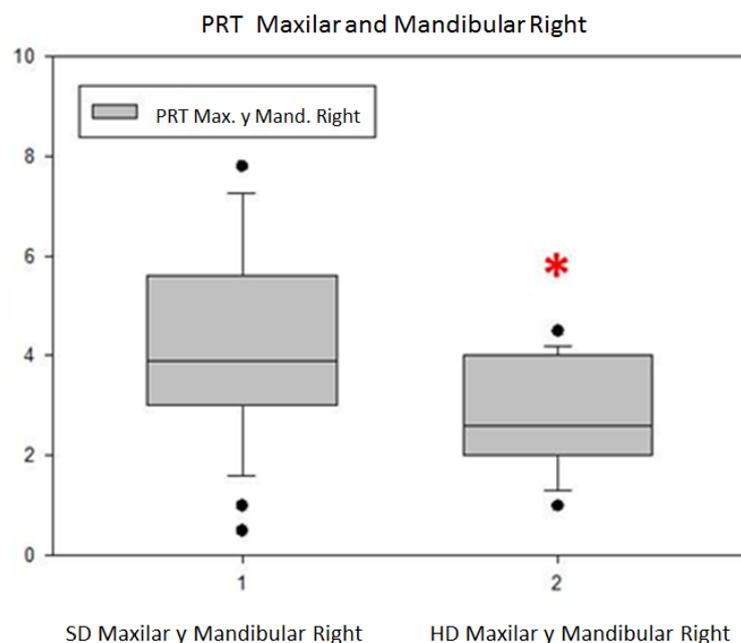


Figura 25: Elevados niveles de PRT Total del lado derecho en los perros alimentados con la dieta blanda (SD) considerados conjuntamente Maxilar y Mandibular.

Los datos de las siguientes combinaciones de PRT (Torque máximo de extracción) de los MIs, se nombran a continuación, con datos no mostrados.

El análisis por t de Student mostró una alta tendencia a incrementar prácticamente significativamente el PRT en el grupo alimentado con dieta blanda (SD) frente a los de dieta dura (HD), cuando se comparan conjuntamente los valores del PRT Maxilar y Mandibular (dato no mostrado, $p=0.054$; n,s). En esta situación, se observa homogeneidad de varianza, pero una potencia realmente baja para $p=0.05$; (potencia= $1-\beta$ 0.37; n.s; dato no mostrado)

Los efectos sobre el PRT entre el Maxilar y la Mandíbula en el grupo de perros alimentados con dieta dura (HD) no evidenciaron resultados estadísticamente significativos ($p>0.05$; n.s.)

Los efectos sobre el PRT entre el Maxilar y la Mandíbula en el grupo de perros alimentados con dieta blanda (SD) no mostraron resultados estadísticamente significativos ($p>0.05$; n.s.)

Los efectos de las diferentes dietas dura (HD) o blanda (SD) cuando se comparan conjuntamente el maxilar y la mandíbula en relación al lado derecho vs izquierdo, no mostraron diferencias significativas en el Torque máximo de Inserción (PRT) ($p>0.05$; n.s.)

5.1.7 Análisis del porcentaje de BIC (Superficie de Contacto Hueso-Implante Total) Dieta blanda vs Dieta dura

Análisis del porcentaje de BIC Total de los Microimplantes colocados en el grupo correspondiente a la dieta blanda (SD) del maxilar y la mandíbula (SD, Max+Mand) frente a los alimentados con dieta dura (HD, Max+Mand). Los valores porcentuales totales del BIC Total (Bone-to-Implant Contact) fueron significativamente más altos en los perros alimentados con dieta blanda (SD) frente a los de dieta dura (HD), según reveló el análisis estadístico de Mann-Whitney. La potencia (1-beta) fue de 0,76 para un valor alfa de $p=0.05$. (Figura26).

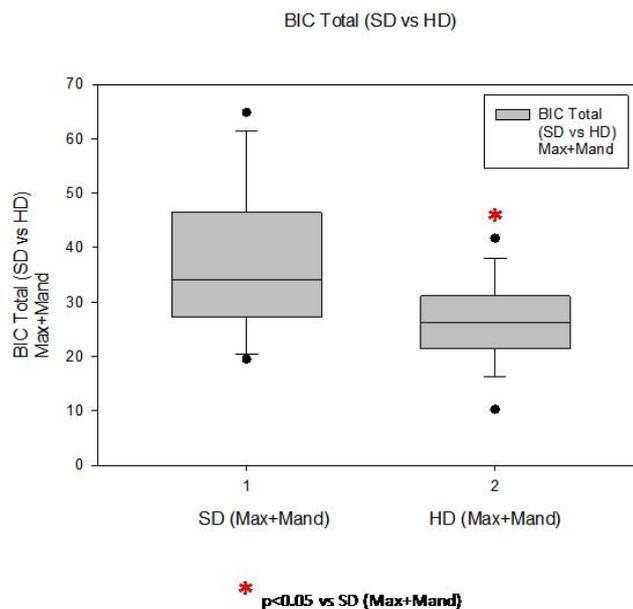


Figura 26: El BIC Total es más elevado en los perros alimentados con dieta blanda (SD).

* $p < 0.05$ vs grupo de dieta dura (HD)

SD=Perros Alimentados con Dieta Blanda (SD); Soft Diet del inglés

HD=Perros Alimentados con Dieta Dura (HD); Hard Diet del inglés

BIC T= (Bone-to-Implant Contact) (Superficie Hueso-Implante Total)



5.1.8 BIC (Bone-to-Implant Contact) Maxilar y Mandibular (SD vs HD)

Por otra parte, los valores porcentuales de los MIs obtenidos del BIC Maxilar en los perros alimentados con dieta blanda (SD) mostraron una alta tendencia a incrementar significativamente en comparación a los valores obtenidos para el grupo de dieta dura (HD), según el análisis de Mann-Whitney ($p=0.067$; n.s). Además, el análisis de Mann-Whitney, indicó al igual que lo expresado anteriormente, pero en el BIC Mandibular del grupo de dieta blanda (SD) tendían a incrementar significativamente en comparación al BIC Mandibular de los MIs colocados en el grupo de perros alimentados con dieta dura (HD Mand; $p=0.1$; n.s; consultar tabla1).

Tabla1. Porcentaje del BIC Total en los perros alimentados con dieta blanda (SD) vs dieta dura (HD) en el Maxilar y Mandibular, tendencias Maxilar y Mandibular

SD vs HD (Maxilar+Mandibular)	SD (Maxilar+Mandibular)	HD (Maxilar+Mandibular)	p
Media+-error relativo	34±5	26±3.13	*P=0.018 (p<0.05)
SD vs HD (Maxilar)	SD (Max) 36.89±11.6	HD (Max) 25±5.8	p p=0.067; n.s (tendencia)
SD vs HD (Mandibular)	SD (Mand) 36.9±13.53	HD (Mand) 26.15±7.7	p p=0.1; n.s (tendencia)

* $p<0.05$ vs BIC Total SD (Maxilar+Mandibular)

BIC= (Bone-to-Implant Contact): Superficie contacto hueso-implante



5.1.9 Efectos del lado derecho (SD vs HD) en los valores porcentuales de BIC

Además, se observó que los perros alimentados con dieta blanda (SD) tenían valores porcentuales más altos frente a los de dieta dura (HD) en el lado derecho ($p < 0.05$), según reveló el análisis de Mann-Whitney. (Figura 27). Por el contrario del lado izquierdo no se observaron resultados significativos.

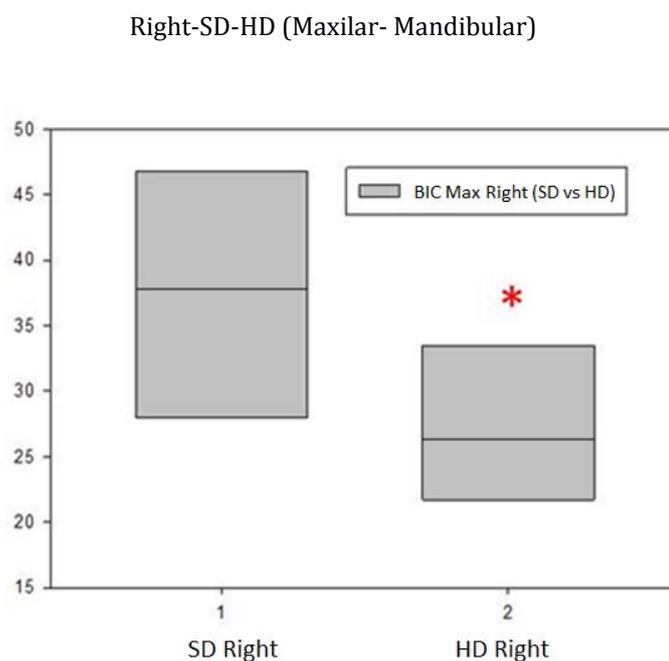


Figura 27: Valores de BIC más elevados en el lado derecho de perros alimentados con dieta blanda (SD).

SD (Rigth)= Perros alimentados con dieta blanda (SD) en lado derecho (Rigth)

HD (Rigth)= Perros alimentados con dieta dura (HD) en el lado derecho (Rigth)

BIC Max Rigth (SD vs HD): Valores porcentuales de Superficie

Total hueso-Implante en el lado derecho; (Rigth del inglés)

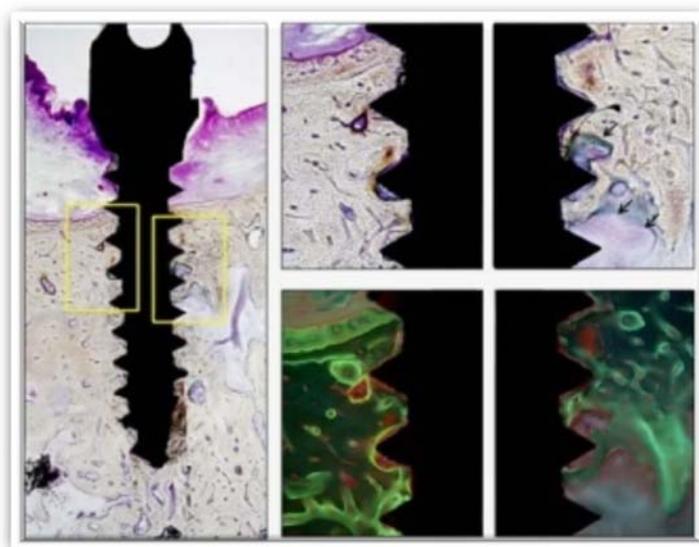
Por otro lado los efectos de las diferentes dietas dura (HD) o blanda (SD) cuando se comparan conjuntamente el maxilar y la mandíbula en relación al lado derecho vs izquierdo, no mostraron diferencias significativas en el Contacto hueso- implante (BIC) ($p > 0.05$; n.s.)

Los efectos sobre el BIC (contacto hueso-implante) entre el Maxilar y la Mandíbula en el grupo de perros alimentados con dieta blanda (SD) como los alimentados con dieta dura (HD) no mostraron resultados estadísticamente significativos ($p>0.05$; n.s.)

5.1.10 Análisis Histomorfométrico en perros de dieta blanda (SD) vs dieta dura (SD)

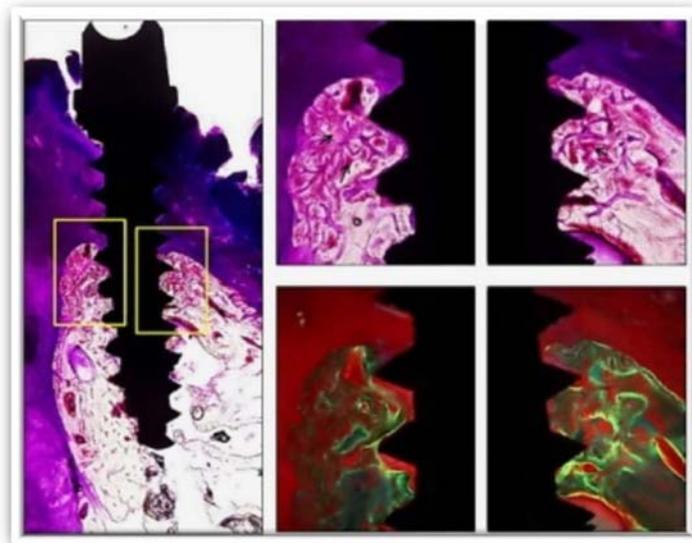
Las imágenes obtenidas por microscopia de luz y fluorescencia destacan las diferencias obtenidas entre ambos grupos experimentales.

En la imagen representativa del grupo de dieta blanda (SD) del análisis histomorfométrico de la figura 28, corresponde a un Microimplante mandibular. Se puede apreciar en la sección sagital del MI, un BIC total de 44,68% que representa la formación del porcentaje de tejido óseo en contacto con el MI. La mucosa que rodea al MI presenta un infiltrado inflamatorio leve. El tejido óseo interrosca y perimplante revela una buena densidad ósea. Sin embargo, algunas porciones muestran reabsorción ósea con estrechamiento de los espacios medulares. Se observa una activa deposición ósea en el hueso marginal, haciendo frente a la superficie del implante y la superficie interna de los canales Haversianos.



*Figura 28: Imagen histomorfométrica.
Microimplante Grupo Dieta Blanda (SD).*

Vista de la imagen histomorfométrica (figura 29), que corresponde a un Microimplante maxilar que pertenece al grupo de dieta dura (HD), en esta sección podemos apreciar un BIC total de 21,27%. La mucosa que rodea al MI y cubre el hueso presenta un proceso inflamatorio severo. El hueso cortical que rodea el microimplante está altamente vascularizado con un decrecimiento de la densidad ósea. El hueso interosca de la porción superior muestra una marcada reabsorción de los tejidos óseos y peri-implantario. Una deposición ósea activa se nota en el hueso a lo largo de los márgenes óseos. Se observa ligeramente ladeado.



*Figura 29: Imagen histomorfométrica.
Microimplante Grupo Dieta Dura (HD).*

5.2 RESULTADOS OBJETIVO II

5.2.1 Niveles incrementados de ciertos metales pesados en pelo (Hg, Al, Ag, Ba) medidos por Espectrometría Inducible de Masas en mujeres portadoras de cuatro o más amalgamas dentales

El análisis de metales pesados se realizó por espectrometría de masas ICP-MS en pelo ($\mu\text{g/g}$ en pelo; ICP-MS, Inductible Couple, Mass Spectrometry del inglés), que reveló niveles incrementados de ciertos metales en pelo (Hg, Al, Ag, Ba), tanto en las mujeres portadoras de cuatro (<4; n=27) como en aquellas con más de cuatro amalgamas dentales en boca (>4, n=15) durante al menos 10 años (presencia media de amalgamas en boca de 15 años) en comparación a los de mujeres controles sin amalgamas (n=13).

5.2.2 Mercurio total

Los niveles de mercurio (Hg) total en pelo, tanto en mujeres portadoras de cuatro o menos amalgamas dentales (n=27) como en aquellas con más de 4 amalgamas en boca (n=15) incrementaban significativamente en comparación al grupo control sin amalgamas dentales (n=13) ($p < 0.05$, en ambos casos). El grupo experimental que englobó todos los pacientes con amalgamas dentales (n=42, Amalgama) mostró niveles significativamente más elevados de mercurio frente al grupo control ($p < 0.05$). Sin embargo, no se evidenciaron diferencias significativas entre ambos grupos con amalgamas ($p > 0.05$; n, s; Figura 30).

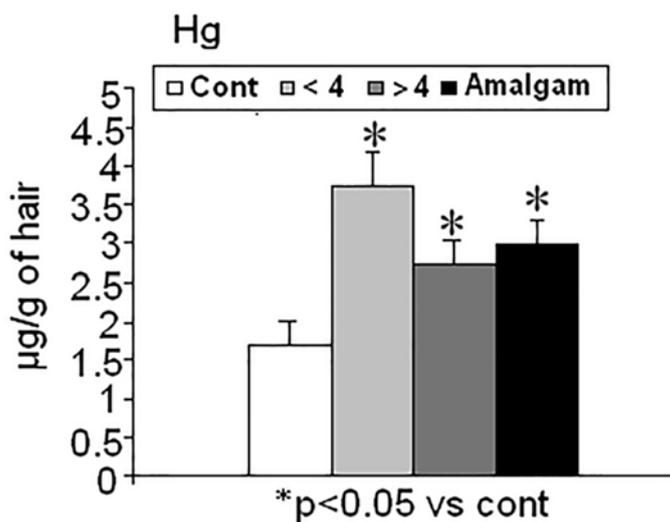


Figura 30: Niveles incrementados de mercurio (Hg) en pelo en función del número de amalgamas dentales presentes en boca.

5.2.3 Aluminio (Al)

Los niveles de aluminio (Al) aumentaban significativamente en mujeres portadoras de 4/menos amalgamas (n=27) y también en aquellas con más de 4 amalgamas en boca (n=15) frente al grupo control sin amalgamas ($p < 0.05$, en ambos casos). El grupo experimental Amalgama (n=42) (contiene todos los pacientes con restauraciones de amalgamas dentales), evidenció un incremento significativo de Al frente al grupo control ($p > 0.05$). Tampoco existen diferencias significativas para Al dependiendo del número de amalgamas en boca, ya que no hay diferencias significativas en las portadoras de 4 amalgamas frente a aquellas con más de cuatro amalgamas en boca ($p > 0.05$; Figura 31).

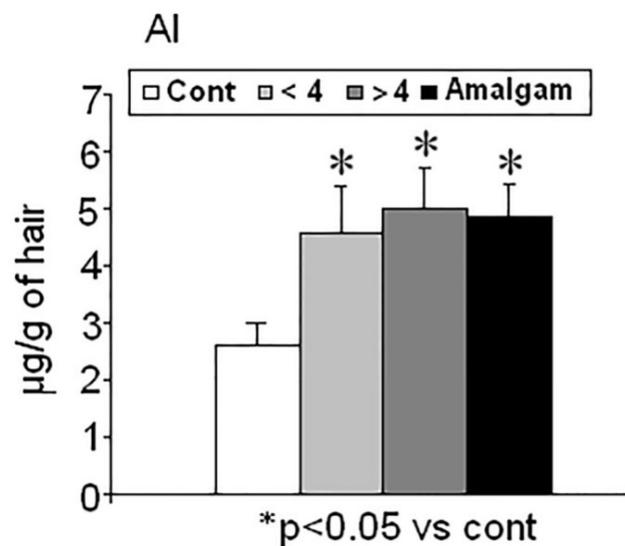


Figura 31: Niveles incrementados de aluminio (Al) en pelo en función del número de amalgamas dentales presentes en boca.

5.2.4 Plata (Ag)

Los resultados medidos por ICP-MS evidenciaron niveles significativamente incrementados de plata (Ag) en mujeres portadoras tanto de cuatro amalgamas (n=27) ($p < 0.05$) como en aquellas con más de cuatro amalgamas (n=15) ($p < 0.05$), frente al control en ambos casos. Además, el grupo amalgama (n=42) que incluye todas las mujeres con amalgamas dentales evidenció niveles significativamente más elevados de Ag frente a los controles ($p < 0.05$). Tampoco se observaron diferencias relevantes entre los portadoras de cuatro o más de cuatro amalgamas en boca entre ellos ($p > 0.05$, n.s; Figura 32).

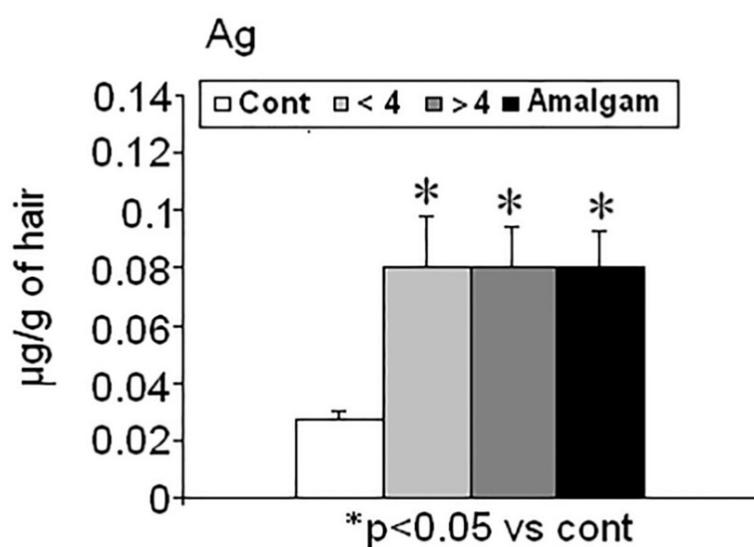


Figura 32: Niveles incrementados de plata (Ag) en pelo en función del número de amalgamas dentales presentes en boca.

5.2.5 Bario (Ba)

En el caso del bario (Ba), observamos un incremento significativo en pelo, tanto en el grupo de menos de cuatro ($n=27$) como en aquellos con más de cuatro amalgamas ($n=15$) frente al grupo control ($n=13$) ($p<0.05$ en ambos casos). Además, el grupo amalgama ($n=42$) que abarca todas las mujeres con amalgamas mostró niveles significativamente más elevados de Ba frente al control ($p<0.05$). Tampoco se evidenciaron diferencias entre ambos grupos experimentales portadores de amalgamas ($p>0.05$, n.s, Figura 33).

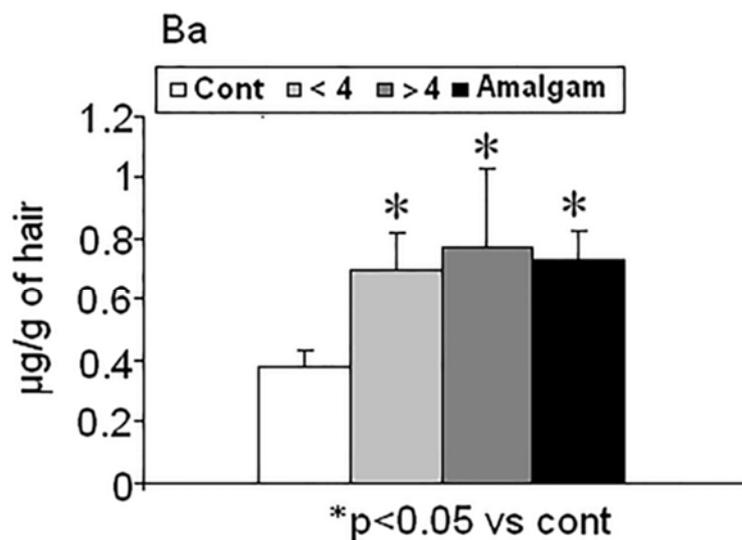


Figura 33: Niveles incrementados de bario (Ba) en pelo en función del número de amalgamas dentales presentes en boca.



5.2.6 Ausencia de efectos para una plétora de metales pesados en pelo medidos por espectrometría de masas

En la tabla adjunta se muestran las medias y el error relativo (varianza/raíz de n) de otros metales que se han analizado en la presente tesis doctoral [Sn (estaño), Ni (Níquel), Ti (Titanio), Pb (Plomo), Cd (Cadmio)] en función del número de amalgamas ($p > 0.05$, n.s; en todos los casos analizados). Tampoco se evidenciaron efectos significativos en los niveles de otros metales en pelo medidos por ICP-MS, tales como Sb (Antimonio), Be (Berilio), Bi (Bismuto), Tl (talio), Th (Torio), U (Uranio), $p > 0.05$ en todos los casos considerados). En la tabla adjunta se muestran las medias y el error relativo para cada uno de ellos (Tabla 2).

($p > 0.05$) n.s	Control	<4	>4	Amalgama
Sn	0.098 ± 0.025	0.69 ± 0.38	0.87 ± 0.57	0.75 ± 0.31
Ni	0.012 ± 0.025	0.0543 ± 0.038	0.51 ± 0.18	0.2 ± 0.067
Ti	0.446 ± 0.047	0.49 ± 0.071	0.394 ± 0.036	0.45 ± 0.047
Pb	0.93 ± 0.26	1.08 ± 0.2	0.48 ± 0.17	0.89 ± 0.14
Cd	0.013 ± 0.003	0.017 ± 0.005	0.19 ± 0.012	0.1 ± 0.0032

Tabla 2. Ausencia de cambios significativos en metales pesados medidos en pelo (Sn, Ni, Ti, Pb, Cd) por ICP-MS y en otros no mostrados (Sb, Be, Bi, Tl, Th, U) en función del número de amalgamas presentes en boca.



<4 =Mujeres portadoras de 4 o menos amalgamas dentales (empastes) en boca durante al menos diez años en boca (media en boca: 15 años), n= 27

>4 =Mujeres portadoras de más de 4 amalgamas dentales en boca durante al menos diez años en boca (media en boca:15 años). n=15

Amalgama =**<4+>4** (Mujeres con amalgamas dentales en boca de ambos grupos experimentales con amalgamas, n=42)

Control =Mujeres controles sin amalgamas y sin implantes en boca. n= 13

*p<0.05 en comparación al grupo control

Niveles de metales pesados en pelo de mujeres portadoras de cuatro/menos amalgamas dentales (<4; n=27), o del grupo con más de cuatro amalgamas (>4; n=15), frente a mujeres controles sin amalgamas dentales (cont; n=13). El grupo experimental amalgamas (Amalgama) incluye todos los pacientes con amalgamas dentales, independientemente del número de amalgamas presentes en boca; (n=42).

5.2.7 Elevada actividad de SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1) y altos niveles de Glutación reducido (GSH) sistémicos, como posibles biomarcadores de la toxicidad crónica de metales pesados en mujeres portadoras de amalgamas dentales durante un largo período de tiempo

5.2.7.1 Elevada actividad SOD-1

En el presente estudio, las mujeres portadoras de amalgamas dentales mostraban un incremento de la actividad SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1 (Zn/Cu) dependiente Figura 34) y altos niveles sistémicos de Glutación (forma reducida, GSH. Figura 35) frente a sus respectivos grupos controles sin amalgamas ($p < 0.05$, $n = 42$, en ambos casos).

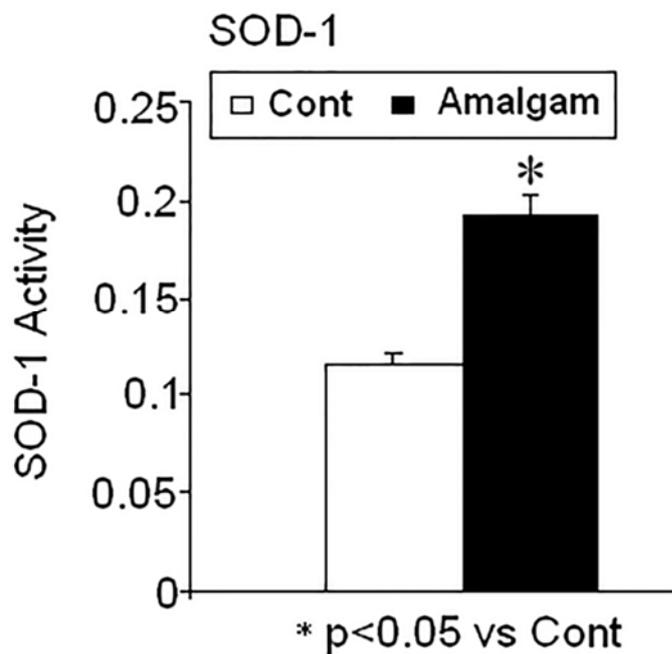


Figura 34: Niveles incrementados de la actividad SOD-1 como posible biomarcador de la toxicidad crónica del mercurio en pacientes portadoras de amalgamas dentales.

5.2.7.2 Altos niveles de Glutación

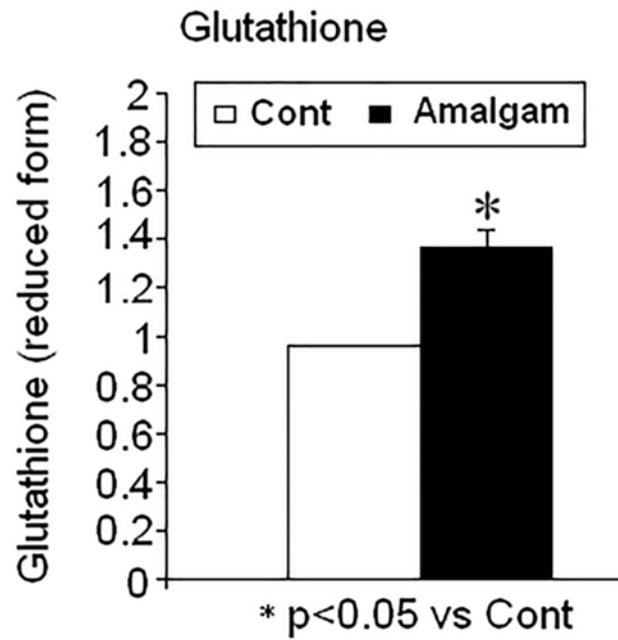


Figura 35: Niveles incrementados de Glutación reducido (GSH) sistémico como posible biomarcador de la toxicidad crónica del mercurio en pacientes portadores de amalgamas dentales.

5.2.8 Elevados niveles de Zinc (Zn) medidos en pelo de portadoras de amalgamas dentales

Dado que el oligoelemento zinc (Zn) es clave en la actividad de la SOD-1, sus niveles fueron medidos mediante ICP-MS en pelo. Los datos indican que los pacientes con amalgamas dentales (grupo Amalgama que incluye todas las portadoras de amalgamas) mostraron niveles significativamente incrementados en relación al grupo control sin amalgamas ($p < 0.05$, figura 36).

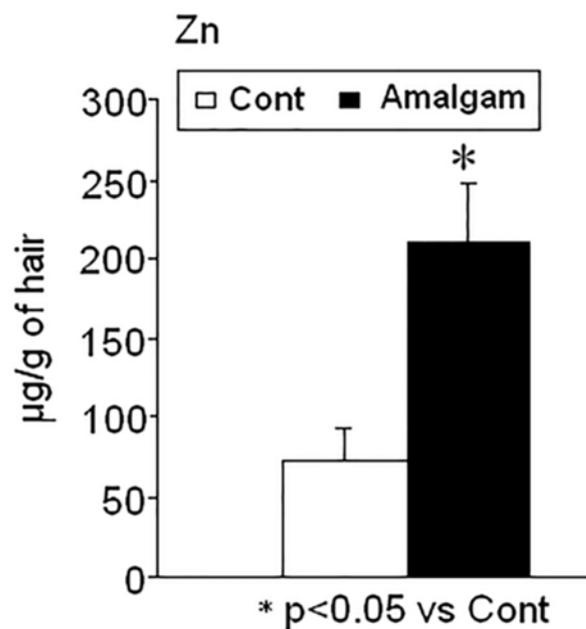


Figura 36: Niveles incrementados de zinc (Zn) en portadores de amalgamas dentales, medidos en pelo ($\mu\text{g/g}$ de pelo) por ICP-MS frente a su control (sin amalgamas dentales, $n=13$).

5.2.9 Correlación entre la actividad SOD-1/mercurio (Hg) y niveles sistémicos de Glutación reducido sistémico y de aluminio en pelo (Al)

El análisis de r de Pearson en mujeres con amalgamas dentales (Amalgama) evidenció una correlación positiva entre actividad sistémica de SOD-1 ($r=0.6$; $p<0.05$, $n=42$) y los niveles de mercurio. Además, se observó una correlación positiva entre los niveles sistémicos de Glutación reducido y Al medidos en pelo ($r=0.48$, $p<0.05$, gráficas no mostrados).

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el software SPSS V17.0 y Sigma Plot 11.0, mientras que la potencia del estudio se calculó con el programa G Power (licencia y uso permitido por UCLA, Los Ángeles, USA; on line).

El análisis de homogeneidad de varianza permite conocer si se realizarán el análisis estadístico de una serie de datos mediante el test de Mann Withney en caso de que exista homogeneidad de varianza se realizaría mediante (ANOVA) para comparar varios grupos experimentales entre ellos. En tal caso, los análisis pos Hoc se realizaron mediante t Student cuando se comparan dos grupos experimentales dos o dos mediante el test de Bonferroni si se comparan estadísticamente diferentes grupos experimentales dos a dos entre ellos.

Para cada grupo experimental, se indicó la media de los metales pesados en pelo y el error relativo de la media. El error relativo de la media se evalúa con la varianza del grupo dividido por la raíz de n , siendo n el tamaño muestral de cada grupo experimental, incluidos controles. Las diferencias entre los grupos experimentales se evaluaron mediante ANOVA y posterior análisis post-Hoc por t de Student (2 colas) o mediante Bonferroni, tal como se ha reseñado.



DISCUSIÓN

6 DISCUSIÓN

6.1 OBJETIVO I a-b

La función de los músculos masticatorios y su influencia en el crecimiento cráneo-facial han sido ampliamente investigado en experimentos con animales y estudios clínicos (Kiliaridis, 2006; Hichijo y cols., 2015). La gran mayoría de estudios clásicos describen como la masa ósea y la mineralización están muy influenciados por la carga que reciben (Frost, 2004). Se sabe que, la forma en que se reciben estas cargas masticatorias depende, de factores endógenos (edad, sexo, acidificación) y exógenos (estrés, alimentación), así como de la carga genética de los individuos (Kiliaridis, 2006; Corruccini y Whitley, 1981). La función principal de los Microimplantes en ortodoncia es proporcionar anclaje durante el tratamiento de ortodoncia, por tanto su estabilidad primaria como secundaria es crucial durante el tratamiento (Park, 2009).

El presente estudio experimental en perros Beagle (hembra), se llevó a cabo para determinar si el potencial masticatorio influye durante el crecimiento óseo y éste en relación a la estabilidad bajo carga de los MIs. Para este objetivo escogimos el modelo experimental canino, debido a la dificultad de extrapolar los resultados obtenidos en implantología oral utilizando tanto técnicas in vitro como estudios de análisis de elementos finitos, crea la éticamente cuestionada necesidad de realizar investigación experimental en modelos vivos, cuya composición ósea y tejidos reaccionen de una forma semejante al humano. Asumiendo que otros modelos como el cerdo (omnívoro) o primates no humanos, se acercan más a las funciones masticatorias humana, no consideramos oportuno esos modelos animales en este estudio (Larsson y cols., 2005; Wang y cols., 2007; Melsen y Lang, 2001).

De acuerdo a la bibliografía consultada, no hemos encontrado trabajos experimentales similares a este, donde se conjugue la influencia de la consistencia física de la dieta sobre la estabilidad del los MIs.

El uso de un solo género fue un intento de eliminar cualquier variación en las características de hueso debido al dimorfismo sexual (Hichijo y cols., 2015). El hecho de escoger hembras fue porque consideramos que es un modelo poco estudiado, de

hecho, aproximadamente un 80 % de estudios publicados se realizan en machos. Nuestro estudio finalizó con adultos de 23 meses de edad y no encontramos mayores diferencias en relación a otras investigaciones.

En la literatura científica de acuerdo al modelo animal, los estudios experimentales sobre campo óseo se inician a edades tempranas (Mavropoulos y cols., 2004; Larsson y cols., 2005; Kiliaridis, 2006; Hichijo y cols., 2015) en base a estas consideraciones, nosotros comenzamos a los 5 meses de edad el suministro de una dieta de igual calidad nutritiva pero de diferente consistencia física, por ello dividimos el estudio en dos grupos: dieta dura HD (HD, Hard diet, del inglés) y dieta blanda SD (SD, Soft diet, del inglés).

Los individuos de ambos grupos no mostraron ninguna diferencia sustancial a nivel general de salud durante todo el estudio, pues solo se observó una media menor de peso en el grupo de SD en relación a los de HD, en consonancia con los estudios de Larsson y cols., (2005) (Larsson y cols., 2005).

Este estudio se diseñó para evaluar el efecto de las diferentes consistencias físicas de la dieta y de igual calidad nutritiva, aplicadas durante el crecimiento y edad adulta en una muestra canina, sobre el hueso en relación a la estabilidad mecánica e histológica de los MIs.

El mayor éxito de los MIs en la dieta blanda (SD) podría deberse a que amortiguaron mejor las tensiones óseas durante la masticación debido a la baja carga que exige la dieta de consistencia suave. Por el contrario, bajo las mismas condiciones de carga inmediata, los microtraumas derivados del aumento de consistencia en la misma, podrían favorecer la presencia de tensiones derivados de la masticación y transmitirlos al hueso, así como también los impactos durante el proceso de masticación, transmitirlos a las cabezas de los MIs, lo que podría predisponer a lesiones y microfisuras óseas (Huja y cols., 2006). La diferencia en la alimentación con piensos más consistentes podría ser la causa de la disminución en la estabilidad de los MIs en el grupo HD (Frost HM, 1994, 2004).

Aunque este estudio llevó a cabo, la imprimación dejada por la influencia de las diferentes consistencias físicas de la dieta durante el crecimiento hasta la edad adulta de los animales, esta tesis solo describe el efecto directo de ésta sobre los resultados

obtenidos a través del PIT (Torque máximo de inserción), en relación con la estabilidad de los Microimplantes.

Consideramos a la dieta dura como la dieta normal y comúnmente aplicada durante los estudios experimentales, es la dieta blanda o suave (SD) la que impone la diferencia y la singularidad buscada en nuestro estudio para evaluar el comportamiento de los Microimplantes bajo carga inmediata.

En cuanto a nuestros datos obtenidos sobre 144 MIs, la tasa de éxito del 89,71%, 7 fallidos de 72 MI fue para la SD (3 superior y 4 inferiores) frente a un 83,33% en HD, de ellos perdiéndose 12 en total (4 MI en maxilar y 8 en mandíbula) en consonancia con otros estudios que encontraron resultados aproximadamente similares de un 86% (Owens y cols., 2007; Chen y cols., 2008). Sin embargo, Ohmae y cols., (2001) evidencian un 100% de éxito de los MIs de 4mm y 150gr., colocados en perros Beagle durante 12 y 18 semanas, al igual que el 100% de éxito que informó Mortensen y cols., (2009) sobre los MIs colocados de 6mm, pero con 600gr. y 900gr. de carga en un estudio experimental al igual con perros Beagle (Ohmae y cols., 2001; Mortensen y cols., 2009).

Se considera la estabilidad primaria, la ausencia de movilidad del MI en el interior del hueso una vez colocado y ésta depende en gran medida de la calidad ósea y el método de colocación entre otros factores (Huja y cols., 2005; Park, 2009).

También la superficie del MI juega un papel importante, ya que varios estudios realizados sobre implantes como MIs concluyen que la adaptación ósea sobre la superficie lisa es menor en comparación con superficies rugosas. De hecho, algunos autores han mencionado una proporción de hasta 10 veces menor dicho contacto en implantes (Kim y cols., 2009; Trisi y cols., 1999).

En contraposición a lo esperable en los implantes, el uso del MI es temporal y su superficie permite la fácil retirada del mismo después del uso previsto. A partir de estas observaciones, nuestros datos no mostraron diferencia en comparación con otros estudios relacionados con superficies tratadas (Kim y cols., 2009).

En nuestro estudio todos los MIs se colocaron con perforación previa por el método autoroscante (Self-Tapping) (Sung y cols., 2006; Kyung y cols., 2003; Chen y cols., 2008). De acuerdo con los resultados de estos estudios, esta técnica facilita la

colocación y la carga inmediata sin afectar la estabilidad inicial de los MIs (Huja y cols., 2005; Wang y Liou, 2008; Chen y cols., 2008).

Sin embargo, los MIs autoperforantes que se insertan directamente, han demostrado tener mayor contacto y fricción mecánica con el hueso, de ésta manera resistirían mejor los micromovimientos que aseguran una estabilidad mecánica inicial (Kyung, 2002; Chen y cols., 2008).

A este respecto conviene señalar que ante la presencia de una raíz, el método ST (Self-Tapping), nos permite cambiar la dirección del fresado sin perforar o lacerar dicha raíz durante la colocación del MI, como describe la técnica del Dr. Kyung y cols., (2003). De esta manera alejamos el MI de la raíz a una distancia mayor de 0,5 mm y evitamos el riesgo de fallo del MI por contacto radicular (Kuroda y cols., 2007b; Cho y Kyung, 2010). Estas consideraciones estuvieron presentes en nuestro estudio.

Por otro lado un aumento de calor durante el fresado, aumenta el índice de fallo de los MIs, específicamente en la mandíbula, que presenta una cortical más densa y de mayor grosor (Tehemar, 1999). Este hecho, podría inducir necrosis, tejido conectivo no diferenciado y evitar adaptación ósea alrededor del MI, por ello, nuestro fresado se realizó con contra-ángulo reductor de 32/1 a baja revolución con especial atención en la mandíbula y con abundante irrigación de solución fisiológica que reduce la generación de calor acompañando con un fresado suave en forma de tapping. No obstante, ello no implica conseguir en mandíbula o corticales de mayor espesor un resultado diferente frente al ya descrito en la literatura.

Nuestro mayor índice de MIs fallidos se observaron en la mandíbula, independientemente de la dieta (Miyawaki y cols., 2003) en consonancia con los estudios de Park (2009) por lo que sería el método Self-tapping idóneo ante la presencia de corticales mayores de 2mm de espesor (Alrbata y cols., 2014).

De acuerdo con Park, (2009) se aconseja una carga no superior a 200 gr., cuando el MI presenta una estabilidad firme y pasados tres meses, se podría incrementar la carga. Con este método de aplicación de fuerza escalonada, se logra un índice de 90% de éxito (Park, 2009).

Debido a las limitaciones en nuestro estudio, las fuerzas utilizadas fueron de aproximadamente 150 gr., de carga inmediata. Pensamos que es posible que influyera

en los diferentes sistemas de fuerzas a los que estaban sometidos ambos grupos experimentales, influenciado por el umbral de reabsorción y remodelados óseos en cada situación, de acuerdo a los resultados hueso-microimplante obtenidos. En consonancia, Deguchi y cols., (2003) sugirieron que un período de 3 semanas de curación en perros, equivale aproximadamente a 4-5 semanas en humanos y los autores consideran este tiempo necesario, para soportar una carga ortodóncica, ante el riesgo de fallo de una carga inmediata en un hueso menos favorable como el maxilar (Deguchi y cols., 2003; Kim y cols., 2008).

Tras un estudio de análisis de elementos finitos, se puede afirmar que la carga inmediata o temprana no permite el tiempo suficiente para que el hueso pueda aliviar las tensiones de inserción de remodelado o de otros mecanismos de relajación. Esto tiene su importancia cuando el ajuste es lo suficientemente apretado y las tensiones de inserción generadas por sí misma son marcadamente altas como para causar grietas en el hueso y desencadenar reabsorción ósea patológica (Burr y cols., 1997). Estos hallazgos sugieren que en el análisis biomecánico se debe considerar tanto el efecto de inserción como la carga de ortodoncia (Yu y cols., 2012). Los autores concluyen que no es la fuerza de ortodoncia o el momento de su aplicación solamente, sino que las condiciones de inserción también determinan la respuesta del hueso al microimplante y por ende, el pronóstico de la terapia con ellos (Yu y cols., 2012).

El torque máximo de inserción (PIT) es el producto de la resistencia de inserción cuando el MI está siendo atornillado en el hueso. Esta resistencia es proporcional a la cantidad de compresión del hueso o el estrés radial, que puede ser utilizado como una referencia para supervisar la tensión de inserción (Yu y cols., 2012). Algunos investigadores propusieron como una guía clínica el torque de inserción con objeto de maximizar la capacidad de supervivencia de los MIs (Motoyoshi y cols., 2006).

Sin embargo, en nuestro estudio para establecer las diferencias entre las consistencias físicas de la dieta administradas durante el crecimiento de los animales, teniendo en cuenta el maxilar y la mandíbula de cada grupo como PIT total, que resultó un incremento estadísticamente significativo del porcentaje del torque máximo de inserción (PIT) en los perros alimentados con dieta dura (HD).

Otros estudios denotan, el torque de inserción como la resultante de muchos otros factores, incluyendo el tamaño del implante, estado de la superficie, diseño de rosca, la calidad del hueso, y así sucesivamente describen mas factores, por ello, no puede ser correlacionado con precisión a las tensiones localizadas directamente sobre él (Park, 2009; Yu y cols., 2012). La falta de metodologías o instrumentos para medir las tensiones del hueso ha obligado a usar medidas indirectas como el torque máximo de inserción.

El PIT, que representa la fuerza de agarre para resistir el aflojamiento y pérdida de los MIs (Chen y cols., 2008; Hichijo y cols., 2015) apoya nuestros resultados como un registro útil, debido a la evidencia de que las diferentes consistencias físicas de la dieta, parecen influir sobre la calidad y densidad ósea.

Nuestros resultados obtenidos, evidenciaron un incremento del (PIT) en los perros del grupo de HD en el maxilar en contraste con los alimentados con dieta blanda, contrariamente no se encontró evidencia estadísticamente significativa entre ambos grupos de igual modo en la mandíbula.

De acuerdo a nuestros datos obtenidos, serían coincidentes con los publicados por Becher y Corruccini (1981) quienes evaluaron la influencia de los parámetros de la consistencia física de la dieta sobre hueso (Becher y Corruccini 1981; Bouvier y Hylander 1981). Nuestros resultados exponen diferencias estadísticamente significativas en el torque máximo de inserción (PIT) no solo entre ambos grupos caninos de SD vs HD, sino también si se coloca en la mandíbula o el maxilar mencionados anteriormente (Melsen, 2001; Park y cols., 2008). Por extensión, las diferentes tensiones masticatorias recibidas entre los maxilares y las mandíbulas conjuntamente de los individuos alimentados con SD y HD, demuestran diferencias significativas a favor de un incremento en el valor del PIT mandibular que recibe y concentra las mayores fuerzas en ambos grupos (SD y HD) en relación a los valores obtenidos del maxilar. Por otro lado, altos valores de PIT, no son significativos de un mayor porcentaje de éxito (Motoyoshi y cols., 2006).

En adición con nuestro estudio, un reciente trabajo experimental sugiere que la actividad muscular durante el crecimiento es muy importante para la calidad y la morfología ósea, ambos constituyen factores importantes en la adaptación y

conformación del hueso. La evidencia indirecta muestra que la mayoría de las cargas naturales son generadas por los músculos, y que las alteraciones en estas fuerzas musculares naturales son importantes para la adaptación ósea (Hichijo y cols., 2015).

Los MIs se colocaron por el método de Self-tapping o autoroscante, para ello se realizó una perforación previa, en la cual la presencia de ese orificio piloto disminuye el torque de inserción durante su colocación (Hung y cols., 2012; Taing-Watson y cols., 2015). Esto conlleva por ende, una reducción ósea alrededor del MI conjuntamente potenciado con la curación producto del fresado, por ello el orificio piloto debe de ser lo suficientemente pequeño como para no peligrar la estabilidad mecánica inicial del MI.

Los trabajos de Chen y cols. (2008) y Park y cols. (2006) describen la necesidad de este método como resultado de la preocupación ante la fractura de MIs durante su colocación y el alto índice en el torque de inserción ante la ausencia de perforación previa, que podría estar vinculado a una falta de estabilidad posterior con el siguiente fallo prematuro (Chen y cols., 2008; Park y cols., 2006). Nuestros datos no incluyeron los MIs que se fracturaron durante la colocación.

Consecuentemente los estudios demuestran que un MI colocado sin perforación previa evaluado por análisis histomorfométrico (Chen y cols., 2008; Kim y cols., 2005) presenta un mayor contacto hueso implante (BIC), siendo necesario este método de colocación ante una baja densidad ósea (Motoyoshi y cols., 2009).

Por otro lado nuestro trabajo, estableció un periodo de 16 semanas de permanencia de los MIs, sin aplicar la espera de 3 semanas antes de la carga, que representa el periodo crítico de transición entre la estabilidad primaria y secundaria en el remodelado óseo (Deguchi y cols., 2003).

Otro aspecto a destacar, es la susceptibilidad del tejido blando a la invasión por bacterias, mientras que el hueso puede ser más susceptible a la carga, estos parámetros suelen estar implicados en la pérdida de soporte óseo alrededor de los implantes (Kuroda y cols., 2007a; Vidyasagar y Apse, 2003).

Los MIs colocados en perros, en mucosa no queratinizada, es un factor de riesgo (Kim y cols., 2009). En consonancia, el fallo probable de los MIs sería el proceso inflamatorio perimplantario asociado con la falta de tejido queratinizado, que

aumenta el riesgo de infección en los tejidos no queratinizados, sin embargo parece mínimo este efecto observado en las zonas de tejido queratinizado en nuestro estudio. Es importante tener en cuenta estos factores como antecedentes de nuestros resultados.

Kim y cols., (2009) aplicaron en su estudio, un tiempo de tres semanas de cicatrización como carga temprana, que podría ser el tiempo suficiente para la fijación ósea del MI en perros. Posteriormente bajo una resistencia contra un momento de giro de 150 Ncm, con tratamiento superficial realizado a los MIs en su estudio comparados con MIs mecanizados, obtuvieron un éxito de 50% después de 8 semanas y los MIs fallidos no se asociaron en relación a los maxilares, lado ni ubicación en ellos (Kim y cols., 2009). Por el contrario en nuestro estudio, los MIs utilizados fueron de superficie pulida, sin tratamiento, y la carga temprana fue inmediata a una fuerza horizontal continua y constante durante 16 semanas. Creemos que a pesar de las diferencias en el diseño del estudio, nuestro mayor índice de éxito, se debió al momento de giro aplicado ausente en nuestro estudio. En adición la disminución de los impactos masticatorios sobre las cabezas de los MIs podría favorecer el incremento del porcentaje de éxito al 89,71% en (SD), también cabe destacar que conjuntamente nosotros encontramos diferencias en los MIs fallidos, siendo mayor en mandíbula y no en los sectores posteriores (Huja y cols., 2005, 2006).

Tras el estudio de Ramazanzadeh y cols., (2014) llevado a cabo en modelo canino sobre el efecto de carga inmediata y diferida en MIs, concluyen que el proceso de curación no presentó efectos sobre la estabilidad de los MIs y por ello la ausencia de diferencia estadísticamente significativa entre la carga inmediata o retardada también se evidenció en los resultados del BIC (contacto hueso-implante).

Chen y cols., (2008) en su estudio comparativo entre Self-tapping (ST) y Self –drilling, aplicaron carga inmediata sin espera con un porcentaje de éxito en Self-tapping de 86% después de 9 semanas. Al igual que nuestro estudio en el que aplicamos una carga inmediata (Melsen y Lang, 2001), el aumento de 16 semanas de permanencia en boca de los MIs, como otros factores señalados anteriormente, no pareció distanciar nuestros resultados obtenidos de 83,33% en (HD) que incluso

fueron mejorados por el grupo que recibió dieta suave SD.

Del mismo modo, el método de Self-tapping en nuestros datos evidenciaron un resultado similar en el grupo de dieta dura (HD) con un BIC (26 ± 3.13) frente a ($27,15$) de su estudio y ligeramente inferior al grupo (SD) 34 ± 5 frente al grupo de Self-drilling de 43,36% obtenidos por Chen y cols. (2008) (Chen y cols., 2008).

Si comparamos nuestros resultados de BIC y PRT con otros estudios consideramos como evolución desfavorable el tiempo de 16 semanas.

Por otro lado coincidimos con Kim y cols., (2009), en que los perros tendían a interferir en los MIs con sus patas o al morderse a sí mismos, bajo estas circunstancias, los MIs sufren micromovimiento que podrían alterar su estabilidad directamente o a través de las conexiones que les unen. La calidad ósea en perros proporciona claramente menos estabilidad a estos dispositivos que en el hueso humano. En los seres humanos, la tasa de fracaso se reduce a medida que transcurre el tiempo y la osteointegración aumenta (Kim y cols., 2009). En los animales, esto es menos evidente (Kim y cols., 2009). Por ello nuestro estudio refleja un decremento en el Torque máximo de extracción (PRT) obtenido en relación a las 16 semanas contrariamente a estudios que se presentan ex vivo, como sin carga al igual que los colocados fuera del medio bucal (Heidemann y cols., 2001; Huja y cols., 2005)

En distintos trabajos experimentales se ha intentado conseguir un modelo cercano al humano. A través del análisis de elementos finitos, comentado anteriormente, los investigadores pueden acercarse a como se distribuyen el estrés y las tensiones del hueso al MI, (Alrbata y cols., 2015; Sugiura y cols., 2015). Sin embargo, es difícil de cuantificar las cargas recibidas por la cabeza del MI y las transmitidas al hueso, producto de las consecuencias masticatorias, que estarían sujetas a múltiples variables difíciles de especificar desde un abordaje clínico, de ahí la importancia del PRT en clínica y BIC utilizado en el método experimental y en otras aplicaciones clínicas.

El máximo contacto hueso-MI (BIC) se observó en nuestros datos histológicos en los dos tercios apicales, mientras que el menor contacto hueso MI se detectó en el tercio cervical en el grupo HD como se demuestra la figura 29, (Ramazanzadeh y cols., 2014).

Huja y cols., (2005), observaron mayor tendencia en la fuerza de extracción o PRT en las regiones posteriores de la mandíbula, debido a las diferencias significativas en relación al grosor que presenta la cortical posterior, estos índices coinciden con nuestros datos obtenidos del PRT y nuestros MIs fallidos en la zona anterior de la mandíbula (Huja y cols., 2005).

Se considera que la estabilidad primaria depende del hueso cortical y el mayor espesor se encuentra en la mandíbula, aunque los MIs colocados en seres humanos en el maxilar presentan mayor éxito que en la mandíbula (Chen y cols., 2006).

En perros Beagles, Huja y cols. (2005) correlacionaron la densidad ósea y el grosor cortical con la fuerza de extracción (Huja y cols., 2005).

Las Microlesiones óseas (Burr y cols., 1997) generalmente se definen como el fracaso de la matriz detectable por microscopía de luz, sin embargo, sabemos que el daño comienza a nivel molecular en la fibra de colágeno. La interrupción del agregado mineral y la insuficiencia de fibras de colágeno forman pequeñas grietas y huecos que al acumularse crean muy finas grietas que finalmente, se unen en microfisuras (Huja y cols., 2005). El remodelado óseo consiste en un ciclo de la resorción del hueso y la deposición de nuevo hueso dañado. Se cree que las microlesiones estimulan la remodelación dentro del hueso ya que las microlesiones son un estímulo directo para la remodelación osteonal y sirve para quitar y reemplazar el hueso que se ha acercado al límite de su resistencia a la fatiga. Si se aprietan demasiado los MIs daría lugar a mayor número de microfisuras, que se extienden a microfisuras más largas y si se continua puede llegar a un agrietamiento que se extiende una distancia más lejos del MI (Melsen y Lang, 2001; Frost, 2004). Esto llevaría a un pérdida de la estabilidad del MI (Mortensen y cols., 2009).

Sin embargo nuestra tasa de supervivencia de los microimplantes colocados bajo carga inmediata fué alta y 3 semanas de espera antes de la carga no tuvo significación clínica aplicable en nuestro experimento (Ramazanzadeh y cols., 2014).

La estabilidad de los MIs en nuestro estudio se midió con pinzas dentales; el fallo se definió como un MI perdido durante la fase experimental o que se podía mover en cualquier dirección después del periodo de observación de las 16 semanas (Chen y cols., 2008).

Çehreli y cols., (2012) en su estudio encontraron correlaciones negativas entre valores obtenidos del PIT y los valores Periotest (método para evaluar la movilidad del implante) y evaluaciones subjetivas de las puntuaciones de estabilidad que destacaron insignificantes, por el contrario obtuvieron correlaciones significativas entre el valor PIT, el grosor y la densidad del hueso cortical (Çehreli y cols., 2012).

El valor BIC es un parámetro para la superficie lineal del MI que está en contacto directo con la matriz del hueso y se calcula con un software y se expresa como un porcentaje del total de la superficie del MI en contacto con el hueso (Chen y cols., 2008).

Nuestro estudio demostró un incremento del contacto hueso MI (BIC) con diferencias histomorfométricas significativas en el grupo de dieta blanda (SD), en maxilar como en mandíbula, en contraste al grupo de perros que recibió la dieta de consistencia dura (HD). Sin embargo los datos tanto maxilares como mandibulares en relación a las diferentes dietas no fueron estadísticamente significativos, de hecho, los valores porcentuales de los MIs obtenidos del BIC Maxilar como del Mandibular en los perros alimentados con dieta blanda (SD) mostraron una alta tendencia a incrementar significativamente en comparación a los valores obtenidos para el grupo de dieta dura (HD).

La formación de tejido fibroso en la interfase hueso-microimplante sería adecuado porque facilita la retirada del microimplante al final del tratamiento (Park, 2009). De todos modos, un aumento de éste y la disminución de formación ósea en contacto al MI fue representativo en el grupo de los perros alimentados con dieta dura (HD). En adición se expresó igualmente aumento de la movilidad de los MIs observada en el torque máximo de extracción (PRT). La comparación de los resultados biomecánicos e histológicos entre ambos grupos HD y SD, sin período de curación debido a la carga inmediata y sometido a diferentes niveles de estrés masticatorios, podrían además demostrar la impronta dejada por las diferentes consistencias físicas de la dietas aplicadas en nuestro estudio.

Estas diferencias podrían ser coherentemente explicadas en nuestro trabajo por el menor porcentaje de valores observados para el BIC (Bone-to-Implant Contact) en los perros alimentados con dieta dura frente a los que recibieron dieta blanda.

(Figura 28). Por otro lado, también se observaron reducidos valores de BIC en la aposición ósea en los de dieta dura, tanto en Mandíbula como en Maxilar. Por consiguiente, los resultados histomorfométricos generales asientan el decremento de BIC en los de dieta dura (HD), ya que existe menos formación de hueso y una menor zona hueso-implante de contacto, que podría explicar el decremento del porcentaje de BIC asociado a la dieta dura.

Por otro lado Oyonarte y cols. (2005), sugieren que las diferencias en el diseño del implante con superficie porosa, pueden dar lugar a diferencias no solo en el contacto sino también en la altura del hueso peri-implante (Oyonarte y cols., 2005). Sin embargo Trisi y cols. (1999) consideran que no es suficiente aumentar la velocidad de oseointegración sino va acompañado de un aumento significativo en la densidad ósea (Trisi y cols., 1999).

De acuerdo con Motoyoshi y cols., (2009) el fallo del MI comienza con la reabsorción ósea del hueso esponjoso que ocurre desde la parte superior a una posición inferior, lo que resulta en la pérdida de soporte óseo esponjoso del MI. Por consiguiente, la resorción ósea se produce tanto en los márgenes superior e inferior del hueso cortical. Eventualmente, el MI ya no podría resistir la fuerza aplicadas y disminuiría su estabilidad con la consecuente pérdida (Vidyasagar y Apse, 2003). (Figura 29).

Del mismo modo y en consonancia con las observaciones de Ramazanzadeh y cols., (2014) el hueso cortical que es frecuente en la región cervical del MI, está expuesto a los efectos de la perforación del método ST, con mayor posibilidad de trauma y procesos inflamatorios en los tejidos blandos que rodean la cabeza del MIs, a diferencia de otras áreas del MIs (Ramazanzadeh y cols., 2014).

Ejemplo de ello y en conjunto, nuestros resultados histomorfométricos, describen infiltrados inflamatorios leves pero no se observó una resorción ósea remarcable alrededor de los MIs en el grupo de (SD) comparable al grupo HD. (Figura 28).

La formación ósea peri-implantaria fue consistente con presencia de hueso maduro y organizado, también denotó una nueva y activa deposición ósea con canales Haversianos y la actividad marginal adyacente a la superficie del MI reveló un

buen contacto directo a la superficie ósea. En algunos MIs fue evidente la presencia de mayor hueso denso y maduro en la zona de interrosca de los MIs comparados con los del Grupo de dieta dura HD presentando una activa deposición ósea, al igual que en la cortical, la presencia de mayor densidad ósea peri-implantaria.

Por otro lado la inserción del tejido fibroso conectivo a lo largo de la superficie del MI fue menor, y se observó la presencia de un buen contacto óseo interrosca, acompañado de un activo remodelado asociado con canales Haversianos.

Por el contrario en el grupo alimentados con dieta dura (HD) se produjo un incremento de la presencia de infiltrados inflamatorios densos en la mucosa y un crecimiento de un delgado tejido conectivo fibroso a lo largo de la superficie de algunos Microimplantes. También se observó, tanto en el tejido óseo que rodea el MI como en el hueso interrosca, un aumento de los canales vasculares y también una nueva deposición ósea en el margen haciendo frente a la superficie, acompañados de canales Haversianos. No obstante una muestra presentó inflamación severa acompañada de resorción vertical ósea con pérdida de contacto y tejido fibroso interpuesto.

De todos modos fue habitual encontrar frentes de formación activa asociadas a canales vasculares.

Es reseñable que el desplazamiento del MI mejore la osteogénesis. En este sentido, el análisis histomorfométrico del hueso evidenció zonas de menor contacto oseo-implante (BIC) en el grupo alimentado con dieta dura, los cuales mostraban a priori una mayor inflamación que los alimentados con dieta blanda a nivel histológico. Por ello, los datos histomorfométricos generales concuerdan con el bajo porcentaje de BIC observado en el grupo de perros alimentados con dieta dura (HD).

Desde esta perspectiva, se sabe que el aumento en la densidad del hueso esponjoso puede aliviar la concentración de estrés y la tensión (peri-implantaria) alrededor del MI, ya que proporciona una mayor superficie de contacto hueso-implante.

También es de destacar las comparaciones BIC dentro de cada grupo (SD) y (HD) entre el maxilar y la mandíbula que no fueron suficientes para demostrar una evidencia significativa.

Además, se observó en el PRT que los perros alimentados con dieta blanda (SD) tenían valores porcentuales significativamente más altos frente a los de dieta dura (HD) en el lado derecho. Las mismas observaciones que se presentaron en el BIC.

Por el contrario no presentaron evidencia estadística en las diferencias de lados de ambos maxilares en los diferentes grupos de HD y SD.

Un factor importante a tener en cuenta es la inflamación que se produce alrededor del cuello del MI, porque si no es controlado, el daño progresivo puede llevar a la pérdida ósea y afectar la tasa de éxito, donde la encía no queratinizada es más susceptible a este efecto, (Park y cols., 2006; Miyawaki y cols., 2003) circunstancia que estuvo presente en todos los perros.

La diferencia en la tasa de PRT en general, puede deberse a errores quirúrgicos, consistencia del pienso, inflamación del tejido blando, como también diferencias individuales en el mismo animal pueden causar diferentes respuestas a estímulos similares (Ramazanzadeh y cols., 2014); Sin embargo, las variables anatómicas, tales como el valor de hueso interdental pueden ser responsables de diferentes tasas de supervivencia en diferentes individuos. En nuestro estudio, al igual que Huja y cols., (2005) encontramos una tendencia a una mayor fuerza de extracción en las regiones posteriores de la mandíbula y maxilar. En la mayoría de los MIs fallidos en nuestro estudio fueron de las regiones anteriores (Huja y cols., 2005), sin embargo a diferencia de su estudio, nuestros MIs estuvieron sometidos a una respuesta de adaptación y curación in vivo (Huja y cols., 2005).

Como hemos mencionado anteriormente, los MIs a pares fueron cargados de forma inmediata a una fuerza horizontal, continua y constante de 150 cN aproximadamente, por medio de un muelle de níquel-titanio cerrado uniendo las cabezas de los MIs con una ligadura metálica y protegida a la vez por un botón de resina fotopolimerizable. El objetivo de la resina, fue fijar mejor el muelle al MI y evitar su desunión como también el roce y laceración de los tejidos blandos móviles, y sobrellevar mejor las 16 semanas que los MIs estuvieron activos en boca.

Como se ha venido diciendo, el torque de inserción (PIT) es un estándar para evaluar la estabilidad mecánica de los MIs a la inserción, y el valor del torque de eliminación (PRT) es una medida de la osteointegración y la estabilidad de mini-implants, Sin

embargo, Kim y cols., (2009) consideran que el registro obtenido de la diferencia entre los valores de la inserción y la extracción, está sujeto a error del operador (Kim y cols., 2009). De acuerdo a nuestra experiencia, nuestros bajos datos sobre el PRT podrían haber sido afectados por la previa manipulación a la que los MIs fueron sometidos durante la eliminación del muelle y la gota de composite que se les colocó como seguridad.

Los valores expresados en nuestro estudio de PRT (Torque máximo de remoción) Mandibular fueron significativamente más elevados en los perros alimentados con dieta blanda (SD) frente a los de dieta dura (HD). Como se comentó anteriormente, las diferencias en la consistencia podría influir no solo en el hueso en sí, sino también en la cabeza del Mi expuesta a la cavidad bucal y los demás factores recientemente analizados. También se observó una alta tendencia a incrementar significativamente el PRT en el grupo alimentado con dieta blanda (SD) frente a los de dieta dura (HD), cuando se comparan conjuntamente los valores del PRT Maxilar y Mandibular.

Curiosamente al igual que los valores demostrados en el BIC los datos estadísticos muestran un descenso significativo del PRT considerados conjuntamente en Maxilar y Mandíbula derecha para los perros alimentados con dieta dura (HD) frente a los de dieta blanda. Kim y cols. (2009), aluden las diferencias entre los valores de los lados a un posible error de posición y maniobra de postura del operador (Kim y cols., 2009).

Chang y cols. (2015) evidenciaron un alto índice de éxito clínico (aproximadamente 93%) sin encontrar diferencia significativa entre los MIs colocados en encía libre como adherida, sin embargo curiosamente los MIs fallidos fueron más frecuentes en el lado izquierdo del paciente y en pacientes adolescentes más jóvenes y consideran que el fallo bilateral sugiere que una pequeña fracción de los pacientes (1,9%) están predispuestos al fracaso del uso de MIs (Chang y cols., 2015).

Sin embargo otros autores no asociaron el fallo con la ubicación en la mandíbula, lado derecho o izquierdo, posición mesiodistal, sentido de giro, o la calidad del tratamiento de superficies (Huja y cols., 2005).

La hipótesis de qué MIs pueden ser más propensos a fallar debido a la carga excesiva o porque se desatornillan como resultado de la interacción de fuerzas (Costa y cols., 1998) pudo ser confirmada indirectamente por la ausencia de tejido inflamatorio en algunos MIs que llegaron a perder la estabilidad en etapas posteriores. Las tasas de éxito podrían ser aumentadas, evitando la aplicación de fuerzas de torsión que actúan en sentido contrario (Kim y cols., 2009).

Por otro lado, observamos que algunos MIs no habían permanecido estacionarios, estos presentaron una migración a favor de la fuerza y en otros se observó la inflamación de la encía libre que cubrió incluso el muelle, al ser descubiertos los MIs esa migración fue evidente. En base a los datos proporcionados en relación con la cantidad y el tipo de desplazamiento, algunos autores proponen, la descentralización de la inserción dentro del espacio interradicular, alejado el MI de la dirección de la fuerza, podría ser favorable, este hecho, para contribuir a minimizar el riesgo de daño a las estructuras anatómicas y reducir las tasas de fracaso de mini-implantes (Nienkemper y cols., 2014).

Algunos de nuestros MIs se desplazaron hasta consumir la tensión de carga del muelle, pero eso no significó fallo, seguían estables, mientras que en otros por el contrario fue evidente el fallo bajo el tejido gingival que los sostenía en el cual estaban sumergidos.

Liou y cols. (2004) observaron que los MIs no están en un estado de estabilidad absoluta; esto puede causar irritación de los tejidos adyacentes y el resultado en un menor apoyo dado por el hueso a los tornillos. Una correlación entre el tiempo de aplicación de la fuerza y la tasa de éxito no siempre se encuentra (Miyawaki y cols., 2003; Liou y cols. 2004).

Por último, la diferencia entre carga inmediata o diferida no es significativa, coincidiendo con el estudio de Park y cols. (2006) y Melsen y cols. (2000). De todos modos una carga inmediata no deteriora la estabilidad del MI y reduce el tiempo de tratamiento, esto es evidente y aceptable mediante estudios referidos en clínica, pero creemos que en el medio oral, en animales de experimentación es inversamente proporcional el tiempo en boca (Park y cols., 2006; Melsen y cols., 2000).

No obstante, diferentes autores concluyen que debido a los problemas en el

diseño experimental, como la falta de control en la edad, sexo, antecedentes genéticos y la nutrición de estos animales, los resultados de estos estudios pueden no ser adecuados para explicar los cambios observados en el hombre (Kiliaridis, 2006).

La dificultad de una extrapolación directa de los estudios experimentales en animales a humanos debería ser tenida en cuenta por el clínico de forma puramente orientativa.

Creemos que este modelo de estudio soportado por la diferencia en la consistencia física de la dieta mantenida durante el crecimiento, fue determinante (antes, durante y después) e influyente en los resultados obtenidos en la estabilidad del microimplante.

Los cambios de las diferentes consistencias físicas de la dieta, probablemente influyen en la tensión que la masticación aplica a los músculos del esqueleto cráneo-facial, alterando de ese modo su crecimiento. Sin embargo, los resultados experimentales con diferentes especies de animales no son siempre coherentes. Por tanto, la extrapolación directa de los experimentos con animales a los seres humanos no es válida, pero su utilidad es fundamental en la comprensión más cercana a nuestro modelo.

Por otro lado el incremento en la prevalencia de maloclusiones y disfunciones que le acompañan frecuentemente, se han incrementado entre las poblaciones contemporáneas, que han cambiado y pasado de una dieta primitiva a una dieta industrializada y refinada con todas las consecuencias que de ello derivan (Corruccini 1981, Becher y Corruccini 1981).

Comprender e integrar cómo responde el macizo cráneo-facial a las fuerzas masticatorias bajo condicionantes genéticos como epigenéticos, es importante, como punto sólido de partida en la intercepción de maloclusiones, de las más simples a las más complejas (Simoës 2004, Kiliaridis, 2006).

Muchos trabajos se han profundizado y desarrollado en esta dirección, específicamente en lo que refiere a las asimetrías en general. Algunos autores mantienen que la función masticatoria unilateral juega un papel crucial en el desarrollo (Planas, 1994; Canalda, 2002) o agravamiento de estas maloclusiones,

como las asimetrías, desde la más cercana a la línea media facial, a la más alejada de las estructuras que conforman la arquitectura cráneo facial.

De hecho, investigaciones clínicas realizadas por Deshayes, (2006) concluyen en la reducción del inicio de tratamiento ortopédico antes de los 6 años de edad para mejorar o corregir las limitaciones arquitectónicas derivadas de la remodelación de la base del cráneo y de ese modo simetrizar las funciones masticatorias en los 3 planos del espacio (Deshayes, 2006).

La ortodoncia, desde una perspectiva evolutiva ha experimentado un profundo cambio de paradigma en el control del anclaje, conseguido a través del uso de los Microimplantes (MIA-Anclaje con Microimplantes). Entre las ventajas más destacables en la utilización de estos dispositivos en ortodoncia, es su versatilidad en el control tridimensional del plano oclusal, con todas las excelentes consecuencias que de ello se deriva.

Estas ventajas permiten abordar alteraciones oclusales que anteriormente a través de la mecánica tradicional limitaban a una dificultosa o nula solución, como es la disminución de tratamientos ortodóncicos quirúrgicos, tratamiento de oligodoncias, síndromes complejos, ect. (Sung y cols., 2006, Kyung 2002).

Numerosos estudios científicos y clínicos avalan la biomecánica de su utilización como un instrumento accesible y efectivo, que ha logrado superar los problemas del control del anclaje y la colaboración del paciente (Park, 2002, Albarta y cols., 2014).

Cabaña y Parmigiani, (2013) destacan el sentido común en su utilización, como la experiencia y destreza en el manejo de la biomecánica del MI, al imaginar tridimensionalmente y en movimiento (puesto que la oclusión dentaria está conectada a múltiples sistemas que influyen a un sinnúmero de consecuencias) al terreno sobre el que se va a trabajar y con capacidad de integrar (Rocabado, 1984) conceptos básicos que conforman las diferentes disciplinas en odontología (Park y cols., 2004; Cabaña y Parmigiani, 2013). De todos modos se debe tener presente una curva de aprendizaje, donde el profesional novato experimenta mayor índice de fracaso que el profesional con experiencia (Park, 2009).

Este estudio experimental se llevo a cabo para determinar si el potencial

masticatorio influía en el hueso y este en relación a la estabilidad bajo carga de los MI como anclaje de ortodoncia.

De acuerdo con Chang y cols., (2015) no creemos que sea al azar la pérdida preponderante de un lado, aunque si es justificado el aumento de fallo en pacientes jóvenes (Chang y cols., 2015).

Nosotros razonamos que la masticación unilateral, podría ser un importante motivo, a dilucidar con estudios más exhaustivos. Así como también los pacientes jóvenes tienden a tener un índice de fallo mayor que el paciente adulto, quizás esa orientación podría ser aplicada a las diferencias masticatorias, siendo un lado por desuso como más joven que el opuesto. Dicho de otra manera, en un mismo paciente un lado se comportaría como un adulto joven en relación al contra lateral.

De acuerdo a lo expuesto, una vez realizada la perforación y colocado el MI la interfase hueso-MI queda ajustado, sin embargo ante la carga inmediata horizontal, se abriría una brecha en la interfase hueso-MI. Una vez llegado a este punto las tensiones y deformaciones dependerán de múltiples variables como la calidad ósea, magnitud de la carga, tiempo a esas cargas expuestas que hacen difícil predecir el porqué del fallo exacto en la estabilidad del MI y en este sentido podría haber favorecido la dieta blanda SD en nuestro diseño experimental.

De todos modos creemos a la inversa en el modelo humano, siempre que no pase las tensiones de estrés como exceso de carga o de parafunción. Estos resultados podrían ofrecer una consideración práctica clínica, donde, la masticación unilateral podría llevar a la desestabilización tanto primaria como secundaria del MI, en sus aspectos opuestos de atrofia por desuso, que se manifiesta como una disminución del modelado y un aumento del remodelado, como en las situaciones de estrés que amenazan la integridad ósea estructural, por ende la estabilidad del MI, donde el mecanostato de Frost explicaría las respuestas biomecánicas a las cargas soportadas y transmitidas del hueso al MI.

6.2 OBJETIVO II a-b

a- Niveles incrementados de Hg, Al, Ag, Ba en mujeres portadoras de amalgamas dentales durante largo periodo de tiempo

Se sabe que las amalgamas dentales constituyen la principal fuente de mercurio en el cuerpo humano. Richardson y colaboradores estimaron en 2011 que más de 180 millones de Americanos portarán más de un billón de restauraciones dentales, basándose en datos estadísticos comprendidos entre el año 2001-2004 (Richardson y cols., 2011). La toxicidad del mercurio puede variar dependiendo de los tipos de mercurio y su forma orgánica parece ser más tóxica que su forma inorgánica (Park y cols., 2012; Bellinger y cols., 2006). Aunque las amalgamas dentales parecen ser seguras, realmente constituyen una importante fuente "liberadora" de mercurio al organismo (Makhija y cols., 2011; Homme y cols., 2014).

De hecho, varios estudios clínicos ponen en duda la bioseguridad de las amalgamas dentales, basándose en polimorfismos genéticos y en la toxicidad inducida por el mercurio en cerebro y en riñón (Park y cols., 2012; Geier y cols., 2011). Sin embargo, muchos estudios epidemiológicos no han establecido una relación clara entre la presencia de amalgamas dentales y el posible riesgo para la salud (Park y cols., 2012).

Los niveles de mercurio, así como de otros metales pesados y/o oligoelementos pueden ser medidos en muestras biológicas (orina, plasma o pelo) por la técnica de espectrometría inducible de masas, que ha sido empleada en la presente tesis doctoral para la medición de metales pesados en mujeres portadoras de amalgamas dentales. En el presente estudio, hemos observado niveles incrementados de ciertos metales pesados (Hg; Al, Ag, Ba) en el pelo de mujeres portadoras de cuatro o más amalgamas dentales durante al menos 10 años en boca (presencia media en boca: 15 años), frente a los controles que carecían de empastes.

Los valores de mercurio observados en el pelo de pacientes (mujeres) de nuestro estudio está dentro del rango de valores reportados por otros autores, que son aproximadamente entre 2 a 12 veces los alcanzados en pacientes con amalgamas dentales (Mutter y cols., 2004; Mutter, 2011). Varios estudios clínicos han destacado la toxicidad crónica del mercurio procedente de las amalgamas dentales, ya que se

han descrito efectos tóxicos en el sistema nervioso central y en el riñón (Bjorkman y cols., 2007; Barcelos y cols., 2013; Stejskal y cols., 2013; Chen y cols., 2014; Varkey y cols., 2014; Zwicker y cols., 2014). El mercurio representa como mínimo el 50 % en peso de la amalgama dental y éste porcentaje es más que suficiente para poder representar un riesgo real para la salud humana (Mutter y cols., 2004; 2011; Sommers y cols., 2015).

Los datos obtenidos en esta tesis son relevantes, ya que sugieren que la presencia crónica de ciertos metales en boca (Hg, Al, Ag, Ba) podría favorecer la corrosión galvánica de otros metales como la ortodoncia (brackets, bandas, arcos, microimplantes entre otros dispositivos mas) en pacientes con empastes y/o implantes de titanio (Lim y cols., 2003). De hecho, un estudio realizado en conejos a los que se les implantó microimplantes en la tibia evidenció que se producía la liberación de los tres metales de la aleación del microimplante (Ti-4 Al-6 V) después de 1, 4, y 12 semanas de su implantación en la tibia (De Morais y cols., 2009). En las mujeres con amalgamas dentales se evidenció un aumento significativo de aluminio (Al) en pelo.

En definitiva, sería recomendable evaluar posibles interacciones entre iones metálicos liberados en boca si los pacientes van a someterse a tratamientos de ortodoncia y empastes y/o implantes, con objeto de evitar la posible corrosión galvánica de metales en boca (Barret y cols., 1993). Dado que ésta corrosión galvánica podría debilitar su estabilidad en boca, estos mismos argumentos podrían aplicarse en casos de tratamientos odontológicos multidisciplinarios, junto a medidas sinérgicas basadas en la eliminación de amalgamas, mediante el uso de protocolos de seguridad (Cabaña-Muñoz y cols., 2015b).

Por otra parte, nuestro estudio evidenció niveles incrementados de otros metales pesados como Bario (Ba) en mujeres con amalgamas dentales, lo que está en concordancia con un estudio en dentistas que mostraban valores que excedían los límites permitidos en su práctica clínica diaria (Shraim y cols., 2011). En el presente estudio, los niveles de mercurio (Hg) y de Aluminio (Al) en pelo correlacionaron con marcadores de estrés oxidativo, que posteriormente se expondrá. Sin embargo, no se observaron niveles más elevados de Hg, Ag, Al, o Ba en aquellas mujeres portadoras

de más de cuatro empastes dentales frente a los que tenían cuatro o menos empastes.

Los niveles de mercurio medidos en pelo no excluyen la posibilidad de que pudieran existir niveles altos de mercurio retenido en los tejidos de portadoras de amalgamas dentales en el presente estudio. Sin embargo, los niveles de mercurio en plasma u orina podrían reflejar una exposición más aguda frente a la exposición crónica en pacientes con empastes durante más de diez años en boca.

Estos hallazgos indican que el mercurio podría migrar de la cavidad oral a los tejidos de pacientes portadores de amalgamas. La determinación del mercurio por ICP-MS en pelo constituye una técnica fiable a la hora de estimar la exposición crónica a metales pesados en portadoras de amalgamas dentales (Cabaña-Muñoz y cols., 2015a).

Por ello, determinamos los niveles de mercurio en pelo siguiendo previos estudios que avalan su fiabilidad y validez analítica en pelo por espectrometría de masas (ICP-MS) (Babi y cols., 2000; Fakour y cols., 2010; Barghi y cols., 2012; Okati y cols., 2012; Al-Saleh y cols., 2012). De hecho, un reciente ensayo clínico (NHANES) en Estados Unidos con 1352 mujeres en edad reproductiva demostró que exclusivamente los niveles de mercurio en pelo (pero no en orina), correlacionó con el título de anticuerpos para el antígeno nuclear ANA asociado a Lupus Eritematosos sistemático- (Somers y cols., 2015).

Parece ser que los niveles de mercurio en orina y en plasma reflejarían más la exposición aguda a mercurio inorgánico y podrían subestimar la retención de mercurio en órganos (Pigatto y cols., 2013). En este estudio, los investigadores midieron niveles de mercurio en sangre (n=19), orina (n=19), saliva (n = 20), y pelo (n=17) para investigar su relación con el síndrome químico múltiple (MCS), caracterizado por una elevada respuesta alérgica a tóxicos (Pigatto y cols., 2013). Los autores detectaron valores de mercurio en pelo dentro del rango de detección del observado en las mujeres de nuestro estudio (pelo: $2.2 \pm 2.5 \mu\text{g/g}$ vs $2.9 \mu\text{g/g}$), $7.6 \pm 13.6 \mu\text{g/L}$, en sangre, $1.9 \pm 2.5 \mu\text{g/L}$ en orina y $38.1 \pm 52.1 \mu\text{g/L}$ en saliva) (Pigatto y cols., 2013).

Por tanto, nuestros datos sugieren que el mercurio podría migrar de la cavidad oral a los tejidos del organismo (Sousa y cols., 2013), ya que observamos niveles

incrementados de mercurio (pelo) en portadoras de amalgamas dentales frente a pacientes controles, independientemente del número de empastes. En éste sentido, niveles incrementados de mercurio en pelo podrían posiblemente sugerir su elevación en los tejidos y en plasma, aun cuando nuestro estudio no permite discernir sobre tal posibilidad.

Otros autores han puesto de manifiesto que existe liberación de mercurio procedente de las amalgamas dentales, que además se podría agravar por campos electromagnéticos (Mortazavi y cols., 2014), por lo que debería vigilarse la posible contaminación electromagnética (Mortazavi y cols., 2014). Un reciente estudio, mostró niveles altos de mercurio y estaño (Hg, Sn) en boca, en consonancia con los evidenciados en las mujeres portadoras de amalgamas dentales en nuestro estudio (Cabaña-Muñoz y cols., 2015), independientemente del número de empastes presentes en boca (Saghiri y cols., 2014; Mortazavi y cols., 2014). Éstos autores han demostrado que pacientes con restauraciones de amalgamas dentales muestran liberación de mercurio y estaño en la pulpa dental y elevados niveles de mercurio en plasma (Saghiri y cols., 2014).

Por otro lado, un ensayo clínico realizado con 534 niños en el Reino Unido con amalgamas dentales en niños durante más de cinco años, evidenció niveles incrementados de mercurio (Homme y cols., 2014), como ocurría en pelo en las mujeres portadoras de amalgamas dentales en nuestro estudio. Además, en el estudio realizado por Saghiri y cols. (2014), los empastes permanecían en boca durante 5 años sin que aumente el mercurio dentro de la pulpa dental pero sí en sangre -incluso 5 años después de la restauración del empaste (Saghiri y cols., 2014).

Estos datos están en consonancia con el aumento significativo de mercurio en las mujeres portadoras de empastes durante al menos 10 años, aun cuando se midieran en pelo (Cabaña-Muñoz y cols., 2015a). Las posibles discrepancias relativas a los niveles de mercurio obtenidos por Saghiri y cols., 2014 y nuestros datos podrían explicarse por el mayor tiempo que los empastes permanecen en boca en nuestro estudio (10 años) frente a los cinco en el estudio de Saghiri y cols. (2014). Además, podrían existir diferencias relativas sobre los niveles de mercurio según se mida en sangre o tejidos en comparación a los valores de mercurio total medidos en pelo en

nuestro estudio (Saghiri y cols., 2014).

Por otra parte, la exposición crónica al mercurio puede pasar inadvertida durante un largo período de latencia, hasta que realmente aparece cierta sintomatología (Bellinger y cols., 2006; Jones y cols., 2007). Por ello, seleccionamos pacientes (mujeres) que tenían empastes en boca durante al menos 10 años (media: 15 años). En efecto, otro criterio de selección se basó en la presencia del número de amalgamas en boca, ya que se clasificaron las mujeres en aquellas portadoras de cuatro o menos amalgamas dentales y aquellas que tenían más de cuatro empastes, incluyendo también un grupo control (sin implantes y/o sin empastes). Éste criterio está basado en previos artículos donde se midió el mercurio en pelo dependiendo de si los pacientes tenían cuatro o más empastes en boca (Babi y cols., 2000; Okati y cols., 2012).

No obstante, los pacientes con más de cuatro empastes en boca no mostraron niveles significativamente más elevados de mercurio ni de otros metales en pelo en comparación a los evidenciados en pacientes con cuatro o menos empastes, tal como se reseñó anteriormente (Babi y cols., 2000; Okai y cols., 2012). Varios factores podrían influir sobre éste hecho, ya que el número de años que los empastes permanecen en boca, el tamaño del relleno dental y el área de la superficie de exposición, junto a la presencia de otros metales procedentes de tratamientos multidisciplinarios podrían contribuir a aumentar la liberación de mercurio y de otros metales en cavidad oral por procesos de corrosión galvánica (Soussa y cols., 2013; Barret y cols., 1993).

Por otro lado, otro metal pesado como es el Aluminio (Al) es pobremente absorbido en el tracto gastrointestinal aunque podría ejercer efectos tóxicos en el organismo (Di Paolo y cols., 2014). De hecho, cierta controversia sobre la implicación del Aluminio (Al) en el sistema nervioso podría contribuir a la patología de la enfermedad de Alzheimer (Marques y cols., 2014). Sin embargo, no se ha establecido aún ninguna relación causa-efecto entre la enfermedad de Alzheimer en pacientes y los niveles de aluminio (Al) o los de mercurio procedente de amalgamas dentales.

Niveles incrementados de SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1) como biomarcador de estrés oxidativo en mujeres portadoras de amalgamas dentales durante más de diez años (media: 15 años)

Se sabe que el mercurio y otros metales pesados (ej.: cadmio, Cd) podrían afectar determinados sistemas antioxidantes endógenos (Ariza y cols., 1998), tales como la SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1) y la catalasa (Hussain y cols., 1999). De hecho, el mercurio puede inducir estrés oxidativo, incrementando los niveles de radicales libres (ROS: especies reactivas de oxígeno como el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y el radical libre anión superóxido (O₂•), que elimina actividad SOD-1 -Cu/Zn dependiente- y SOD-2 -Mn dependiente- (Farina y cols., 2011; Ariza y cols., 1998).

Por otro lado, como el metil-mercurio afecta la actividad SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1), (Ariza y cols., 1998), analizamos si los pacientes portadores de amalgamas dentales considerados de forma conjunta (media de edad 44 años) pudieran mostrar elevados niveles de Glutación sistémico reducido (GSH) y una actividad SOD-1 incrementada.

Nuestros resultados indican que la actividad SOD-1 se incrementa en pacientes portadores de amalgamas dentales junto al Glutación reducido (GSH), en comparación a sus respectivos controles, lo que sugiere que los niveles de mercurio podrían promover estrés oxidativo (Hussain y cols., 1999; Farina y cols., 2011), también en pacientes portadoras de amalgamas dentales. Además, existe una correlación positiva entre la actividad SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1) y los niveles de mercurio ($r=0.6$; $p<0.05$; $n=42$).

Por otro lado, los niveles de Glutación Reducido (GSH) de mujeres con empastes (GSH) correlacionó positivamente con el aluminio (Al) en pelo ($r=0.48$, $p<0.05$; $n=42$). Éstos hallazgos parecen indicar que la presencia crónica de altos niveles de Hg y Al conducen a un incremento de los sistemas antioxidantes endógenos (al menos en los referente a la actividad SOD-1 y al GSH reducido), en consonancia con aumento de expresión de la Glutación Transferasa (GPX3 and GSTM3) en sangre de cormoranes de doble cresta hembras (Gibson y cols., 2014).

Por tanto, la exposición crónica a mercurio parece promover un aumento de determinados sistemas antioxidantes endógenos (SOD-1 y Glutación). En este sentido,

varias evidencias postulan que elevadas actividades endógenas correlacionan con altos niveles de acumulación de mercurio en órganos como el hígado o el riñón (Hussain y cols., 1999; Geier y cols., 2011). Por ello, no podemos excluir que el aumento de actividad SOD-1 (Superóxido dismutase-1) y los elevados niveles de Glutación (forma reducida) reflejen respuestas adaptativas compensatorias endógenas en pacientes portadoras de amalgamas dentales (durante al menos diez años).

Por otra parte, la posibilidad de que factores ambientales como el consumo de pescado, pudieran contribuir también a los niveles totales de mercurio observados en menor medida en las mujeres portadoras de empastes debe ser valorada. Sin embargo, la causa principal es la presencia de las amalgamas dentales. Por ello, el consumo de pescado en niveles bajos o moderados en las mujeres portadoras de empastes no parece ser la causa principal asociadas a los altos niveles de mercurio en nuestro estudio, por encima de los valores debidos a la presencia crónica de mercurio, ya que su consumo de pescado era bajo.

Todo éste conjunto de evidencias indirectas sugiere que la presencia de altos niveles de mercurio en portadoras de amalgamas conduce a mecanismo adaptativos asociados a la activación de la enzima SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1) y al aumento del Glutación en su forma reducida (GSH) para reducir la posible toxicidad del mercurio.

Por otra parte, conviene reseñar que tribus indígenas de Brasil con un alto consumo de pescado mostraban elevados niveles de marcadores de estrés oxidativo en sangre, con el consecuente incremento de los sistemas antioxidantes endógenos (catalasa, GSH en sangre) por la acumulación de mercurio en sus tejidos grasos (Grotto y cols., 2010).

El aumento de la actividad SOD-1 y de Glutación reducido podría proteger frente a la toxicidad de metales pesados, tal como se ha evidenciado en estudios con metilmercurio o cadmio *in vitro*. De hecho, los elevados niveles de Hg o Al en nuestro estudio están en concordancia con el aumento de Mn y Al asociado al incremento de los sistemas antioxidantes endógenos en sangre que se observó en la especie *Larus crassirostris* (Black-tailed Gull) (Jenko y cols., 2012). En conclusión, las portadoras de

amalgamas dentales podrían desarrollar mecanismos adaptativos protectores frente a los elevados niveles de mercurio o aluminio. En este sentido, pacientes pre-diabéticos evidencian una reducida actividad sistémica de la enzima SOD-1 frente a controles sanos (Dziegielwska-Gesiak y cols., 2014), mientras que existen polimorfismos SOD-2 -Ala16Val MnSOD- en células expuestas a metil-mercurio (Algarve y cols., 2013). Considerados de forma conjunta, el aumento de la actividad SOD-1 y de Glutación reducido (GSH) en portadoras de empastes podría mantener un balance oxidativo adecuado para proteger frente a altos niveles de mercurio (Hussain y cols., 1999; Farina y cols., 2011; Valko y cols., 2007).

Por otro lado, hemos puesto de manifiesto un aumento en los niveles del oligoelemento Zinc (Zn) en portadoras de amalgamas dentales. Dicho Zinc constituye un cofactor necesario para la actividad SOD-1 (Superóxido Dismutasa-1) Cu-dependiente (Need y cols., 2014).

Finalmente, el reanálisis de algunos ensayos clínicos publicados hasta la fecha sugiere que la susceptibilidad al mercurio de las amalgamas dentales difiere entre individuos y en muchas ocasiones depende de factores genéticos (polimorfismos), que realmente han sido infravalorados en previos ensayos clínicos (Geier y cols., 2011; Woods y cols., 2013; Barcelos y cols., 2013; Homme y cols., 2014; Mutter y cols., 2011).

Hasta la fecha, éste es el primer estudio clínico que muestra un incremento del Glutación reducido (GSH) y un aumento de la actividad SOD-1 en portadoras de amalgamas dentales durante largo tiempo. No obstante, éstos datos deben interpretarse con cautela y ser verificados en un ensayo clínico multicéntrico, dado el moderado tamaño muestral (n=55).

Sin embargo, sugieren que la actividad SOD-1 es un biomarcador de exposición al mercurio en portadoras de amalgamas dentales. De hecho, incluso 30 años después del cese de la exposición a mercurio, enfermeras y auxiliares que han trabajado en clínicas dentales evidenciaban aún problemas de salud (Khwaja y cols., 2014; Jones y cols., 2007).

b- Protocolo de Amalgama

Los profesionales dentales deberían ser conscientes de los efectos del mercurio en la salud humana. En 2011, Mutter describió los problemas de la amalgama dental en pacientes (Geier y cols., 2011; Mutter, 2011). A mediados del siglo XIX, hubo una controversia sobre su uso intraoral como relleno restaurativo. El nivel de la exposición prolongada a vapores de mercurio de las amalgamas dentales, que combina con otros metales, representa un riesgo real para la salud de los pacientes (Zwicker y cols., 2014). La preponderancia de la evidencia sugiere que la exposición de Hg de amalgamas dentales puede causar o contribuir a muchas enfermedades crónicas, en especial las relacionadas con la fatiga y la depresión (Kern y cols., 2014). Además, varios estudios han demostrado que la eliminación de las amalgamas se asocia con una mejoría en estos síntomas (Colson, 2012).

Los elementos residuales de amalgama desarrollan un efecto nocivo dentro de los tejidos blandos que se manifiestan en forma de tatuajes, estos restos son capaces de activar la reacción inmunológica adaptativa donde la reacción del tejido a la amalgama dependerá del tamaño y composición de las partículas. Mientras que el cobre y el zinc se pierden rápidamente de la zona del tatuaje, el mercurio y el estaño se pierden más lentamente y, finalmente, la plata permanece en los tejidos (Sousa y cols., 2013).

La exposición al mercurio de los empastes de amalgama se incrementa dramáticamente al masticar, comer, lavarse los dientes, y beber líquidos calientes (Edlich y cols., 2007). Por lo tanto, dentistas y pacientes deben ser alertados para evitar los factores de riesgo asociados con la exposición innecesaria al mercurio después de la eliminación de empastes de amalgama (Zwicker y cols., 2014; Eley, 1997).

Las personas que mastican chicles crean una superficie lisa y brillante en sus amalgamas que podrían aumentar los niveles de vapor de mercurio liberados por la consistencia sólida de algunos alimentos como, nueces y semillas, como se ha detectado a través de analizadores de vapor de mercurio (Richardson y cols., 2009; Edlich y cols., 2007). Sin embargo, la amalgama terminada en el gabinete dental a

37°C emitirá aproximadamente 43,5 µg de vapor de mercurio por centímetro cuadrado de superficie por día. En comparación, con estudios llevados a cabo por las principales marcas comerciales sobre muestras de amalgamas que mantienen en agua a 23°C lanzado 4,5-21µg por centímetro cuadrado por día (Richardson, 2003; Richardson y cols., 2011).

Por otra parte, durante el procedimiento de eliminación de la amalgama, el corte con fresa puede aumentar la exposición de vapor de mercurio a los pacientes. En un reciente experimento, los voluntarios sin amalgamas tragaron cápsulas de partículas de amalgama molidas y luego tuvieron altos niveles de mercurio en sangre, lo que sugiere que la absorción de mercurio a partir de partículas de amalgama es de importancia cuantitativa.

Otros factores que amplifican la presencia de mercurio serían la presión ejercida por los dientes (bruxismo), tipo de dieta diaria consumida (nivel de acidez), presencia de restauraciones de aleaciones metálicas (implantes, coronas, puentes, prótesis diversas) (Barret y cols., 1993). El tamaño de la amalgama dental a reemplazar, influirá en la elección de los materiales a colocar. De acuerdo con esta evidencia, se han desarrollado protocolos de seguridad aplicados en pacientes durante la eliminación de la amalgama dental (IAOMT Standards of Care Preferred Procedure Approved 9/27/92; IAOMT 1992; Colson, 2012).

En el examen inicial e historia clínica es importante saber si el paciente se encuentra bajo tratamiento médico. El trabajo multidisciplinar entre el médico y el odontólogo en casos complejos es aconsejable, y se debería consensuar la información necesaria para poder abordar correctamente la planificación del tratamiento a realizar. Por ejemplo, si una mujer está embarazada o en período de lactancia, la eliminación de amalgama no se produce hasta que haya finalizado dicho período (Kao y cols., 2004).

Se ha informado, que la concentración de mercurio en la sangre del feto puede ser treinta veces mayor que en la sangre de la madre (Pamphlett y KumJew, 2015). En consonancia otro reciente estudio, indica que las amalgamas dentales junto al consumo de pescado son los principales predictores de la exposición de Hg materno, como también la exposición de Hg en los niños fue predominantemente mayor

durante el embarazo en comparación a la lactancia. (Al-Saleh y cols., 2015). Es conocido que el mercurio inorgánico se excreta a partes iguales por vía intestinal y renal, mientras que el mercurio orgánico se elimina predominantemente por vía intestinal (Clarkson y Magos, 2006).

La exposición ambiental y ocupacional del Hg es un tema a debatir en la actualidad. Un reciente estudio donde se describen las concentraciones de mercurio en peluquerías femeninas asociadas a la exposición ocupacional y ambiental a través de los productos cosméticos y los empastes de amalgama, concluye que en peluquerías con el uso continuado de cosméticos y un alto número de empastes de amalgama se había elevado significativamente las concentraciones de mercurio en el pelo y las uñas, lo que sugiere la importancia de la evaluación de la exposición al mercurio en el lugar de trabajo (Fakour y Esmaili-Sari, 2014).

Por otro lado, al retirar amalgamas de mercurio de plata se debería seguir un procedimiento de protección para asegurar una mínima absorción sublingual o la absorción del tejido de la mucosa (Colson, 2012; Cabaña y cols., 2015b).

La secuencia de tratamiento debe ser bien definida, se debería actuar por cuadrantes alternos para evitar cuanto antes la oclusión entre amalgamas; no se extraerán más de 2 amalgamas cada vez, si son grandes (hasta 3 si son pequeñas) y se dejará, como mínimo, de 15 a 20 días entre las sesiones (IAOMT 1992; Colson, 2012).

Estos protocolos también evitan la absorción de vapor de mercurio a través de la barrera hemato-encefálica después de la eliminación de amalgama (Lorscheider y cols., 1995; Clarkson, 1987). Molin y cols. (1990) reportó 3 y 57 veces el aumento en mercurio/plasma al día siguiente después de la eliminación de amalgama, y un aumento del 50% en mercurio en la orina durante un mes en diez sujetos, después sus niveles de mercurio comenzaron a declinar (Molin y cols., 1990). Por lo tanto, los esfuerzos para reducir la exposición al mercurio durante la remoción de amalgama son necesarias (Colson, 2012).

En otro estudio, 20 voluntarios con un máximo de 5 obturaciones de amalgama fueron sometidos a la eliminación de las mismas, sin aislamiento previo mediante dique de goma en 12 individuos y con aislamiento previo dique de goma en 8 individuos. En el grupo que se evitó el dique de goma, los niveles de mercurio en

plasma aumentaron por encima de los valores obtenidos anteriores a la extracción, comparativamente al primer día de la eliminación de la amalgama dental, con un pico promedio de 0.6 µg/L, pero a los 100 días descendieron significativamente por debajo de los valores anteriores a la extracción. En el grupo que se usó el dique de goma, los niveles de mercurio en plasma descendieron significativamente a los 30 días por debajo de los valores anteriormente registrados.

La conclusión de estos datos es que se produce un aumento transitorio de los niveles de mercurio en sangre inmediatamente después de extraer las obturaciones de amalgama, pero de pequeña magnitud y que se normaliza a los 100 días, por lo que el efecto del dique de goma tiene una relevancia toxicológica menor (Kremers y cols., 1999).

Contrariamente, un estudio noruego en el 2011 mostró un seguimiento de 3 años después de la retirada de amalgama con protocolo de seguridad en un grupo de tratamiento en comparación con otro grupo de referencia, evidenciando reducciones significativas en las quejas de salud intraorales y generales de los pacientes (Richardson y cols., 2011; Colson, 2012).

El uso de un dique de goma elimina el pico de mercurio plasma un día después de la retirada de amalgama, así como el aumento en la orina de mercurio diez días después. Por consiguiente, los grupos de eliminación de amalgama previo aislamiento mediante dique de goma, mostraron una reducción del 50-75% en los niveles de mercurio en sangre de un año más tarde (Berglung y Molin, 1997).

Sin embargo, debemos tener en cuenta por precaución que el vapor de mercurio puede difundir alrededor del dique, y sus partículas a menudo se podrían colar o atravesarlo. El utilizar siempre un segundo extractor de saliva por debajo del dique ayudará a evacuar el aire que puede contener vapor de mercurio. Otro estudio ha encontrado iones de mercurio y zinc liberados por la corrosión de las restauraciones de empaste dental en retenedores termoplásticos moldeados al vacío VFR (Karam y Rinchuse, 2011).

La eliminación de rellenos puede generar una nube de partículas, al menos el 65% de las cuales son de una micra o menos de tamaño, totalmente transpirable que podrían penetrar profundamente en los pulmones y aumentar los niveles de mercurio

que se absorben sistémicamente a los pocos días.

El vapor de mercurio que se libera en las obturaciones de amalgama dental, una parte es exhalado y otra es absorbida (Magos y Clarkson, 2006).

El uso de filtros nasales (carbón activo) para pacientes y dentistas sería para minimizar la absorción de vapor de Hg y reducir fuertemente la penetración de mercurio en los pulmones y el cerebro (Geijersstam y cols., 2001; Sjursen y cols., 2011). Un estudio randomizado a doble ciego demostró que diferentes filtros nasales protegen contra las enfermedades y las partículas suspendidas en el aire que penetran por las vías nasales (Kenney y cols., 2014; Nylander y cols., 1987). El uso de filtros de nariz de amplio espectro también ofrece protección contra partículas y gases contaminantes. Curiosamente, Torkmahalleh y cols., (2013), informó que la prevención del aerosol ambiental recogido en los filtros es una clave para la mejora de la toma de muestras de Cr (VI), que con la exposición a niveles tóxicos puede provocar desde daño nasal, asma, bronquitis, neumonitis, cáncer..... (Torkmahalleh y cols., 2013).

Los protocolos de seguridad que existen en la literatura no utilizan filtros nasales, sino que utilizan un dispositivo de respiración de presión positiva, tal como una máscara de nariz con óxido nitroso, o también para evitar la absorción utilizan cánulas con bombona de Oxígeno. (IAOMT; Colson, 2012). El uso rutinario de oxígeno, durante la eliminación de la amalgama dental en la clínica no es fácil, ya que las reglas y la Directiva para su uso en clínicas dentales son diferentes en cada país. Además, la complejidad en la colocación en los orificios nasales de tubos de goma o máscaras, muchas veces causa rechazo y agobio al paciente.

En contraposición el uso de filtros nasales de carbón activo (InspiraHealth®) es bien aceptado por el paciente por su comodidad, seguridad y eficacia en la reducción de la exposición de vapor de mercurio (Cabaña-Muñoz y cols., 2015b). La eficacia del carbón activo es demostrada por analogía con los filtros de 3 M, aunque también se está estudiando la posibilidad de utilizar Zeolita que es muy usada a nivel industrial, para purificación de agua y aire y como depurador en la industria alimentaria (InspiraHealth®2015).

No menos importante, es el hecho de contemplar los protocolos de seguridad

para dentistas basados en el uso de guantes de nitrilo en comparación con el estándar de látex, que protege las manos del dentista de una concentración de vapor de mercurio (Colson, 2012).

Los guantes de nitrilo se fabrican a partir de polímeros sintéticos (100% nitrilo sintético) y ofrecen una excelente calidad, protección de barrera y resistencia química, por esta razón los seleccionamos para su uso en el procedimiento de eliminación de restauraciones de amalgamas, aunque su coste es más elevado que el de los guantes de vinilo o de látex.

Extender el protocolo de seguridad a los asistentes y personal clínico libre de contaminación ambiental, se considera una prioridad.

La posibilidad de protección para el personal clínico que ejecuta el protocolo de eliminación de la amalgama dental sería un sistema de respiración de presión positiva, que está disponible comercialmente de proveedores de equipos de seguridad (es decir: Dirección de Minas respirador certificado, "media máscara"), que tiene un indicador de vida útil. De hecho la empresa 3M comercializa unas máscaras con filtro de mercurio, aprobado por NIOSH/MSHA, para protección respiratoria contra no más de: 0.5 mg/m^3 de vapores de Mercurio o no más de 5 ppm de Cloro. En concreto el que nosotros utilizamos en el protocolo es el cartucho 3M® 6009 que está diseñado para usarse con las secciones frontales media que protege hasta 10 veces el Límite de Exposición Permitido (PEL).

Durante el proceso de extracción de amalgama, la preparación del paciente antes y después del acto operatorio, podría ayudar a evitar la absorción de mercurio. La primera estrategia preventiva básica es cubrir la cara del paciente con un paño quirúrgico para evitar que las partículas de amalgama salpiquen o aterricen en la piel alrededor de los ojos. De este modo nosotros al igual que otros protocolos (IAOMT), cubrimos al paciente con un delantal de plástico bajo el babero dental para proteger su ropa.

Otro dato a tener en cuenta es el material del dique de goma. En odontología restaurativa o endodoncias se utiliza como aislamiento protector dique de látex habitualmente, con el fin de maximizar la protección, nuestro protocolo contempla el dique de nitrilo debido a sus características de impermeabilidad y absorción al igual

que otros protocolos existentes para evitar que las partículas lleguen a la mucosa oral (IAOMT; Colson, 2012). El dique de nitrilo supone una excelente alternativa a la goma de látex natural, siendo más resistente al perforar, proporcionando una barrera de protección a productos químicos con gran eficacia, sin olvidar su flexibilidad y adaptabilidad, al igual que los guantes de nitrilo anteriormente mencionados.

A menudo, las partículas se encuentran en los tejidos sublinguales y bordes laterales de la lengua, que es la ruta más rápida de absorción en el cuerpo. El dentista debe comprobar la ausencia de estas partículas en la lengua durante la eliminación de la amalgama dental. Una vez que la amalgama se elimina por completo, las cubiertas de protección se retiran; el dentista también debe inspeccionar el piso de la boca, lengua y eliminar posibles partículas que pueden haber quedado en el dique de goma.

Una vez finalizado se irriga con abundante agua todos los tejidos mucosos. Los pacientes deberían seguir un protocolo simple y seguro durante la extracción de las amalgamas dentales. Así, el uso sinérgico de filtros nasales y técnicas de ventilación junto con estos protocolos de protección básicos reduciría la cantidad de exposición al mercurio en los pacientes y personal dental durante la eliminación de amalgamas.

Durante el proceso de eliminación de la amalgama dental, se debería llevar a cabo el proceso bajo un spray de agua constante durante el corte, la fresa al tocar y seccionar la amalgama, incrementa inmediatamente la temperatura vaporizando el componente de mercurio de la aleación. El objetivo será mantener la temperatura baja, y reducir la presión sobre la amalgama, y de este modo disminuir la emisión de vapor de mercurio. La restauración de amalgama una vez seccionada se elimina por trozos (Koral y cols., 2007; Stonehouse y Newman, 2001).

La herramienta para la eliminación de vapor de mercurio y partículas de amalgama del campo operatorio podría ser un aspirador de alto volumen (HVE). Un complemento muy eficaz de HVE es la punta "Clean-Up" de succión, que cuenta con un recinto en el extremo que rodea al diente que se está trabajando (IAOMT <http://iaomt.org/safe-removal-amalgam-fillings/>). Es necesario retirar las partículas de amalgama siguiendo protocolos de seguridad, de acuerdo con la seguridad ambiental. También hay que disolver el mercurio antes de descargar las aguas residuales (Nimmo Werley y cols., 1990). En nuestro procedimiento utilizamos un

decantador de amalgamas que se incorpora en la bomba de succión del equipo dental, esto permitiría la no contaminación de aguas residuales durante el proceso.

Los protocolos de seguridad establecen la retirada de la indumentaria del paciente y de los operarios después de la eliminación de la restauración de amalgama (IAOMT), a diferencia de nuestro estudio, donde recomendamos *no quitar* el atuendo de protección al paciente, hasta finalizada la restauración definitiva, porque de hacerlo se pueden volatilizar partículas de mercurio al ambiente del gabinete. También consideramos que para finalizar la restauración definitiva, sería conveniente cambiar de gabinete dental, mientras éste es ventilado, ionizado o aireado.

Por otro lado, algunos autores realizan el cambio de un nuevo dique de goma una vez finalizado el proceso de eliminación de la amalgama dental (Cabaña y cols., 2015b), con el fin de evitar la contaminación con saliva durante el proceso de restauración definitiva, y en otros actos operatorios este procedimiento no lo realizan.

El proceso de gestión del desecho de la goma dique contaminada, vestimenta de protección del paciente, guantes, etc. después de terminar el procedimiento, ha sido escasamente abordado aún.

Por otra parte, enjuague post-extracción se puede utilizar para secuestrar el mercurio de la saliva del paciente (Nimmo Werley y cols., 1990; Colson 2012), en nuestro procedimiento utilizamos enjuagues de carbón activo, chlorella, zeolita entre otros y se pasa sobre la mucosa del carrillo, piso de boca y lengua, para asegurar el arrastre de partículas residuales después del proceso. (Cabaña-Muñoz y cols., 2015b).

La zeolita (clinoptilolita) tiene la particularidad que al llevar carga negativa actuaría como un imán sobre los metales pesados (mercurio), que tienen carga positiva y los atrapa dentro de su estructura molecular tetraédrica.

Sin embargo, se sigue cuestionando la toxicidad del Hg en las restauraciones dentales, debido a los escasos estudios concluyentes sobre los materiales alternativos como las resinas de composite. Esto permite justificar el uso de la amalgama dental como restauración segura (ADA, 2010). Por ello, existe preocupación en relación con el ingrediente de compuesto a base de resina llamada bisfenol A (BPA), que viene siendo investigado como un dis-ruptor endocrino (Olea y cols., 1996).

Otros estudios científicos, sobre la toxicidad odontológica del BPA, aseguran que las cantidades liberadas por las restauraciones con composite están dentro de los límites de seguridad a nivel toxicológico (0,05mg/Kg. peso) (Richardson, 1997) (http://iaomt.guadmin.com/wp---content/uploads/article_BPA---review.pdf)

En lo que respecta a las propiedades de los composite, éstos requieren más habilidad para trabajar, pero cuando se colocan correctamente, son tan duraderos como las amalgamas dentales, de acuerdo a un reciente meta-análisis (Heintze y Rousson, 2012).

De acuerdo a lo anteriormente expuesto, el desarrollo de investigación sobre nuevos materiales dentales como los composite de última generación con nanopartículas, reduce el espacio intersticial y por lo tanto la cantidad de matriz orgánica capaz de liberar metacrilatos, y así causar menor irritación a los tejidos (Ruiz de Castañeda, 2011).

Otra estrategia básica, sería mantener el aire limpio en la zona operatoria desde partículas generadas por la eliminación de las amalgamas que se dispersan en el medio ambiente. Más allá de la apertura de la ventana, otras estrategias para la eliminación de mercurio incluyen ultrafiltración y generadores de iones negativos, además de fuerza de vacío básica para eliminar el aire desde el campo operatorio en el gabinete dental (Dent-Air Vac, EL Foust, Smart-Air Solutions, y Tact- Aire).

La toxicidad por mercurio puede ser agravada por la posible interacción galvánica entre metales pesados debido a la liberación de iones metálicos en la boca (Unalan y cols., 2009; Karam y Rinchuse 2011). Por otro lado, el aumento de tratamientos de ortodoncia multidisciplinar en pacientes adultos con microimplantes han mejorado las técnicas estéticas y funcionales (Park y cols., 2004). Durante estos tratamientos odontológicos multidisciplinarios, los protocolos de seguridad para la eliminación de amalgama dental no siempre se aplican en pacientes (Salomone y cols., 2013; Colson, 2012; Cabaña-Muñoz y cols., 2015b).

Por todo lo expuesto, consideramos que sería necesario el conocimiento de los efectos de los materiales empleados, que mediante las aportaciones tecnológicas y avances en los métodos de medición, pudieran orientarnos a una mejor práctica clínica. Este conocimiento permitiría un nexo de unión entre la actualización de la

ciencia básica y la clínica diaria, motivando una actitud precautoria en temas tan controvertidos como el abordado.

El principio de precaución se aplica cuando la evidencia científica es insuficiente, no concluyente o incierta y la evaluación científica preliminar indica que hay motivos razonables para temer los efectos potencialmente peligrosos para el medio ambiente, la salud humana y animal que puedan ser incompatibles con el alto nivel de protección elegido por la UE. Este principio seguido por dentistas, podría prevenir la toxicidad de metales pesados en pacientes, equipo de trabajo y evitar riesgos ambientales irreversibles. Todos los esfuerzos destinados a reducir la exposición al mercurio durante la eliminación de amalgamas serían necesarios.

Realmente, un reducido porcentaje de clínicas dentales utilizan o aplican los protocolos de seguridad. Dentro de los que aplican un protocolo, ninguno de ellos contempla la utilización de filtros nasales en la actualidad, aunque fueron mencionados para otras utilidades como humidificadores, vehiculizadores de fármacos, filtros para retener partículas de polen, polución, alérgenos entre otras utilidades.

Nuestro protocolo incluye algunos cambios donde se destaca la utilización de filtros nasales de carbón activo para la protección del paciente a la exposición de vapor de mercurio durante la eliminación de la amalgama dental.

Muchos estudios avalan la protección ocupacional con Hg, como también se han descrito métodos y protocolos bien definidos para extraer de forma segura las amalgamas dentales, protegiendo al paciente, a los dentistas y auxiliares, como al medio ambiente. Sin embargo, a pesar de las anteriores técnicas de protección, las actuales investigaciones en biomateriales y los efectos adversos que provocan, aún existe controversia sobre la toxicidad del mercurio en los estamentos políticos y asociaciones odontológicas.



CONCLUSIONES

7 CONCLUSIONES

Se rechazan las Hipótesis Nulas del Objetivo I

La diferencia en la consistencia física de la dieta administrada durante el crecimiento influye significativamente en los valores biomecánicos obtenidos por el PIT (Torque máximo de inserción) durante la colocación de los Microimplantes.

Existe un aumento estadísticamente significativo del porcentaje de BIC (Bone-to-Implant Contact); Superficie total de contacto hueso-implante y del PRT (Torque máximo de remoción) en los perros alimentados con dieta blanda (SD) en comparaciones con los alimentados con la dieta dura, respectivamente (HD). La diferencia en la consistencia física de la dieta durante la masticación influye significativamente en la estabilidad de los Microimplantes.

Se rechazan las Hipótesis Nulas del Objetivo II

Pacientes portadoras de amalgamas dentales durante al menos 10 años (media: 15 años) muestran niveles incrementados de actividad estadísticamente significativos de la SuperóxidoDismutasa-1 (SOD-1) y un aumento significativo de Glutatiión reducido (GSH), como posibles biomarcadores de exposición crónica a éstos metales pesados en portadoras de amalgamas dentales.

Pacientes portadoras de amalgamas dentales durante al menos 10 años (media: 15 años) muestran niveles incrementados de ciertos metales pesados en pelo (mercurio (Hg), Aluminio (Al), Plata (Ag) y Bario (Ba) y del oligoelemento Zinc (Zn) en comparación a las mujeres controles (sin implantes y sin empastes).

Los niveles de metales pesados en pelo no se incrementan si existe un mayor número de empastes en boca, ya que no existen diferencias significativas entre las portadoras de cuatro o más amalgamas dentales.

Existe una correlación positiva entre la actividad SOD-1 y los niveles de mercurio en pelo, así como entre los niveles de Glutación Reducido (GSH) y los de Aluminio (Al) en pelo medido por espectrometría de masas ICP-MS.

En relación a la revisión bibliográfica sobre los protocolos de protección durante la eliminación de amalgamas encontramos una gran similitud en los pasos y secuencias de tratamiento.

Un reducido porcentaje de clínicas dentales utilizan o aplican los protocolos de seguridad. Dentro de los que aplican los protocolos, ningún protocolo contempla la utilización de filtros nasales en la actualidad.

Aplicando el Principio de Precaución, el uso de protocolos seguros durante la eliminación de amalgamas dentales en pacientes odontológicos, podría reducir en gran medida el nivel de exposición a metales pesados, gracias al uso de filtros nasales de carbón activo, que podrían retener el vapor de mercurio emitido.



BIBLIOGRAFÍA

8 BIBLIOGRAFÍA

1. Ahlqwist M, Bengtsson C, Lapidus L, Gergdahl IA, Schütz A. Serum mercury concentration in relation to survival, symptoms, and diseases: results from the prospective population study of women in Gothenburg, Sweden. *Acta Odontol Scand.* 1999 Jun; 57(3):168-74.
2. Algarve TD, Barbisan F, Ribeiro EE, Duarte MM, Mânica-Cattani MF, Mostardeiro CP, Lenz AF, da Cruz IB. In vitro effects of Ala16Val manganese superoxide dismutase gene polymorphism on human white blood cells exposed to methylmercury. *Genet Mol Res.* 2013; 12(4):5134-44.
3. Alrbata RH, Yu W, Kyung HM. Biomechanical effectiveness of cortical bone thickness on orthodontic microimplant stability: an evaluation based on the load share between cortical and cancellous bone. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2014 Aug; 146(2):175-82.
4. Al-Saleh I, Abduljabbar M, Al-Rouqi R, Eltabache C, Al-Rajudi T, Elkhatib R, Nester M. The extent of mercury (Hg) exposure among Saudi mothers and the irrespective infants. *Environ Monit Assess.* 2015 Nov; 187(11):678.
5. Al-Saleh I, Al-Sedairi Aa, Elkhatib R. Effect of mercury (Hg) dental amalgam fillings on renal and oxidative stress biomarkers in children. *Sci Total Environ.* 2012; 431:188-96.
6. Antosz M. The evidence against evidence-based dentistry. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2007 May; 131(5):573-4; discussion 574-5.
7. Aquilano, K, Baldelli, S, Ciriolo MR. Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Front Pharmacol.* 2014; 26; 5: 196.
8. Ariza ME, Bijur GN, Williams MV. Lead and mercury mutagenesis: role H₂O₂, superoxide dismutase, and xanthine oxidase. *Environ. Mol. Mutagen.* 1998; 31 (4): 352-61.
9. Babi D, Vasjari M, Celo V, Korovesi M. Some results on Hg content in hair in different populations in Albania. *Sci Total Environ.* 2000; 259 (1-3): 55-60.
10. Bae SM y Kyung HM, Clinical Application of Microimplant Anchorage (MIA) in Orthodontics (3) -Adjunctive treatment with MIA- The Korean Journal of Clinical Orthodontics, 2002a, 1:(4), 14-24.
11. Bae SM, Park HS, Kyung HM, Kwon OW, Sung JH. Clinical application of micro-implant anchorage. *J Clin Orthod.* 2002b; 36(5):298-302.
12. Barcelos GR, Grotto D, de Marco KC, Valentini J, Lengert Av, de Oliveira AÁ, Garcia SC, Braga GÚ, Schläwicke Engström K, Cólus IM, Broberg K, Barbosa F Jr. Polymorphisms in glutathione-related genes modify mercury concentrations and antioxidant status in subjects environmentally exposed to methylmercury. *Sci Total Environ.* 2013; 463-464: 319-25.
13. Barghi M, Behrooz RD, Esmaili-Sari A, Ghasempouri SM. Mercury exposure assessment in Iranian pregnant women's hair with respect to diet, amalgam filling, and lactation. *Biol Trace Elem Res.* 2012; 148(3):292-301.
14. Barregard L. Biological monitoring of exposure to mercury vapour. *Scand J Work Environ Health* 1993; 19:45-9.

15. Barrett RD, Bishara SE, Quinn JK. Biodegradation of orthodontic appliances. Part I. Biodegradation of nickel and chromium in vitro. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1993; 103(1): 8-14.
16. Becher RM, Corruccini RS. Effects of Dietary Consistency on Craniofacial and Occlusal Development in the Rat. *Angle Orthodontist*. 1981; 51(1): 61-9.
17. Bellinger DC, Trachtenberg F, Barregard L, Tavares M, Cernichiari E, Daniel D, McKinlay S. Neuropsychological and renal effects of dental amalgam in children: a randomized clinical trial. *Journal of the American Medical Association*. 2006; 295(15): 1775-83.
18. Berglund A, Molin M. Mercury levels in plasma and urine after removal of all amalgam restorations: the effect of using rubber dams. *Dent Mater* 1997; 13(5):297-304.
19. Bhasin P, Singla N, Dhawan DK. Protective role of zinc during aluminum-induced hepatotoxicity. *Environ Toxicol*. 2014 Mar; 29(3):320-7.
20. Bjørklund G. Selenium as an antidote in the treatment of mercury intoxication. *Biometals*. 2015 Aug; 28(4):605-14.
21. Björkman L, Lundekvam BF, Laegreid T, Bertelsen BI, Morild I, Lilleng P, Lind B, Palm B, Vahter M. Mercury in human brain, blood, muscle and toenails in relation to exposure: an autopsy study. *Environ Health*. 2007; 11; 6:30.
22. Block MS, Hoffman DR. A new device of absolute anchorage for orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995; 107(3):251-258.
23. Bouvier M, Hylander WL. Effect of bone strain on cortical bone structure in macaques (*Macaca mulatta*). *J Morphol*. 1981; 167(1):1-12.
24. Bränemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J of Plast Reconstr Surg* 1969; 3(2): 81-10.
25. Bravo LA. Naturaleza de la maloclusión y justificación del tratamiento ortodóncico. En: Bravo LA. *Manual de Ortodoncia*. Madrid: editorial Síntesis; 2007. p. 25-52.
26. Bridges CC, Joshee L, Zalups RK. Multidrug resistance proteins and the renal elimination of inorganic mercury mediated by 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonic acid and meso-2,3-dimercaptosuccinic acid. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008 Jan; 324(1):383-90.
27. Bridges CC, Zalups RK. Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005 May 1; 204(3):274-308. Review.
28. Burr DB, Forwood MR, Fyhrie DP, Martin RB, Schaffler MB, Turner CH. Bone microdamage and skeletal fragility in osteoporotic and stress fractures. *J Bone Miner Res* 12:6 -15; 1997.
29. Burstone CJ. Aplicación de la bioingeniería a la ortodoncia clínica. En: Graber TM, Vanarsdall RL, Vig KWL. *Ortodoncia: principio y técnicas actuales*. Barcelona: Editorial Elsevier. 2006; p. 293-330.
30. Cabaña ME, Bravo LA, Parmigiani JM. Tratamiento de C III con MIA (anclaje con microimplante). *Ortodoncia Clínica*. 2008; 11(2):90-97.
31. Cabaña Muñoz ME, Parmigiani Izquierdo JM. Contribución de los microimplantes a la ortodoncia. En: Padrós Serrat E. *Bases diagnósticas, terapéuticas y posturales del funcionalismo craneofacial*. Tomo III. Madrid: editorial Ripano; 2013. p. 2088-99.

32. Cabaña Muñoz ME. Metales en Ortodoncia y su Relación con las Amalgamas Dentales. 2013-2014. Tesina para la obtención de Experto en Macronutrición y Micronutrición aplicada a la salud y la calidad de vida; 2014. Universidad de Almería.
33. Cabaña-Muñoz ME, Parmigiani-Izquierdo JM, Bravo -González LA, Kyung HM, Merino JJ. Increased Zn/ Glutathione Levels and Higher Superoxide Dismutase-1 Activity as Biomarkers of Oxidative Stress in Women with Long-Term Dental Amalgam Fillings: Correlation between Mercury/Aluminium Levels (in Hair) and Antioxidant Systems in Plasma, Plos One. 2015a; 15:1(6): e0126339.
34. Cabaña-Muñoz ME, Parmigiani-Izquierdo JM, Parmigiani- Cabaña JM, Merino JJ. Safe Removal of Amalgam Fillings in Dental Clinic: Use of Synergic Nasal Filters (Active Carbon) and Phytonaturals, IJSR. (4 Issue 3), ISSN (Online) 2015b; 2319-7064.
35. Canalda C. Syndrome de mastication unilatérale dominante acquise. Rev Orthop Dento Fac 2002; 36: 53-73.
36. Canut Brusola JA. Concepto en Ortodoncia. En: Canut Brusola JA. Ortodoncia Clínica. Barcelona: Editorial Salvat S.A; 1998. P.1-15.
37. Case CP, Langkamer VG, James C, Palmer MR, Kemp AJ, Heap PF, Solomon L. Widespread dissemination of metal debris from implants. J BoneJointSurg Br. 1994; 76(5):701-12.
38. Casteleyn L, Dumez B, Becker K, Kolossa-Gehring M, Den Hond E, Schoeters G, Castaño A, Koch HM, Angerer J, Esteban M, Exley K, Sepai O, Bloemen L, Horvat M, Knudsen LE, Joas A, Joas R et al. A pilot study on the feasibility of European harmonized human biomonitoring: Strategies towards a common approach, challenges and opportunities. Environ Res. 2015 Aug; 141:3-14.
39. CDC Updated U.S. Public Health Service guidelines for the management of occupational exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. MMWR. 2001; 50(RR-11).
40. Çehreli S, Arman-Ozcirpici A. Primary stability and histomorphometric bone-implant contact of self-drilling and self-tapping orthodontic microimplants. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2012; 141(2): 187-95.
41. Celenza F, Hochman MN. Absolute Anchorage in orthodontics: direct an indirect implant-assisted modalities. J Clin Orthod. 2000; 34: 397-402.
42. Chang C; Liub SS, Roberts WE. Primary failure rate for 1680 extra-alveolar mandibular buccal shelf miniscrews placed in movable mucosa or attached gingiva. Published Online: January 20, 2015.
43. Chassot E, Irigaray JL, Terver S, Vanneuville G. Contamination by metallic elements released from joint prostheses. Med EngPhys 2004; 26(3):193-9.
44. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull. 1993 Jul; 49(3):481-93. Review.
45. Chen CH, Chen CH, Chang CS, Hsieh CH, Tseng YC, Shen YS, Huang IY, Yang CF, Chen CM. The use of microimplants in orthodontic anchorage. J oral Maxillofac Surg. 2006; 64 (8): 1209-13.
46. Chen R, Le Rouzic E, Kearney JA, Mansky LM, Benichou S. V pr-mediated in corporation of UNG2 in to HIV 1 particles is required to modulate the virus mutation rate and for replication in macrophages. J BiolChem. 2004 Jul 2; 279(27):28419-25. Epub 2004 Apr 19.

47. Chen Y, Shin HI, Kyung HM. Biomechanical and histological comparison of self-drilling and self-tapping orthodontic microimplants in dogs. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008; 133(1): 44–50.
48. Chen Z, Myers R, Wei T, Bind E, Kassim P, Wang G, Ji Y, Hong X, Caruso D, Bartell T, Gong Y, Strickland P, Navas-Acien A, Guallar E, Wang X. Placental transfer and concentrations of cadmium, mercury, lead, and selenium in mothers, new borns, and young children. *Sci Environ Epidemiol*.2014; 24(5):537-44.
49. Cherian MG, Hursh JB, Clarkson TW, Allen J. Radioactive mercury distribution in biological fluids and excretion in human subjects after inhalation of mercury vapor. *Arch Environ Health*. 1978 May-Jun; 33(3):109-14.
50. Cho UH, Yu W, Kyung HM. Root contact during drilling for microimplant placement. Affect of surgery site and operator expertise. *Angle Orthod*. 2010 Jan; 80(1):130-6.
51. Clarkson TW. Metal toxicity in the central nervous system. *Environ Health Perspect*. 1987 Nov; 75:59-64. Review.
52. Clarkson TW, Hursh JB, Sager PR & Syversen TLM. Mercury In: Clarkson TW, Hursh JB, Sager PR, Syversen TLM *Biological Monitoring of Toxic Metals* Plenum Press, New York; 1988. p. 199-246.
53. Clarkson TW, Magos L. The toxicology of mercury and it schemical compounds. *CritRevToxicol*. 2006 Sep; 36(8):609-62.
54. Clarkson TW. The three modern faces of mercury. *Environ Health Perspect*. 2002; 110: 11–23.
55. Colson DG. A safe protocol for amalgam removal. *J Environ Public Health* 2012;2012:517391
56. Corruccini RS, Whitley LD. Occlusal variation in a rural Kentucky community. *Am J Orthod*. 1981 Mar; 79(3):250-62.
57. Costa A, Melsen, B, Kölsen PJ. Zygoma ligatures – An alternative anchorage in the upper jaw. *J Clin Orthod*. 1998; 32: 154 –58.
58. Costa A, Raffaini M, Melsen B. Miniscrews as orthodontic anchorage: a preliminary report. *Int J Adult Orthodon Orthognath Surg*. 1998; 13(3); 201-9.
59. Creekmore TD, Eklund MK. The possibility of skeletal anchorage. *J Clin Orthod* 1983; 17(4): 266-9.
60. Danesh-Meyer MJ. Dental implants. Part I: Biological basis, implant types, and the peri-implants ulcus. *J N Z Soc Periodontol*. 1994; 77:15-22. Review.
61. De Maeztu MA, Alava JI, Gay-Escoda C. Ion implantation: surface treatment for improving the bone integration of titanium and Ti6Al4V dental implants. *Clin Oral Implants Res*. 2003 Feb; 14(1):57-62.
62. De Moraes LS, Serra GG, Albuquerque Palermo EF, Andrade LR, Müller CA, Meyers MA, Elias CN. Systemic levels of metallic ions released from orthodontic mini-implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009; 135(4):522-9.
63. Deguchi T, Takano-Yamamoto T, Kanomi R, Hartsfield JK Jr, Roberts WE, Garetto LP. The use of small titanium screws for orthodontic anchorage. *J Dent Res*. 2003; 82(5):377–81.
64. Deshayes MJ. Croissance crânienne et cinétiques osseuses interférant avec la morphogenèse faciale. Bases conceptuelles de réussite des traitements orthopédiques avant l'âge de 6 ans. *Orthod Fr* 2006; 77:63–78.

65. Di Paolo C, Reverté I, Colomina MT, Domingo JL, Gómez M. Chronic exposure to aluminum and melatonin through the diet: Neurobehavioral effects in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. *Food Chem Toxicol.*2014; 69:30-329.
66. Diamond ML, de Wit CA, Molander S, Scheringer M, Backhaus T, Lohman R, Arvidsson R, Bergman Å, Hauschild M, Holoubek I, Persson L, Suzuki N, Vighi M, Zetzsch C. Exploring the planetary boundary for chemical pollution. *Environ Int.* 2015 May; 78:8-15.
67. D'itri, P D'itri, F. Mercury contamination: A human tragedy. New York: 1977, Wiley.
68. Dolbec J, Mergler D, Larribe F, Roulet M, Lebel J, Lucotte M. Sequential analysis of hair mercury levels in relation to fish diet of an Amazonian population, Brazil. *Sci Total Environ.* 2001; 271 (1-3):87-97.
69. Drake, PL, Rojas, M, Reh, CM, Mueller CA, Jenkins FM. Occupational exposure to airborne mercury during gold mining operations near El Callao, Venezuela. *Int Arch Occup Environ Health.* 2001; 74(3): 206-12.
70. Dzięgielewska-Gęsiak S, Wysocka E, Michalak S, Nowakowska-Zajdel E, Kokot T, Muc-Wierzoń M. Role of lipid peroxidation products, plasma total antioxidant status, and Cu-Zn superoxide dismutase activity as biomarkers of oxidative stress in elderly prediabetics. *Oxid Med Cell Longev.*2014; 2014: 987303.
71. Edlich RF, Greene JA, Cochran AA, Kelley AR, Gubler KD, Olson BM, Hudson MA, Woode DR, Long WB 3rd, McGregor W, Yoder C, Hopkins DB, Saepoff JP. Need for informed consent for dentists who use mercury amalgam restorative material as well as technical considerations in removal of dental amalgam restorations. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.*2007; 26(4):305- 22.
72. Eley BM. The future of dental amalgam: a review of the literature. Part 2: Mercury exposure in dental practice. *Br Dent J.* 1997; 182(8):293-7.
73. EPA (U.S. Environmental Protection Agency). Mercury Study Report to Congress. Vol. IV: An Assessment of Exposure to Mercury in the United States. EPA-452/R-97-006. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Air Quality Planning and Standards and Office of Research and Development.1997.
74. Ercal N, Gurer-Orhan H, Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem.* 2001 Dec; 1(6):529-39. Review.
75. Espín S, Martínez-López E, Jiménez P, María-Mojica P, García-Fernández AJ. Effects of heavy metals on biomarkers for oxidative stress in Griffon vulture (*Gyps fulvus*). *Environ Res.* 2014 Feb; 129:59-68.
76. Eyeson J, House I, Yang YH, Warnakulasuriya KA. Relationship between mercury levels in blood and urine and complaints of chronic mercury toxicity from amalgam restorations. *Br Dent J.* 2010 Feb; 27; 208(4):E7; discussion 162-3.
77. Fakour H, Esmaili-Sari A, Zayeri F. Scalp hair and saliva as biomarkers in determination of mercury levels in Iranian women: amalgam as a determinant of exposure. *J Hazard Mater.*2010; 177 (1-3):109-13.
78. Fakour H, Esmaili-Sari A. Occupational and environmental exposure to mercury among Iranian hair dressers. *J Occup Health.* 2014; 56(1):56-61.

79. Farina M, Aschner M, Rocha JB. Oxidative stress in MeHg-induced neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2011; 256(3): 405-17.
80. Fawer, RF, De Ribaupierre U, Guillemin MP, Berode M, Lob M. Measurement of hand tremor induced by industrial exposure to metallic mercury. *Br J Ind Med.* 1983; 40(2): 204-8.
81. Foo CC, Goon AT, Leow YH, Goh CL. Adverse skin reactions to personal protective equipment against severe acute respiratory syndrome--a descriptive study in Singapore. *Contact Dermatitis.* 2006 Nov; 55(5):291-4.
82. Fossi MC. Nondestructive biomarkers in ecotoxicology. *Environ Health Perspect.* 1994 Dec; 102 Suppl 12:49-54. Review.
83. Frick A, Åhs F, Engman J, Jonasson M, Alaie I, Björkstrand J, Frans Ö, Faria V, Linnman C, Appel L, Wahlstedt K, Lubberink M, Fredrikson M, Furmark T. Serotonin Synthesis and Reuptake in Social Anxiety Disorder: A Positron Emission Tomography Study. *JAMA Psychiatry.* 2015 Aug 1; 72(8):794-802.
84. Frisken KW, Dandie GW, Lugowski S, Jordan G. A study of titanium release into body organs following the insertion of single threaded screw implants into the mandibles of sheep. *Aust Dent J.* 2002; 47(3):214-7.
85. Fritz U, Ehmer A, Diedrich P. Clinical suitability of titanium microscrews for orthodontic anchorage- preliminary experience. *J Orofac Orthod.* 2004; 65(5): 410- 8.
86. Frost HM. A 2003 update of bone physiology and Wolff's Law for clinicians. *Angle Orthod.* 2004; 74(1): 3-15. Review.
87. Frost HM. Wolff's law and bone's structural adaptations to mechanical usage: an overview for clinicians. *Angle Orthod.* 1994; 64(3): 175-88.
88. Gagliardi SA, Roseff MG. Actividad física. En: Zanchetta JR Osteoporosis, Fisiopatología diagnóstico, prevención y tratamiento. Ed: Panamericana; 2001.p.279-286.
89. Gainsforth BL, Higley LB. A study of orthodontic anchorage possibility in basal bone. *Am J Orthod Oral Surg.* 1945; 31: 406- 17.
90. Garner JS. Hospital Infection control practices advisory committee. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996; 17: p. 53-80.
91. Geier DA, Carmody T, Kern JK, King PG, Geier MR. A significant relationship between mercury exposure from dental amalgams and urinary porphyrins: a further assessment of the Casa Pia Children's dental amalgam trial. *Biomaterials.* 2011; 24(2): 215-24.
92. Geijersstam E, Sandborgh-Englund G, Jonsson F, Ekstrand J. Mercury uptake and kinetics after ingestion of dental amalgam. *J Dent Res.* 2001; 80(9): 1793-6.
93. Gibson LA, Lavoie RA, Bissegger S, Campbell LM, Langlois VS. A positive correlation between mercury and oxidative stress-related gene expression (GPX3 and GSTM3) measured in female Double-crested Cormorant blood. *Ecotoxicology.* 2014; 23:1004-14.
94. Goldberg JR, Gilbert JL. The electrochemical and mechanical behaviour of passivated and TiN/AlN-coated Co Cr Mo and Ti6Al4V alloys. *Biomaterials* 2004; 25:851-64.
95. Goldwater BM Jr. Improving delivery of dental health care: the role of the federal government. *San Fernando Val Dent Soc Bull.* 1972 Feb; 6(4):4-5.

96. Golvano I, Garcia I, Conde A, Tato W, Aginagalde A. Influence of fluoride content and pH on corrosion and tribocorrosion behaviour of Ti13Nb13Zr alloy in oral environment. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2015 Sep; 49:186-96.
97. Goyer PF, Berridge MS, Morris ED, Semple WE, Compton-Toth BA, Schulz SC, Wong DF, Miraldi F, Meltzer HY. PET measurement of neuroreceptor occupancy by typical and atypical neuroleptics. *J Nucl Med*. 1996 Jul; 37(7):1122-7.
98. Gritsch K, Laroche N, Morgon L, Al-Hity R, Vico L, Colon P, Grosogeat B. A systematic review of methods for tissue analysis in animal studies on orthodontic mini-implants. *Orthod Craniofac Res*. 2012; 15: 135-47.
99. Grotto D, Valentini J, Fillion M, Passos CJ, Garcia SC, Mergler D, et al. Mercury exposure and oxidative stress in communities of the Brazilian Amazon. *Sci Total Environ*. 2010; 408:806-11.
100. Gul N, Khan S, Khan A, Ahmad SS. Mercury health effects among the workers extracting gold from carpets and dusted clays through amalgamation and roasting processes. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2015 Jul 15.
101. Gurer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radic Biol Med*. 2000 Nov 15; 29(10):927-45. Review.
102. Gürsoy S, Acar AG, Seşen C. Comparison of metal release from new and recycled bracket – archwire combinations. *Angle Orthod*. 2005; 75(1):92-94.
103. Hanawa T. Metal ion release from metal implants. *Mater SciEng C*. 2004; 24:745-52.
104. Heidemann W, Terheyden H, Gerlach KL. Analysis of the osseous/metal interface of drill free screws and self-tapping screws. *J Craniomaxillofac Surg* 2001; 29:69-74.
105. Heintze SD, Rousson V. Effectiveness of Direct Class II Restorations– A Meta-Analysis. *J Adhes Dent*. 2012 Oct; 14(5):407-31.
106. Hernández Ramos F. En: *Ortomolecular*. Ed: Rba; 2012. P. 67-72.
107. Hichijo N, Tanaka E, Kawai N, van Ruijven LJ, Langenbach GE. Effects of Decreased Occlusal Loading during Growth on the Mandibular Bone Characteristics. *PLoS One*. 2015 Jun 10; 10(6):e0129290.
108. Hiromoto S, Hanawa T, Asami K. Composition of surface oxide film of titanium with culturing murine fibroblasts L929. *Biomaterials*. 2004; 25(6):979-86.
109. Homme KG, Kern JK, Haley BE, Geier DA, King PG, Sykes LK, et al. New science challenges old notion that mercury dental amalgam is safe. *Biometals*. 2014; 27:19-24.
110. Huja SS, Litsky AS, Beck FM, Johnson KA, Larsen PE. Pull-out strength of monocortical screws placed in the maxillae and mandibles of dogs. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2005; 127:307-13.
111. Huja SS, Rao J, Struckhoff JA, Beck FM, Litsky AS. Biomechanical and histomorphometric analyses of monocortical screws at placement and 6 weeks postinsertion. *J Oral Implantol*. 2006; 32(3):110-6.
112. Hujoel PP, Lydon-Rochelle M, Bollen AM, Woods JS, Geurtsen W, del Aguila MA. Mercury exposure from dental filling placement during pregnancy and low birth weight risk. *Am J Epidemiol*. 2005 Apr 15; 161(8):734-40.

113. Hung E, Oliver D, Kim KB, Kyung HM, Buschang PH. Effects of pilot hole size and bone density on miniscrew implants' stability. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012; 14:454-60.
114. Hussain S, Atkinson A, Thompson SJ, Khan AT. Accumulation of mercury and its effect on antioxidant enzymes in brain, liver, and kidneys of mice. *J Environ Sci Health B.* 1999; 34: 645-60.
115. Hwang CJ, Shin JS, Cha JY. Metal release from simulated fixed orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2001; 120(4):383-91.
116. IAOMT Standards of Care Preferred Procedure Approved 9/27/92
117. Iijima M, Muguruma T, Kawaguchi M, Yasuda Y, Mizoguchi I. In vivo degradation of orthodontic miniscrew implants: surface analysis of as-received and retrieved specimens. *J Mater Sci Mater Med.* 2015 Feb; 26(2):71.
118. IMERC "Fact Sheet Mercury Use in Dental Amalgam," 2007 <http://www.newmoa.org/prevention/mercury/imerc/pubs/reports.cfm>
119. Jacobs JJ, Campbell PA, T Konttinen Y. How has the biologic reaction to wear particles changed with newer bearing surfaces? *Implant Wear Symposium 2007 Biologic Work Group. J Am Acad Orthop Surg.* 2008; 16 Suppl 1:S49-55.
120. Jacobs JJ, Gilbert JL, Urban RM. Corrosion of metal orthopaedic implants. *J Bone Joint Surg Am* 1998; 80(2) : 268-82. Review.
121. Jallad KN. Heavy metal exposure from ingesting rice and its related potential hazardous health risks to humans. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2015 May 26.
122. Janssens F, Swennen G, Dujardin T, Glineur R, Malevez C. Use of onplant as orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2002; 122:566-570.
123. Jenko K, Karouna-Renier NK, Hoffman DJ. Gene expression, glutathione status, and indicators of hepatic oxidative stress in laughing gull (*Larus atricilla*) hatchlings exposed to methylmercury. *Environ Toxicol Chem.* 2012; 31: 2588-96.
124. Jin Y, Liu L, Zhang S, He R, Wu Y, Chen G, Fu Z. Cadmium exposure to murine macrophages decreases their inflammatory responses and increases their oxidative stress. *Chemosphere.* 2015 Sep 9; 144:168-175.
125. Jones L, Bunnell J, Stillman J. A 30-year follow-up of residual effects on New Zealand School Dental Nurses, from occupational mercury exposure. *Hum Exp Toxicol.* 2007; 26: 367-74.
126. Jozefczak M, Bohler S, Schat H, Horemans N, Guisez Y, Remans T, Vangronsveld J, Cuypers A. Both the concentration and redox state of glutathione and ascorbate influence the sensitivity of arabidopsis to cadmium. *Ann Bot.* 2015 Sep; 116(4):601-12.
127. Kanomi R. Mini implant for orthodontic anchorage. *J Clin Orthod.* 1997; 31; 763-7.
128. Kao RT, Dault S, Pichay T. Understanding the mercury reduction issue: the impact of mercury on the environment and human health. *J CalifDentAssoc.* 2004; 32(7): 574-9.
129. Karam JR, Rinchuse DJ. Dental amalgam corrosion in vacuum-formed retainers. *Orthodontics (Chic).* 2011; 12 (1):70-4.

130. Karimi M, Aboufazeli F, Zhad HR, Sadegui O, Najafi E. Experimental design methodology applied to mercury determination: hair samples as a mercury bioindicator. *J AOAC Int.* 2015 Jan- Feb; 98(1): 176-82.
131. Karimi R, Fisher NS, Meliker JR. Mercury-nutrient signatures in seafood and in the blood of avid seafood consumers. *Sci Total Environ.* 2014 Oct 15; 496: 636-43.
132. Kenney P, Hilberg O, Pedersen H, Nielsen OB, Sigsgaard T. Nasal filters for the treatment of allergic rhinitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover clinical trial. *J. Allergy Clin Immunol.* 2014; 133(5): 1477-80. 1480. e1- 13.
133. Kern JK, Geier DA, Bjørklund G, King PG, Homme KG, Haley BE, Sykes LK, Geier MR. Evidence supporting a link between dental amalgams and chronic illness, fatigue, depression, anxiety, and suicide. *Neuro Endocrinol Lett.* 2014; 35(7):537-52. Review.
134. Khwaja MA, Abbasi MS. Mercury poisoning dentistry: high-level indoor air mercury contamination at selected dental sites. *Rev Environ Health.* 2014; 29:29-31.
135. Kidd SP, Jiang D, Jennings MP, McEwan AG. Glutathione-dependent alcohol dehydrogenase AdhC is required for defense against nitrosative stress in *Haemophilus influenzae*. *Infect Immun.* 2007 Sep; 75(9):4506-13.
136. Kiliaridis S, Mejersjo C, Thilander B. Muscle function and craniofacial morphology: a clinical study in patients with myotonic dystrophy. *Eur J Orthod.* 1989; 11: 131-8.
137. Kiliaridis S. The Importance of Masticatory Muscle Function in Dentofacial Growth. *Semin Orthod* 2006; 12: pp 110-119.
138. Kim JW, Ahn SJ, Chang YI. Histomorphometric and mechanical analyses of the drill-free screw as orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2005; 128: 190-4.
139. Kim SH, Cho JH, Chung KR, Kook YA, Nelson G. Evaluation of the removal torque values of surface-treated mini implants after loading. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2008; 134:36-43.
140. Kim SH, Lee SJ, Cho IS, Kim SK, Kim TW. Rotational resistance of surface-treated mini-implants. *Angle Orthod.* 2009; 79:899-907.
141. Koral SM, IAOMT Safe Removal of Amalgam Fillings, International Academy of Oral Medicine & Toxicology 2007.
142. Kremers L, Halbach S, Willruth H, et al. Effect of rubber dam on mercury exposure during amalgam removal. *Eur J Oral Sci.* 1999; 107:202-207.
143. Kuppusamy UR, Dharmani M, Kanthimathi MS, Indran M. Antioxidant enzyme activities of human peripheral blood mononuclear cells exposed to trace elements. *Biol Trace Elem Res.* 2005 Jul; 106(1):29-40.
144. Kuroda S, Yamada K, Deguchi T, Hashimoto T, Kyung HM, Takano-Yamamoto T. Root proximity is a major factor for screw failure in orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2007b; 131 (Suppl): S68-73.
145. Kuroda S, Sugawara Y, Deguchi T, Kyung HM, Takano-Yamamoto T. Clinical use of miniscrew implants as orthodontic anchorage: success rates and postoperative discomfort. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2007a; 131: 9-15.
146. Kyung HM, Park HS, Bae SM, Sung JH, Kim IB. Development of orthodontic micro-implants for intraoral anchorage. *J Clin Orthod.* 2003; 37: 321-8.

147. Kyung HM. The development of orthodontic Micro implant. *Dental Success*. 2002; 22: 571-9.
148. Larsson E, Øgaard B, Lindsten R, Holmgren N, Brattberg M, Brattberg L. Craniofacial and dentofacial development in pigs fed soft and hard diets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2005; 128(6):731-9.
149. Lee JS, Park HS, Kyung HM. Microimplant anchorage for lingual treatment of a skeletal Class II malocclusion. *J Clin Orthod*. 2001; 35:643-647.
150. Li P, Feng X, Chan HM, Zhang X, Du B. Human Body Burden and Dietary Methylmercury Intake: The Relationship in a Rice-Consuming Population. *Environ Sci Technol*. 2015 Aug 18; 49(16):9682-9.
151. Lieberman DE, Krovitzb GE, Yatesa FW, Devlina M, Clairec MS. Effects of food processing on masticatory strain and craniofacial growth in a retrognathic face. *Journal of Human Evolution*. 2004; 46: 655-77.
152. Lim SD, Takada Y, Kim KH, Okuno O. Ions released from dental amalgams in contact with titanium. *Dent Mater J*. 2003; 22:96-110.
153. Limón-Pacheco J, Gonsebatt ME. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res*. 2009 Mar; 31; 674(1-2):137-47.
154. Linkow LI: The endosseous blade implant and its use in orthodontics. *Int J Orthod*. 1969; 18:149-154.
155. Liou EJ, Pai BC, Lin JC. Do miniscrews remain stationary under orthodontic forces? *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2004; 126(1): 42-7.
156. Lohren H, Bornhorst J, Galla HJ, Schwerdtle T. The blood-cerebrospinal fluid barrier - first evidence for an active transport of organic mercury compounds out of the brain. *Metallomics*. 2015; 7 (10): 1420-30.
157. Lorscheider FL, Vimy MJ, Summers AO. Mercury exposure from "silver" tooth fillings: emerging evidence questions a traditional dental paradigm. *FASEB J*. 1995 Apr; 9(7):504-8. Review.
158. Lund BO, Miller DM, Woods JS. Mercury-induced H₂O₂ production and lipid peroxidation *in vitro* in rat kidney mitochondria. *Biochem. Pharmacol*. 1991; 42S:181-187.
159. Luoma H, Seppä L, Koskinen M, Syrjänen S. Effect of chlorhexidine-fluoride applications without and with Sr and Zn on caries, plaque, and gingiva in rats. *J Dent Res*. 1984; 63: 1193-6.
160. Machi RL. Materiales metálicos. En: Macchi. *Materiales dentales: editorial panamericana*. 2002. 3ª edición. p41-80.
161. Mackert JR Jr. Factors affecting estimation of dental amalgam mercury exposure from measurements of mercury vapor levels in intra-oral and expired air. *Journal of Dental Research*. 1987; 66(12): 1775- 80.
162. Magos L, Clarkson TW. Overview of the clinical toxicity of mercury. *Ann ClinBiochem*. 2006; 43:257-268.
163. Makhija SK, Gordan VV, Gilbert GH, Litaker MS, Rindal DB, Pihlstrom DJ, et al. Practitioner, patient and carious lesion characteristics associated with type of

- restorative material: findings from the Dental Practice-Based Research Network. *JADA*.2011; 142: 622–32.
164. Marco Chover. Revisión de los oligoelementos ampliada y revisada. Valencia: Editorial Papallona; 2003. ISBN 978-84-612-5971-7
165. Marques RC, Bernardi JV, Dórea JG, de Fatima R Moreira M, Malm O. Perinatal multiple exposure to neurotoxic (lead, methylmercury, ethylmercury, and aluminum) substances and neurodevelopment at six and 24 months of age. *Environ Pollut*. 2014; 187:130-5.
166. Martin SF. T lymphocyte-mediated immune responses to chemical haptens metal ions: implications for allergic and autoimmune disease. *Int Arch Allergy Immunol*. 2004; 134(3):186-98.
167. Martinez-Haro M, Green AJ, Mateo R. Effects of lead exposure on oxidative stress biomarkers and plasma biochemistry in water birds in the field. *Environmental Research*. 2011; 111: 530–8.
168. Matasa CG. Biomateriales en Ortodoncia. En: Graber TM, Vanarsdall RL, Vig KWL. *Ortodoncia: principio y técnicas actuales*. Barcelona: Editorial Elsevier; 2006. p.345-89.
169. Mavropoulos A, Kiliaridis S, Bresin A, Ammann P. Effect of different masticatory functional and mechanical demands on the structural adaptation of the mandibular alveolar bone in young growing rats. *Bone*. 2004 Jul; 35(1):191-7.
170. Máximo A. Alvarenga B. *Leyes de Newton*. En: Física general. Oxford University Press. México; 1998. p.150-345.
171. Melsen B, Costa A. Immediate loading of implants used for orthodontic anchorage. *Clin Orthod Res*. 2000; 3(1): 23–28.
172. Melsen B, Lang NP. Biological reactions of alveolar bone to orthodontic loading of oral implants. *Clin Oral Implants Res*. 2001; 12:144–52.
173. Melsen B, Petersen JK, Costa A. Zygoma ligatures: An alternative form of maxillary anchorage. *J Clin Orthod*. 1998; 32: 154-58.
174. Merino JJ, Roncero C, Oset-Gasque MJ, Naddaf A, González MP. Antioxidant and protective mechanisms against hypoxia and hypoglycaemia in cortical neurons in vitro. *Int J Mol Sci*. 2014; 15:2475-93.
175. Mikulewicz M, Chojnacka K. Release of metal ions from orthodontic appliances by in vitro studies: a systematic literature review. *Biol Trace Elem Res*. 2011; 139(3):241-56.
176. Millán J, Mateo R, Taggart MA, López-Bao JV, Viota M, Monsalve L, Camarero PR, Blázquez E, Jiménez B. Levels of heavy metals and metalloids in critically endangered Iberian lynx and other wild carnivores from Southern Spain. *Sci Total Environ*. 2008 Jul 25;399(1-3):193-201
177. Miyawaki S, Koyama I, Inoue M, Mishima K, Sugahara T, Takano -Yamamoto T. Factors associated with the stability of titanium screws placed in the posterior region for orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2003; 124: 373–378.
178. Molin M, Bergman B, Marklund SL, Schutz A, Skervfing S. Mercury selenium and glutathione peroxidase before and after amalgam removal in man. *Acta OdontolScand*. 1990; 48 (3): 189-202.

179. Morrissette J, Takser L, St-Amour G, Smargiassi A, Lafond J, Mergler D. Temporal variation of blood and hair mercury levels in pregnancy in relation to fish consumption history in a population living along the St Lawrence River. *Environ Res.* 2004; 95:363-74.
180. Mortazavi SM, Neghab M, Anoosheh SM, Bahaeddini N, Mortazavi G, Neghab P, et al. High field MRI and mercury release from dental amalgam fillings. *Int J Occup Environ Med.* 2014; 5: 101-5.
181. Mortensen MG, Buschang PH, Oliver DR et al. Stability of immediately loaded 3- and 6-mm miniscrew implants in beagle dogs-a pilot study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009; 136(2): 251-59.
182. Motoyoshi M, Hirabayashi M, Uemura M, Shimizu N. Recommended placement torque when tightening an orthodontic mini-implant. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17:109-14.
183. Motoyoshi M, Inaba M, Ono A, Ueno S, Shimizu N. The effect of cortical bone thickness on the stability of orthodontic mini-implants and on the stress distribution in surrounding bone. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 38: 13-8.
184. Mutter J, Naumann J, Sadaghian C, Walach H, Drasch G. Amalgam studies: disregarding basic principles of mercury toxicity. *Int J Hyg Environ Health.* 2004; 207: 391-97.
185. Mutter J. Is dental amalgam safe for humans? The opinion of the scientific committee of the European Commission. *J Occup Med Toxicol.* 2011; 6:2.
186. Nedd S, Redler RL, Proctor EA, Dokholyan NV, Alexandrova AN. Cu,Zn-superoxide dismutase without Zn Is Folded but Catalytically Inactive. *J Mol Biol.* 2014; 426: 4112-24.
187. Ngim CH, Foo SC, Boey KW, Jeyaratnam J. Chronic neurobehavioural effects of elemental mercury in dentists. *Br J Ind Med.* 1992 Nov; 49(11):782-90.
188. Ngim C, Ngim AD. Health and safety in the dental clinic - Hygiene regulations for use of elemental mercury in the protection of rights, safety and well-being of the patients, workers and the environment. *Singapore Dent J.* 2013 Dec; 34(1):19-24.
189. Nielsen SJ, Aoki Y, Kit BK, Ogden CL. More than half of US youth consume seafood and most have blood mercury concentrations below the EPA reference level, 2009-2012. *J Nutr.* 2015 Feb; 145(2):322-7.
190. Nienkemper M, Handschel, Drescher D. Systematic review of mini-implant displacement under orthodontic loading. *International Journal of Oral Science.* 2014; 6: 1-6.
191. Nimmo A, Werley MS, Martin JS, Tansy MF. Particulate inhalation during the removal of amalgam restorations. *J Prosthet Dent.* 1990; 63 (2):228-33.
192. Nylander ML, Friberg, Lind B. Mercury concentrations in the human brain and kidneys in relation to exposure from dental amalgam fillings. *Swedish Dental.* 1987; 11 (5): 179-87.
193. Oh SH, Whanger PD, Deagen JT. Tissue metallothionein: dietary interaction of cadmium and zinc with copper, mercury, and silver. *J Toxicol Environ Health.* 1981; 7(3-4):547-60.
194. Ohmae M, Saito S, Morohashi T, Seki K, Qu H, Kanomi R, Yamasaki KI, Okano T, Yamada S, Shibasaki Y. A clinical and histological evaluation of titanium mini-implants

- as anchors for orthodontic intrusion in the beagle dog. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2001; 119: 489-97.
195. Okati N, Sari AE, Ghasempouri SM. Biol Hair mercury concentrations of lactating mothers and breastfed infants in Iran (fish consumption and mercury exposure). *Trace Elem Res.* 2012; 149: 155-62.
 196. Olea N. Estrogenicity of resin based composites and sealants used in dentistry. *Env Health Persp.* 1996; 104: 298-305.
 197. Olmedo D, Fernández MM, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Macrophages related to dental implant failure. *ImplantDent.* 2003; 12(1):75-80.
 198. Owens SE, Buschang PH, Cope JB, Franco PF, Rossouw PE. Experimental evaluation of tooth movement in the beagle dog with the mini-implant for orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2007; 132:639-46.
 199. Oyonarte R, Pilliar RM, Deporter D, Woodside DG. Peri-implant bone response to orthodontic loading: Part1. A histomorphometric study of the effects of implant surface design. *Am J Orthod dentofacial Ortho.* 2005; 128 (2): 173-81.
 200. Pamphlett R., KumJew S. Different Populations of Human Locus Ceruleus Neurons Contain Heavy Metals or Hyperphosphorylated Tau: Implications for Amyloid- β and Tau Pathology in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2015; 45: 437-47.
 201. PAPA FRANCISCO, Carta Encíclica, LAUDATO SI'. Editrice Vaticana, 2015, Ciudad del Vaticano.
 202. Papageorgiou SN, Zogakis IP, Papadopoulos MA. Failure rates and associated risk factors of orthodontic miniscrew implants: a meta- analysis. *Am J OrthodDentofacialOrthop.* 2012; 142: 577-95.
 203. Park HS, Bae SM, Kyung HM, Sung JH. Micro-implant anchorage for treatment of skeletal Class I bialveolar protrusion, *J Clin orthod.* 2001; 35; 417-22.
 204. Park HS, Bae SM, Kyung HM, Sung JH. Simultaneous incisor retraction and distal molar movement with microimplant anchorage. *World J Orthod.* Summer 5 2004; (2): 164-71.
 205. Park HS, Jeong SH, Kwon OW. Factors affecting the clinical success of screw implants used as orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006; 130:18-25.
 206. Park HS, Kim JB. The use of titanium microscrew implant as orthodontic anchorage, *Keimyung Med J.* 1999; 18:509-15.
 207. Park HS, Lee YL, Jeong SH, Kwon TG. Density of the alveolar and basal bones of the maxilla and the mandible. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2008; 133:30-7.
 208. Park HS. *Minor Tooth Movement with Microimplants for Prosthetic Treatment.* 1st ed. Daegu: Dentos Inc; 2009.
 209. Park HS. The skeletal cortical anchorage using titanium microscrew implant, *Kor.J. Orthod.* 1999; 29: 699-706.
 210. Park HS: An Anatomical Study using CT Images for the Implantation of Micro-implants, Korea. *J. Orthod.* 2002; 32: (6), 435-441.
 211. Park JD, Zheng W. Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *J Prev Med Public Health.* 2012; 45: 344-52.

212. Patil P, Kharbanda OP, Duggal R, Das TK, Kalyanasundaram D. Surface deterioration and elemental composition of retrieved orthodontic miniscrews. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2015; 147(4 Suppl):S88-100.
213. Penugonda S, Ercal N. Comparative evaluation of N-acetylcysteine (NAC) and N-acetylcysteine amide (NACA) on glutamate and lead-induced toxicity in CD-1 mice. *ToxicolLett.* 2011 Feb 25; 201(1):1-7.
214. Peterson SH, McHuron EA, Kennedy SN, Ackerman JT, Rea LD, Castellini JM, O'Hara TM, Costa DP. Evaluating Hair as a Predictor of Blood Mercury: The Influence of Ontogenetic Phase and Life History in Pinnipeds. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2015 Jul 7. [Epub ahead of print].
215. Pigatto PD, Minoia C, Ronchi A, Brambilla L, Ferrucci SM, Spadari F, et al. Allergological and Toxicological aspects in a multiple chemical sensitivity cohort. *Oxid Med Cell Longev.* 2013; 356235.
216. Piikivi L, Tolonen U. EEG findings in hlor-alkali workers subjected to low long term exposure to mercury vapor. *Br. J. Ind. Med.* 46:370-375.
217. Planas P. Leyes planas de desarrollo del Sistema estomatognático. En: Planas P. *Rehabilitacion Neuro-Oclusal (RNO)*. 2ª edición. Barcelona: editorial Masson; 1994. p. 35-60.
218. Proffit WR. El problema Ortodóncico. En: Proffit WR. *Ortodoncia Contemporánea*. 4.ª Ed. Mosby; 2008. p. 1-23.
219. Puchyr RF, Bass DA, Gajewski R, Calvin M, Marquardt W, Urek K, et al. Preparation of hair for measurement of elements by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Biol Trace Elem Res.* 1998; 62:167-82.
220. Quig D. Cysteine metabolism and metal toxicity. *Altern Med Rev.* 1998 Aug; 3(4):262-70. Review.
221. Rajae M, Sánchez BN, Renne EP, Basu N. An Investigation of Organic and Inorganic Mercury Exposure and Blood Pressure in a Small-Scale Gold Mining Community in Ghana. *Int J Environ Res Public Health.* 2015 Aug 21; 12(8):10020-38.
222. Ramazanzadeh BA, Fatemi K, Dehghani M, Mohtasham N, Jahanbin A, Sadeghian H. Effect of healing time on bone-implant contact of orthodontic micro-implants: a histologic study. *post 2000. ISRN Dent.* 2014 Apr 6; 2014: 179037.
223. Richardson G.M., Inhalation of mercury-contaminated particulate matter by dentists: an overlooked occupational risk. *Hum Ecol Risk Assess* 2003; 9:1519-1531.
224. Richardson GM, Wilson R, Allard D, Purtill C, Douma S, Gravière J. Mercury exposure and risks from dental amalgam in the US population. *The Science of the Total Environment.* 2011; 409 (20), pp. 4257- 68.
225. Richardson GM, Brecher RW, Scobie H, Hamblen J, Samuelian J, Smith C. Mercury vapour (Hg (0)): Continuing toxicological uncertainties, and establishing a Canadian reference exposure level. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2009 Feb; 53(1):32-8.
226. Richardson, G.M. Assessment of adult exposure and risks from components and degradation products of composite resin dental materials. *Human and Ecological Risk Assessment.* 1997; 3(4): 683-697.
227. Roberts HW, Charlton DG. The release of mercury from amalgam restorations and its health effects: are view. *Oper Dent.* 2009 Sep-Oct; 34(5): 605-14.

228. Roberts WE, Nelson CL, Goodacre CJ. Rigid implant anchorage to close a mandibular first molar extraction site. *J Clin Orthod.* 1994; 28:693-704.
229. Roberts WE, Smith RK, Zilberman Y, Mozsary PG, Smith RS: Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. *Am J Orthod* 1984; 86:95-111.
230. Roberts WE. Anclaje ortodóntico con Implantes Oseointegrados: Fisiología Ósea, Metabolismo y Biomecánica. En: Higuchi KW. Aplicaciones ortodónticas en Implantes Oseointegrados. Caracas.: editorial Amolca; 2002. p.161-79.
231. Roberts WE. Fisiología, metabolismo y biomecánica del hueso en la práctica ortodóntica. En: Graber TM, Vanarsdall RL, Vig KWL. Ortodoncia: principio y técnicas actuales. Barcelona: Editorial Elsevier; 2006. p. 221-292.
232. Rocabado M. Análisis biomecánico craneocervical a través de una teleradiografía lateral. 1984. *Revista Chil de ortodoncia*;p. 24-29
233. Ruiz de Castañeda ER, et al. Filtek TM Silorane and Filtek TM Supreme XT resins: tissue reaction after subcutaneous implantation in isogenic mice. *BrazDent J.* 2011; 22(2): 105-10.
234. Saghiri MA, Banava S, Sabzian MA, Gutmann JL, Asatourian A, Ramezani GH, et al . Correlation between long-term in vivo amalgam restorations and the presence of heavy elements in the dental pulp. *J Trace Elem Med Biol.* 2014; 28:200-4.
235. Salomone P, Bueno RP, Trinidad RF, Nascimento PC, Pozzobon RT. Assessment of there lease of mercury From silver amalgam a exposed to different 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Gen Dent.*2013; 61(1):33-5.
236. Sarul M, Minch L, Park HS, Antoszewska-Smith J. Effect of the length of orthodontic mini-screw implants on their long-term stability: a prospective study. *AngleOrthod.* 2015 Jan; 85(1):33-8.
237. Scheuhammer AM. The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: a review. *Environ Pollut.* 1987; 46(4):263-95.
238. Shapiro PA, Kokich VG. Uses of implants in Orthodontics. *Dent Clin North Am.* 1988; 32: 539-50.
239. Sherman AJ. Bone reaction to orthodontic forces on vitreous carbon dental implants, *Am J Orthod.* 1978; 74:79-87.
240. Shraim A, Alsuhami A, Al-Thakafy JT. Dental clinics: a point pollution source, not only of mercury but also of other amalgam constituents. *Chemosphere.* 2011; 84:1133-9.
241. Simoes WA. Principio fundamentales de la ortopedia funcional de los maxilares y sus características básicas. En: Simoes WA. Ortopedia funcional de los maxilares. Volumen I, 3Edición. Sao Paulo, Editorial Artes Médicas ; 2004. p. 91-123.
242. Sjursen TT, Lygre GB, Dalen K et al. Changes in health complaint safter removal of amalgam fillings. *Journal of Oral Rehabilitation.* 2011; 38: 835-48.
243. Smith JR. Bone dynamics associated with the controlled loading of bioglass-coated aluminum endosteal implants, *Am J Orthod.* 1979; 76: 618-36.
244. Solsona C, Kahn TB, Badilla CL, Álvarez-Zaldiernas C, Blasi J, Fernandez JM, Alegre-Cebollada J. Altered thiol chemistry in human amyotrophic lateral sclerosis-linked mutants of superoxide dismutase 1. *J Biol Chem.* 2014 Sep 26; 289(39):26722-32.

245. Somers EC, Ganser MA, Warren JS, Basu N, Wang L, Zick SM, Park SK. Mercury Exposure and Antinuclear Antibodies among Females of Reproductive Age in the United States: NHANES. *Environ Health Perspect.* 2015; 123:792-8.
246. Soussa E, Shalaby Y, Maria AM, Maria OM. Evaluation of oral tissue response and blood levels of mercury released from dental amalgam in rats. *Arch Oral Biol.* 2013; 58: 981-8.
247. Stejskal V, Ockert K, Bjørklund G. Metal-induced inflammation triggers fibromyalgia in metal-allergic patients. *Neuro EndocrinolLett.* 2013; 34:559-65.
248. Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic Biol Med.* 1995 Feb; 18(2):321-36.
249. Stonehouse CA, Newman AP. Mercury vapour release from a dental aspirator. *Brit Dental J.* 2001; 190: 558-60.
250. Sugawara, J. Dr. Junji Sugawara on the skeletal anchorage system (JCO interviews). *J Clin Orthod.* 1999; 33: 689-96.
251. Sugiura T, Yamamoto K, Kawakami M, Horita S, Murakami K, Kirita T. Influence of bone parameters on peri-implant bone strain distribution in the posterior mandible. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2015 Jan 1; 20(1):e66-73.
252. Sunderman FW Jr, Dingle B, Hopfer SM, Swift T. Acute nickel toxicity in electroplating workers who accidentally ingested a solution of nickel sulfate and nickel chloride. *Am J IndMed.* 1988; 14(3):257-6.
253. Sung J-H, Kyung HM, Bae SM, Park HS, Kwon OW, McNamara Jr JA. *Microimplants in Orthodontics; 2006, 1ª ed.* Dentos.
254. Taing-Watson E, Katona TR, Stewart KT, Ghoneima A, Chu GT, Kyung HM, Liu SS. Microdamage generation by tapered and cylindrical mini-screw implant safter pilot drilling. *Angle Orthod.* 2015 Sep; 85(5):859-67.
255. Tanaka SM, Sun HB, Roeder RK, Burr DB, Turner CH, et al. Osteoblast responses one hour after load-induced fluid flow in a three-dimensional porous matrix. *Calcif Tissue Int.* 2005; 76: 261-71.
256. Tehemar SH. Factors affecting heat generation during implant site preparation: a review of biologic observations and future considerations. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999; 14:127-36.
257. Thierse HJ, Gamedinger K, Junkes C, Guerreiro N, Weltzien HU. T cell receptor (TCR) interaction with haptens: metal ions as non-classical haptens. *Toxicology.* 2005; 209(2):101-7.
258. Tiwari V, Chopra K. Resveratrol abrogates alcohol-induced cognitive deficits by attenuating oxidative-nitrosative stress and inflammatory cascade in the adult rat brain. *Neurochem Int.* 2013; 62:861-9.
259. Torkmahalleh MA, Yu CH, Lin L, Fan Z, Swift JL, Bonanno L, Rasmussen DH, Holsen TM, Hopke PK. Improved atmospheric sampling of hexavalent chromium. *J Air WasteManag Assoc.* 2013; 63 (11):1313-23.
260. Triaca A, Antonini M, Wintermantel E. A New Titanium Flat Screw Implant for Orthodontic Anchorage in the Anterior Palate. *Information of Orthodontic Orthodontics*, 24 (1992), pp. 251-257.

261. Trisi P, Rao W, Rebaudi A. A histometric comparison of smooth and rough titanium implants in human low-density jawbone. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999; 14:689-98.
262. Tsuji JS, Williams PR, Edwards MR, Allamneni KP, Kelsh MA, Paustenbach DJ, Sheehan PJ. Evaluation of mercury in urine as an indicator of exposure to low levels of mercury vapor. *Environ Health Perspect*. 2003 Apr; 111(4):623-30.
263. Umemori M, Sugawara J, Mitani H, Nagasaka H, Kawamura H. Skeletal anchorage system for open-bite correction. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 1999; 115:166-74.
264. Unalan F, Aykor A, Bilhan H. The Galvanic Between a CoCrMo Alloy, Pure Titanium and Two Different Dental Amalgams with Special Attention on the Area Size. *The Open Corrosion Journal*. 2009; 2(17): 25-17.
265. UNEP (United Nations Environment Programme). Minamata Conventional greed by nations. United Nations Environment Programme. [Http://www.unep.org/newscentre/default.aspx? Document ID= 2702& Article ID=9373](http://www.unep.org/newscentre/default.aspx?DocumentID=2702&ArticleID=9373). Accessed 26 Dec 2013.
266. USEPA (United States Environmental Protection Agency). Mercury study report to the congress, 1997; EPA 452/R-97-0003. Washington: USEPA.
267. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2007; 1: 44–84.
268. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2005; 12(10):1161-208.
269. Vallés G, Gil-Garay E, Munuera L, Vilaboa N. Modulation of the cross-talk between macrophages and osteoblasts by titanium-based particles. *Biomaterials*. 2008; 29(15):2326-35.
270. Varkey M, Shetty R, Hegde A. Mercury exposure levels in children with dental amalgam fillings. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2014; 7:180-5.
271. Verity MA, Brown WJ, Cheung M. Organic mercurial encephalopathy: *in vivo* and *in vitro* effects of methylmercury on synaptosomal respiration. *J. Neurochem*. 1975; 25: 759–766.
272. Vidyasagar L, Apse P. Biological Response to Dental Implant Loading / Overloading. *Implant Overloading: Empiricism or Science? Stomatologija, Baltic Dental and Maxillo facial Journal*. 2003; 5:83-89.
273. Wang S, Liu Y, Fang D, Shi S. The miniature pig: a useful large animal model for dental and orofacial research. *Oral Dis* 2007; 13:530–7.
274. Wang YC, Liou EJ. Comparison of the loading behavior of self-drilling and predrilled miniscrews throughout orthodontic loading. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2008; 133(1): 38–43.
275. Wehrbein H, Glatzmaier J, Mundwiler U, Diedrich P. The Orthosystem – a new implant system for orthodontic anchorage in the palate. *J Orofacial Orthop*. 1996; 57: 142-53.
276. Weingart D, Steinemann S, Schilli W, Strub JR, Hellerich U, Assenmacher J, Simpson J. Titanium deposition in regional lymph nodes after insertion of titanium screw implants in maxillofacial region. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1994; 23:450-2.

277. Woods JS, Heyer NJ, Russo JE, Martin MD, Pillai PB, Farin FM. Modification of neurobehavioral effects of mercury by genetic polymorphisms of metallothionein in children. *Neurotoxicol Teratol.* 2013; 39: 36–44.
278. Yu W, Park HS, Kyung HM, Kwon OW. Dynamic simulation of the self-tapping insertion process of orthodontic microimplants into cortical bone with a 3-dimensional finite element method. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2012 Dec; 142(6):834-41.
279. Zaffe D, Bertoldi C, Consolo U. Element release from titanium devices used in oral and maxillo facial surgery. *Biomaterials.* 2003 Mar; 24(6):1093-9.
280. Zhou B, Zhou B, Chen X, Liao W, Zhou G. Symmetry-dependent spin-charge transport and thermo power through a ZSiNR-based FM/normal/FM junction. *J Phys Condens Matter.* 2015 Oct 28; 27(46):465301.
281. Zwicker JD, Dutton DJ, Emery JC. Longitudinal analysis of the association between removal of dental amalgam, urine mercury and 14 self-reported health symptoms. *Environ Health.* 2014; 18: 13-95.

PAGINAS WEB VISITADAS REALCIONADAS CON ESTA TESIS

<http://www.ada.org/en/about-the-ada/ada-positions-policies-and-statements/revised-classification-system-for-alloys-for-fixed-prostodontics>

http://iaomt.guadmin.com/wp---content/uploads/article_BPA---review.pdf

<http://www.bzaek.de/fileadmin/PDFs/iza/files/assets/common/downloads/page0054.pdf>

<http://www.epa.gov/mercury/dentalamalgam.html>

<http://www.terapianeural.com>

<http://www.fmed.uba.ar/depto/toxico1/mercurio.pdf>

www.InspiraHealth.es

<http://www.mouthhealthy.org/en/az-topics/a/amalgam>

<http://www.uprm.edu/socialsciences/sfaenlinea/id32.htm>

<https://iaomt.org/TestFoundation/amalgremove.htm>

<https://www.tannlegeforeningen.no/profesjon-og-fag/Amalgam-forbudt-fra-2008.aspx>

<http://www.epa.gov/tio/download/remed/542r07003.pdf>

<http://aje.oxfordjournals.org/content/161/8/734.full>

http://www.ada.org/sections/publicResources/pdfs/topics_amalgamwaste.pdf

<http://www.epa.gov/nrmrl/pubs/600r02104/600r02104prel.pdf>

<http://www.newmoa.org/prevention/mercury/imerc/pubs/reports.cfm>

American Dental Association “Best Management Practices for Amalgam Waste,” 2007,

http://www.ada.org/sections/publicResources/pdfs/topics_amalgamwaste.pdf

WHO (World Health Organization). Environmental health criteria 101-methylmercury.
Geneva: WHO; 1990.

WHO (World Health Organization). Environmental Health Criteria 118-Inorganic Mercury.
Geneva: WHO; 1991.

REACH - Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
(http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/reach/index_en.htm).



ANEXOS

9.1 FIGURAS

Figura 1	<i>Variedad de microimplantes. Abso-Anchor Dentos®</i>	21
Figura 2	<i>Método de colocación (Self-tapping Auto-Roscantes)</i>	22
Figura 3	<i>Método de colocación (Self-drilling (Auto-Perforante)</i>	22
Figura 4	<i>Método Abierto</i>	26
Figura 5	<i>Método Cerrado</i>	26
Figura 6	<i>Anclaje Directo</i>	28
Figura 7	<i>Anclaje Indirecto</i>	28
Figura 8	<i>Clasificación Ósea</i>	31
Figura 9	<i>Cono de corte/relleno</i>	44
Figura 10	<i>Teoría del Mecanostato</i>	45
Figura 11	<i>Sistemas antioxidante endógenos en la célula</i>	75
Figura 12	<i>Fuentes Antropogénicas del Mercurio</i>	79
Figura 13	<i>Grupo Dieta Dura (HD) Grupo Dieta Blanda (SD)</i>	94
Figura 14	<i>Material e instrumental quirúrgico</i>	96
Figura 15	<i>Toma de registro del PIT</i>	98
Figura 16	<i>Resultados de metales tóxicos y oligoelementos en pelo.</i>	105
Figura 17	<i>Protocolo de extracción de amalgama.</i>	110
Figura 18	<i>Colocación del dique, gafas y filtro nasal de carbón activo</i>	111
Figura 19	<i>Acto operatorio de la Amalgama dental.</i>	112
Figura 20	<i>Incremento del PIT Total</i>	118
Figura 21	<i>Efectos (SD) - (HD) en el PIT Maxilar</i>	119
Figura 22	<i>Efectos PIT (HD) sobre Maxilar y Mandíbula</i>	120

Figura 23 Efecto PIT (SD) sobre Maxilar y Mandíbula	121
Figura 24 PRT Mandibular (SD) - (HD)	122
Figura 25 PRT lado derecho (SD) -(HD)	123
Figura 26 Análisis BIC Total (SD) -(HD)	125
Figura 27 <i>BIC Right Maxilar y Mandibular (SD) -(HD)</i>	127
Figura 28 <i>Microimplante Grupo de Dieta Blanda</i>	128
Figura 29 <i>Microimplante Grupo Dieta Dura</i>	129
Figura 30 <i>Mercurio Total</i>	130
Figura 31 <i>Niveles incrementados de aluminio (Al)</i>	131
Figura 32 <i>Niveles incrementados de plata (Ag)</i>	132
Figura 33 <i>Niveles incrementados de bario (Ba)</i>	133
Figura 34 <i>Niveles incrementados de la actividad SOD-1</i>	136
Figura 35 <i>Niveles incrementados de Glutati3n reducido (GSH)</i>	137
Figura 36 <i>Niveles incrementados de zinc (Zn)</i>	138

9.2 TABLAS

Tabla 1 <i>Porcentaje del BIC Total</i>	126
Tabla 2 <i>Ausencia de cambios significativos en metales pesados</i>	134

9.3 ABREVIATURAS

ADA: Asociación Dental Americana

Al: Aluminio

ATP: Adenosíntrifosfato

BCP: Porcentaje de integración o ratio de contacto óseo

BIC: Contacto hueso-implante

Bis-DMA: dimetacrilato de bisfenol A

Bis-GMA: bisfenol A-metacrilato de glicidilo

BMPs: Proteínas morfogenéticas óseas

Ba: Bario

CAT: Catalasa

CCRSM: Comité Científico de los Riesgos Sanitarios y Medioambientales

CCSC: Comité Científico sobre Seguridad de los Consumidores

CED: Consejo de Dentistas europeos

COE: Colegio oficial de Odontólogos y estomatólogos de España

Cu: Cobre

ECDC: Centro Europeo para la enfermedad prevención y control de las Enfermedades

ECHA: Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos

EDAR: Planta de Tratamiento de Residuos de Agua

EPA: Agencia de Protección Ambiental de EE.UU.

EUSES: Sistema de la Unión Europea para la Evaluación de Sustancias

FDA: Food and Drug Administration

FDI: Federación dental internacional

G6PDH: Glucosa-6 fosfato deshidrogenada

GPx: Glutación peroxidasa

GRd: Glutación reductasa

GSH: Glutación reducido

GSSG: Glutación oxidado

GST: Glutación S- transferasa

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

Hg: Mercurio

HO: Radical hidroxilo

IAOMT: Academia internacional de toxicología y medio ambiente

IAOMT: International Academy of Oral Medicine and Toxicology

IL-2: Interleuquina 2

IL-6: Interleuquina 6

IMERC: Estados Miembros del Interestatal Mercurio Educación y Reducción de la Cámara de Compensación USA

INC: Comité de Negociación Intergubernamental

MI: Microimplante

MIs: Microimplantes

NO•: Óxido nítrico

O₂^{-•}: Anión superóxido

OH: Radical hidroxilo

OMS: Organización Mundial de la Salud

PEC: Concentración ambiental prevista

PIT: Torque máximo de inserción

Ag: Plata

PNUMA: Consejo de Administración del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente

PRT: Torque máximo de remoción

RNS: Reactivas de Nitrógeno

ROS: Especie reactiva de oxígeno

Sn: Estaño

ST: Self-tapping

SOD: Superóxido Dismutasa

UE: Unión Europea

USEPA: US Environmental Protection Agency

USA: Estados Unidos

Zn: Zinc

9.4 GLOSARIO

Aenor: Agencia española de normalización de materiales.

Anclaje con microimplantes: Resistencia que soporta un microimplante ante una fuerza ortodóncica.

Anclaje dentario: Es la resistencia a un movimiento dental no deseado por el ortodoncista.

Anclaje óseo o esquelético: Resistencia que ofrece el hueso a un movimiento dental no deseado y supone un soporte para realizar el movimiento dental buscado.

Bioacumulación: El término hace referencia a la acumulación neta, con el paso del tiempo, de metales [u otras sustancias persistentes] en un organismo a partir de fuentes tanto bióticas (otros organismos) como abióticas (suelo, aire y agua).

Biocompatibilidad: Propiedad de un material o sustancia de poder implantado en un ser vivo, generalmente en el ser humano, sin producirle efectos indeseables.

Biocompatible: Que es compatible con el organismo humano. Es el material que puede ser utilizado en algún implante o prótesis.

Biomagnificación: Tendencia de algunos productos químicos a acumularse a lo largo de la cadena trófica, exhibiendo concentraciones sucesivamente mayores al ascender el nivel trófico. La concentración del producto en el organismo consumidor es mayor que la concentración del mismo producto en el organismo consumido.

Biomarcadores: Biomarcador o marcador biológico es aquella sustancia utilizada como indicador de un estado biológico. Debe poder medirse objetivamente y ser evaluado como un indicador de un proceso biológico normal, estado patogénico o de respuesta a un tratamiento farmacológico.

Biomonitorizar: La biomonitorización en humanos está definida como la estimación de la exposición a sustancias químicas presentes en el medio ambiente mediante la medida directa de dichas sustancias o de sus derivados en muestras biológicas como sangre, orina, pelo, etc.

Microimplante: *micro* se refiere a un diámetro menor de 1.9mm e *implante* a un objeto extraño que se retiene en el cuerpo humano durante más de un mes.

Osteointegración: Unión mecánica firme, directa, estable y duradera ente un hueso vivo y un biomaterial.

Pasivación: Formación de una película relativamente inerte, sobre la superficie de un material que lo enmascara frente a la acción de agentes externos.

Toxicidad: Es la capacidad de cualquier sustancia química de producir efectos perjudiciales sobre un ser vivo, al entrar en contacto con él.

Xenobióticos: deriva del griego xeno ('extraño') y bio ('vida'). Se aplica a los compuestos cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos sintetizados por el ser humano en el laboratorio. La mayoría han aparecido en el medio ambiente durante los últimos 200 años.

Zeolita: es un mineral volcánico natural, se produce por una reacción química entre las cenizas del volcán y la sal del mar, formando las zeolitas en la lava endurecida.



9.5 PUBLICACIONES RELACIONADAS

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Esta tesis doctoral titulada: *“ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA ESTABILIDAD DE MICROIMPLANTES E INFLUENCIA DE LOS METALES PESADOS SOBRE LOS SISTEMAS ANTIOXIDANTES (SOD-1 Y GLUTATIÓN) EN PORTADORAS DE AMALGAMAS DENTALES: PROTOCOLOS CON FILTROS”* ha recibido colaboración de:

- Clínica **CIROM** (Centro de Implantología y Rehabilitación Oral Multidisciplinaria).
- Empresa **IMPERORTHO S.L.**
- Empresa **Dentos (Korea)**.

PUBLICACIONES RELACIONADAS CON ESTA TESIS DOCTORAL

- 1- **Cabaña-Muñoz ME, Parmigiani-Izquierdo JM, Bravo-González LA, Kyung HM, Merino JJ.** Increased Zn/Glutathione Levels and Higher Superoxide Dismutase-1 Activity as Biomarkers of Oxidative Stress in Women with Long-Term Dental Amalgam Fillings: Correlation between Mercury/Aluminium Levels (in Hair) and Antioxidant Systems in Plasma. *Plos One* 2015; 15; 10(6): e0126339.
- 2- **Cabaña-Muñoz ME, Parmigiani-Izquierdo JM, Parmigiani-Cabaña JM, Merino JJ.** Safe Removal of Amalgam Fillings in Dental Clinic: Use of Synergic Nasal Filters (Active Carbon) and Phytionaturals, *IJSR*. 2015 (4 Issue 3), ISSN (Online) 2015; 2319-7064.
- 3- **Parmigiani-Izquierdo JM., Cabaña-Muñoz ME.** “Peek. Alternativa a aleaciones metálicas en la boca. Odontología sin metal”. *Revista Maxilaris*. Mayo 2015. p. 160-171.
- 4- **Cabaña ME,** Tesina “Metales en ortodoncia y su relación con las amalgamas dentales”. Experto Universitario en Macronutrición y Micronutrición Aplicada a la Salud y Calidad de Vida. Universidad de Almería, 275 horas lectivas, 37 créditos ECTS, del 19 de julio del 2013 al 10 de junio 2014.
- 5- **Cabaña Muñoz ME, Parmigiani Izquierdo JM.** Contribución de los microimplantes a la Ortodoncia. En: Padrós Serrat E. Bases diagnósticas, terapéuticas y posturales del funcionalismo craneofacial. Tomo III. Madrid: editorial Ripano; 2012. p. 2088-99.
- 6- **Cabaña-Muñoz ME, Parmigiani-Izquierdo JM.** Tesina “Ventajas de los microimplantes a la Ortodoncia. Peek, alternativa a metales en boca”. Máster de Terapia Neural y Odontología Neurofocal. EUI Sant Joan de Deu-Universitat de Barcelona, 2012-2014.
- 7- **Cabaña ME, Bravo LA, Parmigiani JM.** Tratamiento de CIII con MIA (anclaje con microimplante). *Ortodoncia Clínica*. 2008; 11(2): 90-97.

