

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Odontología
Departamento de Estomatología III
Máster en Ciencias Odontológicas



EVALUACIÓN DE LA OSTEOINTEGRACIÓN
DE DOS IMPLANTES CON DIFERENTES
SUPERFICIES MEDIANTE
MICROTOMOGRAFÍA COMPUTERIZADA.
UN ESTUDIO EXPERIMENTAL EN PERRO
BEAGLE.

Dario Balestra

Tutor

Bettina Alonso Álvarez



ANEXO I: DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

D./Dña. _____ DARIO BALESTRA _____ con
NIF _____ 1724042AA _____, estudiante de Máster en la Facultad
de ODONTOLOGÍA de la Universidad Complutense de Madrid en el
curso 2016 - 2017, como autor/a del trabajo de fin de máster titulado:

EVALUACIÓN DE LA OSTEointegración DE DOS IMPLANTES CON
DIFERENTES SUPERFICIES MEDIANTE MICROTOMOGRAFÍA
COMPUTERIZADA. UN ESTUDIO EXPERIMENTAL EN PERRO BEAGLE.

y presentado para la obtención del título correspondiente, cuyo/s tutor/ es/son:

BETTINA ALONSO ÁLVAREZ

DECLARO QUE:

El trabajo de fin de máster que presento está elaborado por mí y es original. No copio, ni utilizo ideas, formulaciones, citas integrales e ilustraciones de cualquier obra, artículo, memoria, o documento (en versión impresa o electrónica), sin mencionar de forma clara y estricta su origen, tanto en el cuerpo del texto como en la bibliografía. Así mismo declaro que los datos son veraces y que no he hecho uso de información no autorizada de cualquier fuente escrita de otra persona o de cualquier otra fuente. De igual manera, soy plenamente consciente de que el hecho de no respetar estos extremos es objeto de sanciones universitarias y/o de otro orden.

En Madrid, a 4 de Septiembre de 2017

Fdo.:

Esta DECLARACIÓN debe ser insertada en primera página de todos los trabajos fin de máster conducentes a la obtención del Título.



3. Normativa

Los firmantes del presente compromiso declaran conocer la normativa vigente reguladora para la realización y defensa de los TFM y aceptan las disposiciones contenidas en la misma.

4. Obligaciones del estudiante de Máster

- Elaborar, consensuado con el/los Tutor/es del TFM un cronograma detallado de trabajo que abarque el tiempo total de realización del mismo hasta su lectura.
- Informar regularmente al Tutor/es del TFM de la evolución de su trabajo, los problemas que se le planteen durante su desarrollo y los resultados obtenidos.
- Seguir las indicaciones que, sobre la realización y seguimiento de las actividades formativas y la labor de investigación, le hagan su tutor/es del TFM.
- Velar por el correcto uso de las instalaciones y materiales que se le faciliten por parte de la Universidad Complutense con el objeto de llevar a cabo su actividad de trabajo, estudio e investigación.

5. Obligaciones del tutor/es del TFM

- Supervisar las actividades formativas que desarrolle el estudiante; así como desempeñar todas las funciones que le sean propias, desde el momento de la aceptación de la tutorización hasta su defensa pública.
- Facilitar al estudiante la orientación y el asesoramiento que necesite.

6. Buenas prácticas

El estudiante y el tutor/es del TFM se comprometen a seguir, en todo momento, prácticas de trabajo seguras, conforme a la legislación actual, incluida la adopción de medidas necesarias en materia de salud, seguridad y prevención de riesgos laborales.

También se comprometen a evitar la copia total o parcial no autorizada de una obra ajena presentándola como propia tanto en el TFM como en las obras o los documentos literarios, científicos o artísticos que se generen como resultado del mismo. Para tal, el estudiante firmará la Declaración de No Plagio del ANEXO I, que será incluido como primera página de su TFM.

7. Procedimiento de resolución de conflictos académicos

En el caso de producirse algún conflicto derivado del incumplimiento de alguno de los extremos a los que se extiende el presente compromiso a lo largo del desarrollo de su TFM, incluyéndose la posibilidad de modificación del nombramiento del



tutor/es, la coordinación del máster buscará una solución consensuada que pueda ser aceptada por las partes en conflicto. En ningún caso el estudiante podrá cambiar de Tutor directamente sin informar a su antiguo Tutor y sin solicitarlo oficialmente a la Coordinación del Máster.

En el caso de que el conflicto persista se gestionará según lo previsto en el SGIC de la memoria verificada.

8. Confidencialidad

El estudiante que desarrolla un TFM dentro de un Grupo de Investigación de la Universidad Complutense, o en una investigación propia del Tutor, que tenga ya una trayectoria demostrada, o utilizando datos de una empresa/organismo o entidad ajenos a la Universidad Complutense de Madrid, se compromete a mantener en secreto todos los datos e informaciones de carácter confidencial que el Tutor/es del TFM o de cualquier otro miembro del equipo investigador en que esté integrado le proporcionen así como a emplear la información obtenida, exclusivamente, en la realización de su TFM.

Asimismo, el estudiante no revelará ni transferirá a terceros, ni siquiera en los casos de cambio en la tutela del TFM, información del trabajo, ni materiales producto de la investigación, propia o del grupo, en que haya participado sin haber obtenido, de forma expresa y por escrito, la autorización correspondiente del anterior Tutor del TFM.

9. Propiedad intelectual e industrial

Cuando la aportación pueda ser considerada original o sustancial el estudiante que ha elaborado el TFM será reconocido como cotitular de los derechos de propiedad intelectual o industrial que le pudieran corresponder de acuerdo con la legislación vigente.

10. Periodo de Vigencia

Este compromiso entrará en vigor en el momento de su firma y finalizará por alguno de los siguientes supuestos:


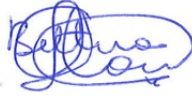
- Cuando el estudiante haya defendido su TFM.
- Cuando el estudiante sea dado de baja en el Máster en el que fue admitido.
- Cuando el estudiante haya presentado renuncia escrita a continuar su TFM.
- En caso de incumplimiento de alguna de las cláusulas previstas en el presente documento o en la normativa reguladora de los Estudios de Posgrado de la Universidad Complutense.

La superación académica por parte del estudiante no supone la pérdida de los derechos y obligaciones intelectuales que marque la Ley de Propiedad Intelectual para ambas partes, por lo que mantendrá los derechos de propiedad intelectual sobre



su trabajo, pero seguirá obligado por el compromiso de confidencialidad respecto a los proyectos e información inédita del tutor.

Firmado en Madrid, a 4 de Septiembre de 20 17

<p>El estudiante de Máster</p> <p>DARIO BALESTRA</p> <p>Fdo.: </p>	<p>El Tutor/es</p> <p>BETTINA ALONSO ÁLVAREZ</p> <p>Fdo.: </p>
---	--

SR. COORDINADOR DEL MÁSTER EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. Facultad de Odontología

**TRABAJO DE FIN DE MÁSTER
VISTO BUENO DEL TUTOR**

MASTER OFICIAL EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

El profesor/a tutor

Nombre y apellidos:	BETTINA ALONSO ÁLVAREZ
---------------------	------------------------

del alumno/a

Nombre y apellidos	DARIO BALESTRA
--------------------	----------------

enunciado en la línea de investigación

EFICACIA DE INTERVENCIONES PARA EL TRATAMIENTO DE GINGIVITIS, PERIODONTITIS Y ENFERMEDADES PERIIMPLANTARIAS.
--

DA EL VISTO BUENO

para que el Trabajo de Fin de Máster titulado

EVALUACIÓN DE LA OSTEOINTEGRACIÓN DE DOS IMPLANTES CON DIFERENTES SUPERFICIES MEDIANTE MICROTOMOGRAFÍA COMPUTERIZADA. UN ESTUDIO EXPERIMENTAL EN PERRO BEAGLE.
--

sea admitido para su defensa ante Tribunal.

En MADRID , a 4 de SEPTIEMBRE de 2017 .

Fdo: el profesor/a

El presente Visto Bueno se debe acompañar del Trabajo de Investigación en formato electrónico y tres copias en papel

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero nombrar al Dr. Mariano Sanz Alonso, por hacer que este estudio sea posible y por haberme dado la posibilidad de formar parte de este gran equipo de investigación.

Asimismo, quiero agradecer a mi tutora, la Dra. Bettina Alonso Álvarez y al Dr. Javier Sanz Esporri su ayuda, tiempo y dedicación con los que siempre me han guiado durante todo mi trabajo, haciendo realidad este estudio.

Quiero nombrar también al Dr. Dino Calzavara por haber confiado en mí y por sus importantes consejos a lo largo de este año, así como todo el grupo de profesores del Máster de Ciencias Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid por haberme transmitido el gran interés por la investigación que ahora tengo.

Por último quiero agradecer a mi familia los esfuerzos realizados, dándome así la posibilidad de seguir formándome y por su apoyo incondicional, a pesar de la distancia, sin el cual no habría sido posible todo esto.

A todos, Gracias.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	19
I. Micro-CT	20
II. Superficies bioactivas en implantología	22
JUSTIFICACIÓN	29
HIPÓTESIS NULA	29
OBJETIVOS	29
MATERIAL Y MÉTODOS	30
I. Muestra	30
II. Diseño experimental	32
III. Análisis de Micro-CT	37
IV. Análisis estadístico	39
RESULTADOS	40
I. Comparación de las medias	42
II. Comparación de las frecuencias	45
DISCUSIÓN	47
CONCLUSIONES	52
BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXOS	58

INTRODUCCIÓN

El periodo de osteointegración de implantes colocados en hueso alveolar ha sido ampliamente estudiado en el modelo experimental perro Beagle, proporcionando una amplia y clara documentación acerca de los eventos y modificaciones que tienen lugar durante la cicatrización de los tejidos blandos y duros alrededor de los implantes dentales (1,2). La modificación de las superficies de los implantes dentales constituye un interesante campo de investigación que tiene como objetivo mejorar la calidad y cantidad de contacto hueso-implante, así como la cicatrización de los tejidos periimplantarios. Por ello, muchos estudios han investigado la influencia de superficies de características diferentes en la osteointegración (3). Recientemente, se ha propuesto un nuevo tratamiento de superficie y ha sido probado in vitro, siendo necesaria su evaluación del proceso de cicatrización de tejidos blandos y duros periimplantarios en un modelo in vivo.

La osteointegración fue definida, por primera vez, como “la conexión directa, estructural y funcional entre el hueso vivo y la superficie de un implante endoóseo cargado funcionalmente” (4); se produce una unión mecánica directa. La osteointegración de los implantes dentales es determinante en la estabilidad implantaria y, por tanto, en el éxito en la rehabilitación implantoprotésica, determinando las características biomecánicas de la superficie hueso-implante y la calidad de la fijación de

dicha superficie. Dada la importancia del proceso de osteointegración tanto en las fases iniciales tras la colocación del implante, como en el postoperatorio tardío para asegurar el éxito del tratamiento implantológico, durante años se han estudiado el desarrollo de métodos cada vez menos invasivos para la valoración de la misma con el fin de aumentar nuestro conocimiento sobre lo que acontece en la interfase hueso-implante sin afectar al proceso en sí mismo, por supuesto, y buscando cada vez una mayor definición en los datos obtenidos (5).

I. Micro - CT

Desde que a principios de los años setenta se desarrollaran las primeras tomografías computerizadas (TC) no ha cesado la evolución de esta técnica de diagnóstico radiológica. Gracias al procesamiento de este tipo de imágenes podemos obtener una reconstrucción tridimensional en la cual podemos diferenciar materiales y tejidos según su densidad.

Posteriormente, a principio de los años ochenta se desarrolló la microtomografía computerizada (micro-TC o μ -TC) gracias a la cual podemos obtener imágenes con una resolución espacial mucho más alta, comparando las imágenes obtenidas por las tomografías computerizadas con 1 mm^3 de volumen de elementos (voxels) con aquellas obtenidas mediante micro-TC en el que el voxel es aproximadamente 1.000.000 de veces menor (6,7).

Mediante el uso de micro-TC, a través del escaneado y reconstrucción de la muestra, análisis microestructural cualitativo y cuantitativo de la misma, podemos estudiar distintas variables relacionadas con la osteointegración de los implantes dentales. La micro-TC se ha utilizado para estudiar las diferencias producidas en la interfase hueso-implante en relación con nuevas técnicas quirúrgicas (8), con la colocación de mini-implantes (9) y para evaluar la pérdida de osteointegración (10,11). Sennerby, Wennerberg y Pasop fueron, en 2001 (12), los primeros que propusieron la técnica radiológica micro-TC para la valoración no invasiva de la estructura ósea alrededor de los implantes dentales. Gracias a ella, obtuvieron imágenes radiográficas de alta resolución en secciones transversales consecutivas de las muestras utilizadas con una distancia de sección a sección de 4,4 a 11 mm. Las imágenes se pudieron importar a un programa de análisis de imagen en el que se realizaron mediciones semiautomáticas cuantitativas del área ósea e imágenes tridimensionales de las muestras. Empiezan a ser varios los estudios en los cuales se emplea la micro-TC para la valoración de la osteointegración de los implantes dentales (8-11) aunque casi la totalidad de ellos estén realizados todavía solamente en modelos animales.

El micro-TC se postula para la valoración de osteointegración no invasiva de los implantes, y para determinar el Functional Apparent Moduli (FAMs) representando las propiedades biomecánicas de los tejidos de sostén que rodean al implante durante el proceso de osteointegración y regeneración ósea.

En general, los parámetros directos de estudio de osteointegración que pueden ser aplicados habitualmente en este tipo de exploración son:

Proporciones de volumen óseo en el volumen total, BV/TV (Ratios of bone volume to total volume), Superficie específica de hueso, BS/BV (Bone specific surface), Densidad de superficie ósea, BS/TV (Bone surface density), Factor de patrón trabecular, Tb.Pf (Trabecular pattern factor), Grado de anisotropía, DA (Degree of anisotropy) e Superficie de intersección, i.S (Intersection surface).

Otros factores descritos son el Contacto hueso-implante, BIC (Bone-implant contact), Fracción de volumen óseo, BVF (Bone volume fraction), Densidad mineral del tejido, TMD (Tissue mineral density), Densidad mineral ósea, BMD (Bone mineral density), Espesor trabecular (Trabecular thickness), Separación trabecular (Trabecular separation), Conectividad ósea (Bone connectivity) y Aposición hueso-implante, BIA (Bone-implant apposition).

II. Superficies bioactivas en implantología

Las investigaciones actuales en implantología van encaminadas a conseguir una rápida integración del implante con el tejido óseo que le rodea. El éxito o fracaso de este proceso depende del comportamiento de la interfase tejido óseo-implante (13). En este proceso participan muchas variables: Tipo de material utilizado, forma, topografía y tipo de superficie sin olvidar cargas mecánicas, técnica quirúrgica y aspectos inherentes a cada paciente que afectan a su metabolismo óseo, sin olvidarnos tampoco de los tejidos blandos, los cuales participan del éxito del implante formando una barrera

alrededor del implante protegiendo la interfase implante-hueso (14). Cuando todo el proceso tiene éxito hablamos de "osteointegración". No existe ningún tipo de movimiento entre el implante y el hueso que le rodea, ósea hay una osteointegración física o mecánica. Esta integración mecánica le da al implante una buena resistencia frente a las fuerzas de tracción, pero una baja resistencia a las fuerzas de tensión, las cuales se producen perpendiculares al hueso que rodea al implante (15).

Hay autores que defienden la presencia de interacciones de tipo químico entre el implante y el hueso que le rodea. Este hecho aparece al aplicar a la superficie del implante materiales reactivos del tipo, fosfato cálcico y flúor, que son capaces de conseguir uniones químicas entre el implante y el hueso que le rodea. Este concepto a dado lugar al término de "óseocoalescencia" como sinónimo de fundirse el implante y el hueso.

Esta forma de integración parece tener una buena resistencia tanto a las fuerzas de tracción, como a las de tensión (15).

El éxito del implante depende del tipo de superficie de éste, y de la respuesta del hueso que lo rodea. De acuerdo a la topología de la superficie, se acepta que tiene un importante papel en la diferenciación osteoblástica y en la mineralización ósea (16). Existen implantes de distintos grados de rugosidad de superficie. Estudios in vitro han demostrado que las células osteoblásticas tienden a actuar mas rápidamente ante superficies más rugosas, hecho que se manifiesta en un aumento de la diferenciación de estas células óseas, un aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina, junto a un aumento en la producción de osteocalcina y de colágeno. Esta respuesta biológica a nivel óseo, esta modulada por diferentes moléculas como son la

Vitamina D3, factores de crecimiento local, TGF-B y la PGE2, (17,18). Así, el TGF-B estimula la replicación de líneas celulares precursoras de osteoblastos y de la síntesis de colágeno a nivel del tejido óseo. La prostaglandina a bajas concentraciones, PGE2, impulsa el crecimiento óseo y la síntesis de colágeno tipo I. A altas concentraciones tiene el efecto contrario. La vitamina D3 promueve la expresión y actividad de la fosfatasa alcalina, junto a un aumento en la producción de colágeno tipo I y de la osteocalcina por las células osteoblásticas (19).

A diferencia de los osteoblastos, los fibroblastos se adhieren mas fácilmente a las superficies de los implantes no rugosos o lisos ofreciendo poca resistencia a la tracción (20).

Características de las superficies de los implantes

Dos tipos de superficies han sido comúnmente relacionadas con la respuesta del entorno óseo, la forma o topografía, ya sea rugosa o lisa, del implante y la otra superficie hace referencia a las propiedades químicas. Si bien es cierto que a veces las modificaciones en la topografía del implante conlleva cambios de tipo químico en la misma superficie (21).

A. **Superficies lisas.** Se obtienen a través de:

- *Electropulido*, "Electropolished". La superficie del implante es tratada electroquímicamente por inmersión en un baño electrolítico a través del cual pasa una corriente eléctrica.
- *Fresado*, "Machined or turned": La superficie sufre un proceso de fresado mecánico que macroscópicamente pule y alisa la superficie (22).

B. Superficies rugosas. Se obtienen:

❖ *Técnica aditiva*

- *Técnica Spray plasma-titanio, "Titanium plasma spray, (TPS)".* En este método se utiliza un gas noble compuesto por iones, electrones y plasma, los cuales son comprimidos a alta temperatura y lanzados a una velocidad de 3.000 m/seg. A través de este método se obtiene una rugosidad de aproximadamente 15 nm.

❖ *Técnica sustractiva*

- *Técnica de Arenado, " Sandblasting".* En esta técnica la superficie del implante es bombardeada con un chorro de aire y agentes abrasivos, arena, a una presión controlada, aumentando de esta manera la superficie de contacto (23).
- *Técnica del grabado ácido y chorreado, "Acid etching and blasting".* En esta técnica, la superficie del implante es bombardeada con gruesas partículas de entre 250-500 nm. Dichas partículas son generalmente de Al₂O₃. Posteriormente, se graba con ácido clorhídrico y con ácido sulfúrico. Este tipo de tratamiento de la superficie parece ser que es en la que mejores resultados de osteointegración se producen (24).
- *Técnica del grabado ácido, "Acid etching".* En este proceso se utilizan soluciones ácidas para tratar las superficies de los implantes a través de erosiones químicas.

De acuerdo a Albrektsson (25) podríamos enfocar a las superficies de los implantes con relación a su calidad, característica o propiedades. En función de ello varían las propiedades mecánicas, topográficas y fisico-químicas.

- Las propiedades mecánicas. Hacen referencia al potencial estrés, fatiga o envejecimiento de la superficie del implante. Esto puede traer como consecuencia la corrosión del implante (26).
- Las propiedades topográficas. Se refiere al grado de rugosidad de la superficie del implante, así a como están orientadas sus irregularidades. Esta propiedad ha sido el centro de todas las investigaciones realizadas durante la última década en relación a superficies de implantes (27).
- Propiedades físicas. Se refieren a la presencia en la superficie del implante de factores tipo energía superficial y carga. Así una superficie con alta energía tiene una alta capacidad de absorción, y por lo tanto el implante tendría, supuestamente, más capacidad de osteointegración, en comparación con implantes de más baja energía (28).
- Propiedades químicas. Este aspecto de las superficies del implante están tomando cada día mas importancia, a través de las múltiples investigaciones que se están realizando. Dependiendo de la composición química, la superficie provoca diferentes reacciones en el hueso que la rodea, con cambio de agua e iones que condicionan la unión de las proteínas y por tanto la reacción celular, las cuales intentan conseguir una unión implante-hueso bioquímica, que permita un buen anclaje del implante.

Una definición de este concepto es la siguiente: "*Es la característica de un implante que le permite formar una unión con los tejidos vivos*" (29). Aunque esta definición no recoge el hecho de que aunque exista un anclaje de tipo químico, también la hay de tipo mecánico, compartiendo ambas propiedades, el éxito del implante. Sin embargo la propiedad bioquímica del implante le permite una unión mucho más rápida.

Actualmente existen dos tipos de implantes dentales con superficies bioactivas comprobadas:

1. *Implantes con fosfato cálcico*. Se basa su actividad en la capacidad de formar apatita impulsando la función celular para conseguir formar una interfase de hueso y carbonato cálcico (30).

2. *Implantes con flúor*. Los resultados obtenidos con este tipo de superficie con flúor parecen demostrar una buena adhesión del hueso en la interfase en comparación con los controles, demostrando una reacción bioactiva de estos implantes (31).

Sin embargo durante estos últimos años, numerosos han sido los autores que se han dedicado al estudio de una nueva superficie bioactiva rica en fosfonatos. empleando diferentes modelos animales.

Estos compuestos orgánicos, tanto si administrados localmente como si liberados en el tiempo, se han demostrado capaces de incrementar la

formación ósea alrededor de los implantes (32-42). Además han demostrado tener otros efectos beneficiosos a corto y largo plazo como la reducción de la resorción ósea periimplante (36), el aumento del contacto hueso-implante (40, 43) el aumento de la resistencia mecánica de la interfaz implante-hueso (44) y el aumento de crecimiento óseo (32,34).

Los implantes empleados en el presente estudio (MIS[®] C1 straight (B+)) pertenecen a este último grupo y presentan en su superficie una capa monomolecular de multi-fosfonatos unida permanentemente a la superficie del Titanio mediante enlaces covalentes con el fin de incrementar su hidrofilia y biomimetismo y favorecer así la posterior osteointegración de los implantes.

Esta innovadora tecnología, llamada SurfLink, sería aplicable a todo tipo de implantes, no solo dentales, tanto en implantes metálicos como cerámicos, permitiendo así unos resultados predecibles también en los casos más difíciles, como en aquellos pacientes con regeneración ósea comprometida y con mal aporte vascular. (45, 46).

Ante la literatura estudiada, se observa que las superficies moderadamente rugosas comparadas con las superficies mas lisas, poseen sin duda ventajas clínicas sobre estas ultimas. Sin embargo, las superficies implantarias bioactivas parecen representar el futuro de la implantología (47).

JUSTIFICACIÓN

Hasta la fecha, se han evaluado diferentes superficies implantarias modificadas, tanto físicamente como químicamente, pero nunca se han estudiado superficies bioactivas ricas en fósforos.

Puesto que la utilización de este concepto conlleva mejoras con respecto al nivel de osteointegración, es necesario estudiar su posible efecto en un modelo experimental animal.

HIPÓTESIS NULA

No existen diferencias en términos de formación de hueso peri-implantario medida a través de microtomografía computerizada entre un implante con superficie bioactiva rica en multi- fosfonatos y un implante con superficie convencional.

OBJETIVOS

El objetivo de este estudio experimental es analizar si dos implantes dentales con el mismo diseño macroscópico, pero con diferente topografía de superficie ofrecen mejoras en la formación de hueso peri-implantario en términos de 360° BIC y BV/TV estudiados mediante microtomografía computerizada.

MATERIAL Y MÉTODOS

I. Muestra

Perros

Se incluyeron cinco machos y tres hembras perro Beagle de 12 meses de edad y peso medio de 14,6 kg (Isoquimen, Barcelona, España).

Los animales se mantuvieron en perreras individuales en un ciclo de luz/oscuridad 12:12, encendiendo las luces a las 07:00 horas, a una temperatura de 21-22°C.

Todos los perros se operaron y hospedaron en el Centro de Cirugía Mínimamente Invasiva Jesús Usón en Cáceres, durante el año 2016. Los procedimientos se llevaron acabo de acuerdo a las normas españolas y de la Unión Europea acerca del uso y cuidado de animales de experimentación.

Veterinarios entrenados y acreditados en experimentación animal se encargaron de monitorizar los perros, diariamente, durante todo el proceso experimental.

Implantes

Se utilizaron un total de 64 implantes de 3,5 mm de diámetro y 9 mm de longitud (MIS® Dental Implant, C1 straight - C1 straight (B+), Israel). Se instalaron 8 por perro, 4 por hemiarcada mandibular, según protocolo.

Para el análisis de torque de remoción (fuera del análisis histológico y radiológico, y por tanto de la muestra perteneciente al presente informe) se

instalaron dos implantes extras por perro (uno por hemiarcada, un Test y un Control), en posición PM2, los cuales fueron extraídos en el momento del sacrificio, motivo por el cuál no entran dentro del análisis del presente informe.

Dispositivos de estudio:

➤ **Implantes “MIS® C1 straight”.** El diseño del implante ha sido modificado para crear una cavidad con forma de U (cámara de cicatrización) de 0,40 mm de profundidad en la región de las espiras (porción intraósea) para el estudio pormenorizado histológico de la formación de hueso peri-implantario. Sin embargo, el extremo de las espiras permanece inalterado (Fig. 1). Por lo tanto, tras la colocación del implante, se creará un área restringida, denominada cámara de cicatrización (“wound chamber”).

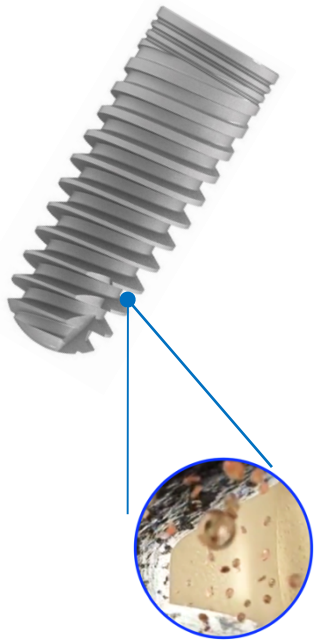


Fig. 1: Diseño del implante "MIS C1 straight".

➤ **Implantes “MIS® C1 straight B+”.** Estos implantes tienen exactamente el mismo diseño macroscópico que los anteriores, sin embargo presentan en su superficie una capa hidrófila de multifosfonatos (SurfLink) imperceptible a simple vista (Fig. 2).



Fig. 2: Detalle de las dos superficies implantarias aparentemente idénticas.

II. Diseño experimental

El estudio es un ensayo preclínico aleatorizado controlado en perros Beagle que evalúa dos periodos de cicatrización: 2 semanas y 8 semanas tras la colocación de los implantes.

El estudio se divide en varias fases (Fig. 3).

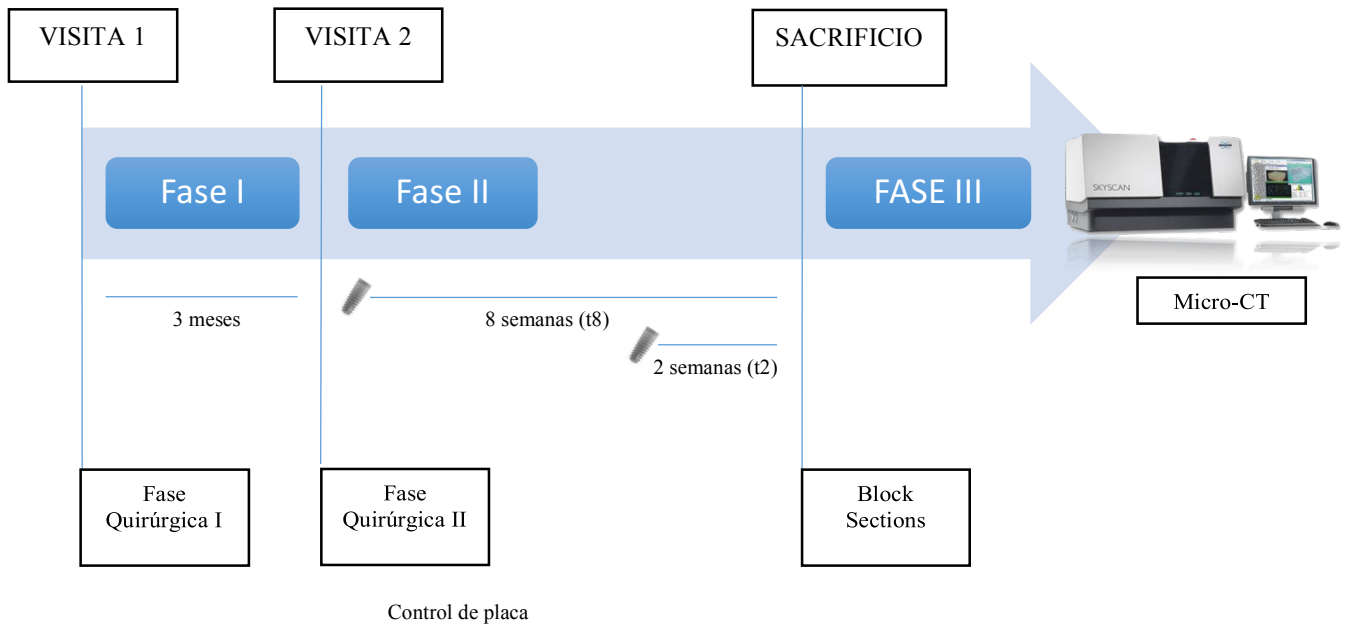


Fig. 3: Diseño del estudio.

Anestesia: Todos los procedimientos realizados en los perros se realizaron bajo anestesia general. Se utilizó un inductor (propofol 2 mg/kg/i.v., Propovet, Abbot Laboratories, Kent, UK) y se mantuvo con isoflurano (concentración de 2,5-4%, Isoba-vet, Schering-Plough, Madrid) empleando intubación endotraqueal. Los animales se premedicaron con azepromacina (0,05 mg/kg/i.m., Calmo Neosan, Pfizer, Madrid) y el control del dolor se realizó mediante la administración de morfina (0,3 mg/kg/i.m., Morfina Braun 2%, B. Braun Medical, Barcelona). Durante la anestesia, un veterinario monitorizó constantemente los animales, mediante electrocardiograma, capnógrafo, pulsioxímetro y presión sanguínea.

1. Fase quirúrgica I: Exodoncias de los premolares mandibulares.

En ambos lados, se realizó la hemisección de los premolares PM 2, PM 3, PM 4 y de la raíz mesial del M1 mediante una fresa de fisura (Fig. 4 y 5) y se extrajeron con la utilización de fórceps sin elevación de un colgajo mucoperióstico. El premolar PM 1 no fue extraído debido a su función de guía en la colocación de los implantes mandibulares, impidiendo así el posible contacto entre un hipotético implante en posición PM1 con la raíz curva hacia distal del canino mandibular.

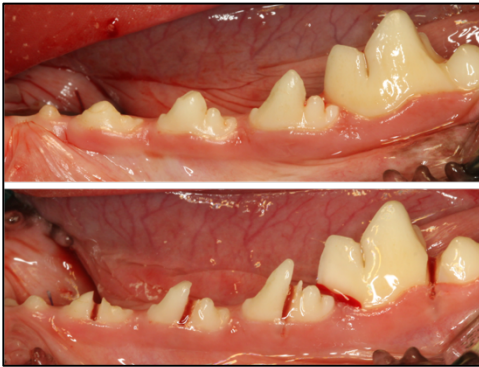


Fig. 4: Exodoncia de PM2, PM3, PM4 y de la raíz mesial de M1. Vista vestibular.



Fig. 5: Exodoncia de PM2, PM3, PM4 y de la raíz mesial de M1. Vista oclusal.

Tras las extracciones, se procedió a esperar un periodo de cicatrización de 3 meses previo a la colocación de los implantes. Durante este periodo los animales fueron incluidos en un programa de control de placa llevado a cabo por personal veterinario del centro que consistía en limpieza de la cavidad oral con gasas empapadas en colutorio de clorhexidina al 0,12% 3 veces a la semana durante las 2 primeras semanas, y después con cepillo de dientes y pasta dentífrica hasta el final del periodo. La dieta a lo largo del estudio consistió en comida de perro troceada con acceso libre a agua.

2. Fase quirúrgica II: Cirugía de colocación de implantes.

Una vez transcurrido el periodo de cicatrización, se procedió a la colocación de 64 implantes de 3,5 mm de diámetro y 9 mm de longitud (MIS® Dental Implant, C1 straight - C1 straight (B+), Israel). Se instalaron 8 por perro, 4 por hemiarcada mandibular. La cirugía de colocación de implantes fue llevada a cabo por tres operadores calibrados (J. N, F.V y M.S.) de acuerdo a las guías de colocación del fabricante.

Previo a la realización de la cirugía se realizó una aleatorización del tipo de implante teniendo en cuenta como factor la hemiarcada del perro.

Una vez anestesiados los animales, se comenzó elevando colgajos a espesor total, tanto vestibular como lingual (Fig. 6), en el lado aleatorizado (derecho o izquierdo) , desde distal del primer premolar hasta distal del primer molar (M1) exponiendo 3mm de cresta ósea alveolar y se procedió al fresado óseo de acuerdo a las normas de colocación de los implantes (Fig. 7).

Tras la realización del segundo código de aleatorización respecto a la posición de cada implante, se procedió a la colocación de todos los implantes (2 Test y 2 Controles por hemiarcada) de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Fig. 8). A continuación, se colocaron los pilares de cicatrización y se procedió a la sutura de los colgajos con el objetivo de permitir una cicatrización transmucosa (Fig. 9).

De acuerdo al diseño experimental, y al calendario de sacrificio, el mismo procedimiento fue llevado a cabo en el lado contralateral mandibular anteriormente no operado, 2 semanas antes del sacrificio.



Fig. 6: Elevación del colgajo mucoperióstico y exposición de la cresta ósea alveolar.

Fig. 7: Fresado y colocación de los implantes.

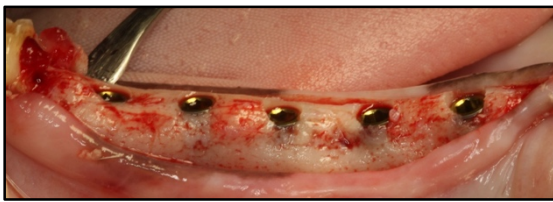
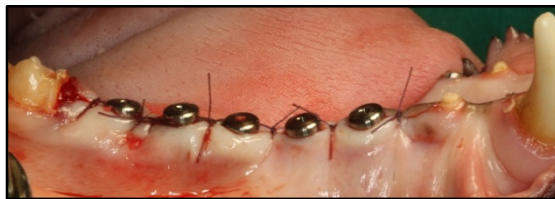


Fig. 8: Implantes colocados.

Fig. 9: Colocación de los pilares de cicatrización y cierre de la herida.



Cuidados Postoperatorios: El control del dolor postoperatorio se realizó mediante la administración de morfina (0,3 mg/kg/i.m.) durante las primeras 24 horas y mediante meloxicam (0,1 mg/kg/p.o. Metacam, Boehringer Ingelheim, Barcelona, España) como analgésico durante los siguientes 3 días. Se administró tratamiento antibiótico durante la primera semana con amoxicilina (22mg/kg/s.i.d./s.c., Amoxoil retard, Syva, León, Spain). Además los animales fueron alimentados con alimentación blanda y sometidos a un régimen de control de placa de 3 días a la semana.

Sacrificio: El sacrificio de los animales será llevado a cabo con una sobredosis de pentotal sódico y perfundidos con solución fijadora (Karnovsky 1965) a través de las arterias carótidas. Las mandíbulas fueron liberadas de su sujeción tisular. Cada mandíbula fue sellada en un contenedor de muestra, previamente etiquetado con el número del animal de estudio al que corresponde con tinta indeleble. Los envases contienen solución fijadora de Karnovsky que contiene formaldehído, glutaraldehído y tampon de cocodilato. Se colocaron los contenedores de muestra en una zona segura que cumpla con las condiciones adecuadas de temperatura (5° C desde el momento de la obtención hasta el envío al laboratorio. Una vez en el laboratorio se procedió a la sección correspondiente de cada implante en bloque (cada bloque contenía el implante correspondiente y tejidos colindantes en un bloque de muestra. Estos bloques fueron analizados con microtomografía computerizada previo a su inclusión en resina y división en secciones de 50 micras para su análisis histológico

III. Análisis de Micro-CT

Las muestras se escanearon utilizando un micro-TC de alta resolución (Skyscan 1172, Bruker microCT NV, Kontig, Bélgica) (Fig. 10). La fuente de rayos X se ajustó a 100Kv y 100 μ A con un tamaño de píxel de 12 μ m y el uso de un filtro de aluminio / cuper (Al / Cu). La muestra se colocó en su apósito sitio y el escaneo se realizó con una rotación de 360 ° con imágenes adquiridas cada 0,4 °.

Después de la exploración, las imágenes se reconstruyeron sobre la base del algoritmo Feldkamp (Feldkamp et al., 1984) utilizando el software NRecon (Bruker microCT NV, Kontig, Bélgica). Las imágenes reconstruidas se evaluaron con el software Data Viewer (Bruker microCT NV, Kontig, Bélgica) y se giraron para asegurar que el implante estuviera perfectamente alineado. Se seleccionó un VDI de 12 mm de longitud en el medio del implante para todas las muestras e incluyendo todo el hueso circundante en las cuatro direcciones (distal, mesial, bucal y lingual).

Una vez que se seleccionaron los VDI, se realizó un análisis de los datos utilizando el software CTAn (Bruker microCT NV, Kontig, Bélgica). En primer lugar se seleccionó un volumen circular de interés (VDI) de 5 mm de diámetro y posteriormente, se segmentaron las imágenes utilizando los mejores parámetros de umbral de detección para el hueso y para el implante (Fig. 11).

Se procedió así al análisis del porcentaje de volumen de hueso (BV/TV) utilizando el método descrito por Bruker (2015), así como del 360° BIC. Estos dos fueron los parámetros elegidos para evaluar el nivel de formación de hueso peri-implantario de ambos tipos de implantes estudiados.

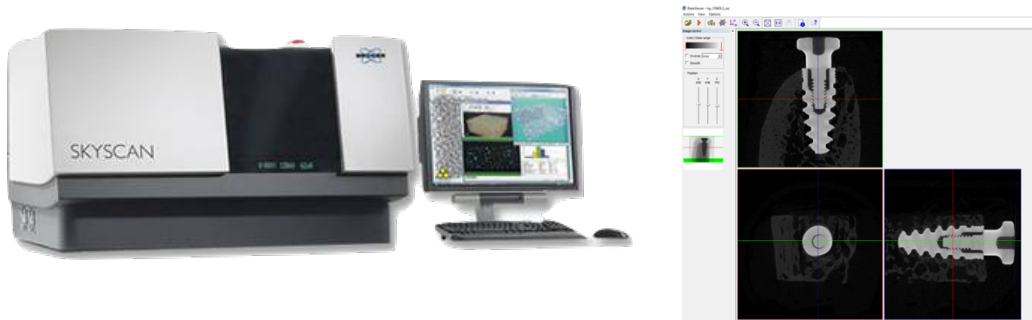


Fig. 10: Aparato de Micro-CT

- **360° Bone Implant Contact (BIC)**: es el porcentaje de contacto directo entre el hueso y la superficie global de cada implante, es decir la cantidad total de hueso nativo o neoformado medido en todo el perímetro de cada implante.

- **Bone volumen fraction (BV/TV)**: el TV es el volumen de tejido o volumen total, es decir todo el volumen ocupado por la región de interés (ROI) analizada, tanto el ocupado por hueso como por los espacios “vacíos”. Dentro de esta ROI, el espacio ocupado por hueso es el denominado BV, volumen de hueso. La relación entre ambos, BV y TV, se conoce como fracción volumétrica ósea o porcentaje de volumen de hueso (BV/TV) y nos indica qué porcentaje del volumen analizado está ocupado por estructuras óseas.



Fig. 11: Ejemplo de análisis 3D de un implante en bloque realizado mediante Micro-CT.

IV. Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo dividiendo la muestra por grupos. Los datos se expresaron en media como medida de tendencia central y desviación estándar como medida de dispersión. Se realizó un test de Saphiro Wilk para evaluar la distribución de las muestras y evaluar si cumplían principios de normalidad. Se utilizó el perro como unidad de análisis. Se realizó un test de análisis de la varianza (ANOVA) con ajuste post hoc de Bonferroni, para determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos (Grupo Test en periodo T2, grupo Control en periodo T2, grupo Test en periodo T8 y grupo Control en periodo T8). Para realizar los análisis estadísticos correspondientes se utilizó el programa IBM SPSS Statistics® (“Statistical Package for the Social Sciences”), versión 20. Se consideró $p < 0,05$ como diferencias estadísticamente significativas.

RESULTADOS

Al comienzo del estudio, los 8 perros Beagle (5 machos y 3 hembras) tenían una edad de 12 meses. El peso medio era de 14,63 kg, oscilando entre un peso mínimo de 11,90 kg y un peso máximo de 18,75 kg (Tabla 1).

PERRO	RAZA	SEXO	PESO	N. IDN.
1	Beagle	Macho	12,90	5963
2	Beagle	Macho	14,55	7902
3	Beagle	Macho	18,75	6386
4	Beagle	Macho	14,35	6926
5	Beagle	Hembra	15,40	6419
6	Beagle	Macho	13,30	7143
7	Beagle	Hembra	15,90	6000
8	Beagle	Hembra	11,90	3935

Tabla 1: Características de los perros antes del periodo de estudio

La totalidad de los perros (8) completaron el periodo de estudio sin complicaciones. Así mismo, no hubo ninguna pérdida de implantes.

Este informe presenta los resultados radiográficos a nivel de los tejidos óseos exclusivamente. A continuación se procede a la explicación detallada de los resultados obtenidos con respecto a dichas variables radiográficas.

TABLAS RESUMEN DE LOS RESULTADOS:

Tabla 2: MEDIAS (DESV.EST)				
Variables de estudio	Grupo <u>TEST</u>		Grupo <u>CONTROL</u>	
	T2	T8	T2	T8
BV/TV (T Vs C), (T2 Vs T8)	45,99 (10,89)	61,47 (12,56)	46,37 (9,10)	58,17 (11,66)
360° BIC (T Vs C), (T2 Vs T8)	53,86 (7,82)	72,88 (8,38)	53,84 (7,03)	70,75 (7,97)

Tabla 3: MEDIAS (DESV.EST)		
Variables de estudio	<u>T2</u> (T + C)	<u>T8</u> (T + C)
BV/TV (T2 Vs T8)	46,18 (9,87)	59,82 (12,04)
360° BIC (T2 Vs T8)	53,85 (7,32)	71,82 (8,12)

Tabla 4: MEDIAS (DESV.EST)				
Variables de estudio	<u>PM2</u>	<u>PM3</u>	<u>PM4</u>	<u>M1</u>
BV/TV (T2 Vs T8)	54,19 (13,03)	51,92 (12,65)	54,36 (14,04)	51,53 (12,87)
360° BIC (T2 Vs T8)	63,30 (11,43)	62,13 (12,02)	64,03 (12,70)	61,87 (12,30)

Tabla 2,3,4: Resumen de las medias y de las desviaciones estándar de todas las variables de estudio en todas las combinaciones analizadas.

BV/TV: Porcentaje de volumen óseo

360° BIC: Porcentaje de contacto global hueso-implante

T: Grupo Test

C: Grupo Control

T2: 2 Semanas

T8: 8 Semanas

PM2: Implante colocado en posición PM2

PM3: Implante colocado en posición PM3

PM4: Implante colocado en posición PM4

M1: Implante colocado en posición M1

I. Comparación de las medias - Resultados Test de Anova y Bonferroni.

En la muestra analizada se pudo apreciar un aumento de las medias de BV/TV y de 360° BIC dentro de cada grupo entre T2 y T8. Entre cada uno de estos periodos las diferencias fueron estadísticamente significativas, es decir, que se encontró un aumento estadísticamente significativo en la formación de hueso peri-implantario entre los tiempos T2 y T8 (Tabla 3)(Fig. 13,14). Sin embargo, al comparar los grupos Test y Control, en cada periodo de estudio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sus medias. No se encontró, por lo tanto, ningún aumento estadísticamente significativo en la formación de hueso peri-implantario entre los grupos Test y Control en cada periodo de estudio (Fig. 12,13).

En el grupo Test, en el periodo T8, se apreció un incremento estadísticamente significativo ($p=0,001$) de las medias de BV/TV (15,47%) y un incremento estadísticamente significativo ($p=0,000$) de 360° BIC (16,89%) con respecto al mismo grupo en T2 (Fig. 12,13).

En el grupo Control, en el periodo T8, se apreció un incremento estadísticamente significativo ($p=0,018$) de las medias de BV/TV (12,17%) y un incremento estadísticamente significativo ($p=0,000$) de 360° BIC (16,89%) con respecto al grupo Test en T2 (Fig. 12,13).

En el grupo Test, en el periodo T8, se apreció un incremento estadísticamente significativo ($p=0,002$) de las medias de BV/TV (15,10%) y un incremento estadísticamente significativo ($p=0,000$) de 360^0 BIC (19,03%) con respecto al grupo Control en T2 (Fig. 12,13).

En el grupo Control, en el periodo T8, se apreció un incremento estadísticamente significativo ($p=0,024$) de las medias de BV/TV (11,80%) y un incremento estadísticamente significativo ($p=0,000$) de 360^0 BIC (16,90%) con respecto al mismo grupo en T2 (Fig. 12,13).

En el grupo Test, en el periodo T2, se apreció un incremento de las medias de BV/TV de tan solo 0,37% no estadísticamente significativo ($p=1,000$) y un incremento de las medias de 360^0 BIC de tan solo 0,014%, no estadísticamente significativo ($p=1,000$), con respecto al grupo Control en el mismo periodo T2 (Fig. 12,13).

En el grupo Test, en el periodo T8, se apreció un incremento de las medias de BV/TV de tan solo 3,29% no estadísticamente significativo ($p=1,000$) y un incremento de las medias de 360^0 BIC de tan solo 2,12%, no estadísticamente significativo ($p=1,000$), con respecto al grupo Control en el mismo periodo T8 (Fig. 12,13).

No se encontraron prácticamente diferencias entre las distintas posiciones de los implantes. Siendo la posición del PM4 la que ligeramente mejores resultados ofrece (Tabla 4).

Resultados Test de Anova y Bonferroni para BV/TV

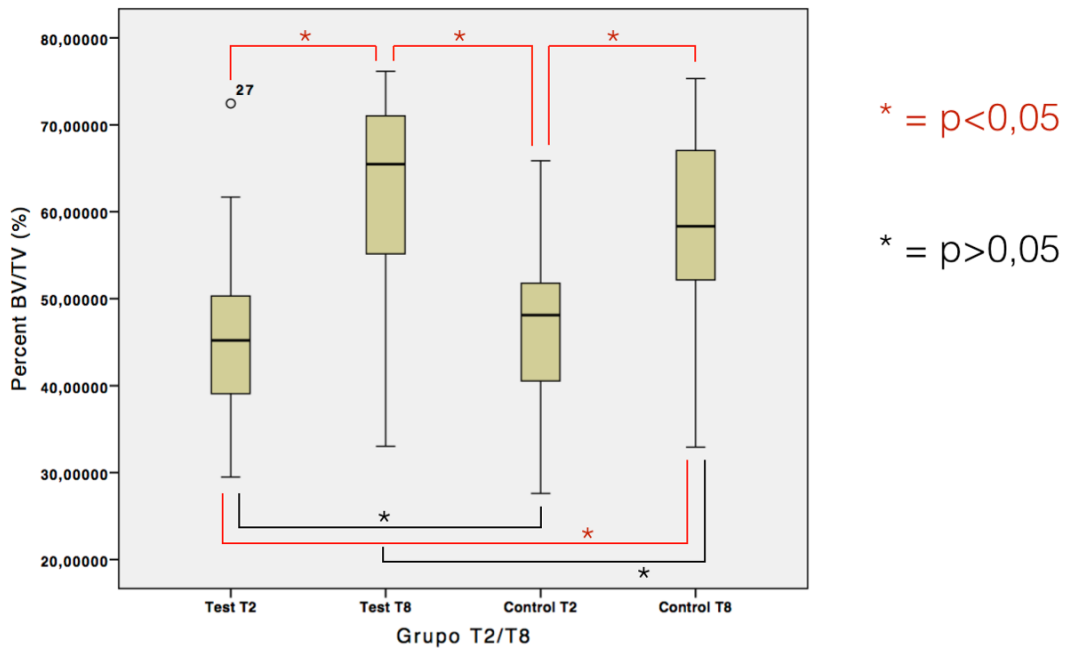


Fig. 12: Diagramas de caja representando las medias de BV/TV de los grupos Test y Control en los dos periodos T2 y T8 y análisis de la significación estadística (p).

Resultados Test de Anova y Bonferroni para 360° BIC

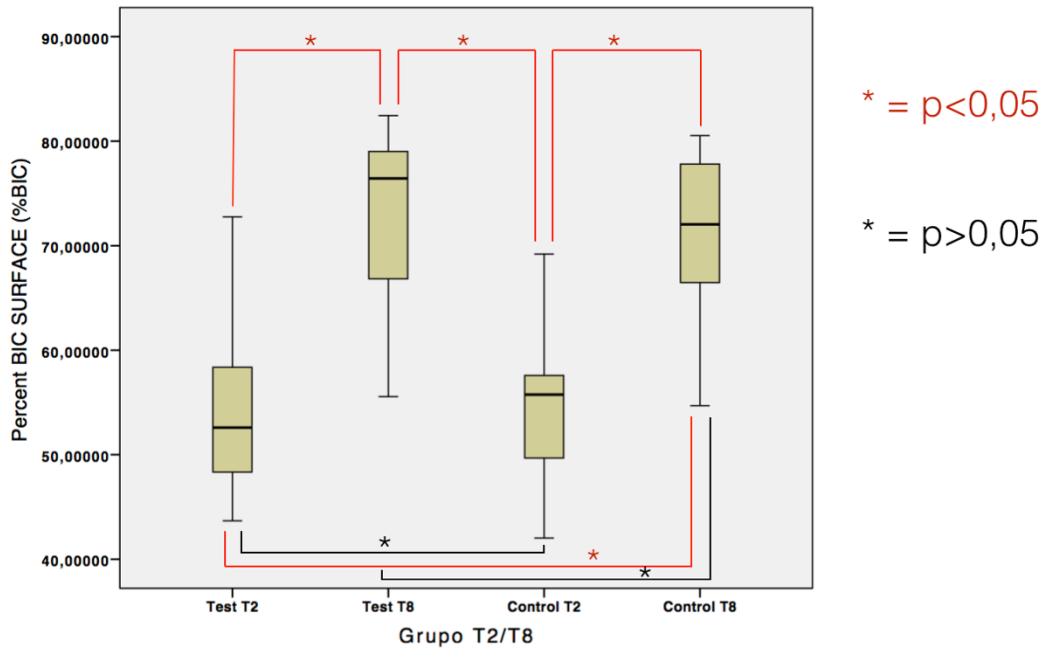


Fig. 13: Diagramas de caja representando las medias de 360° BIC de los grupos Test y Control en los dos periodos T2 y T8 y análisis de la significación estadística (p).

II. Comparación de las frecuencias.

Aunque las medias sean solo ligeramente mayores para el grupo Test respecto al grupo Control, al coger una distribución de frecuencias de los resultados de BV/TV y de 360° BIC obtenidos entre estos dos grupos, se pudo observar como, en el periodo T2, en el grupo Test la frecuencia de resultados entorno al 80% , con un número de frecuencia de 6, fue mucho más frecuente respecto al grupo Control donde los resultados más frecuentes se situaron entorno al 50%, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Exactamente la misma situación se presentó entre los dos grupos de estudio en el periodo T8 (Fig. 14-17).

Grupo Control BV/TV

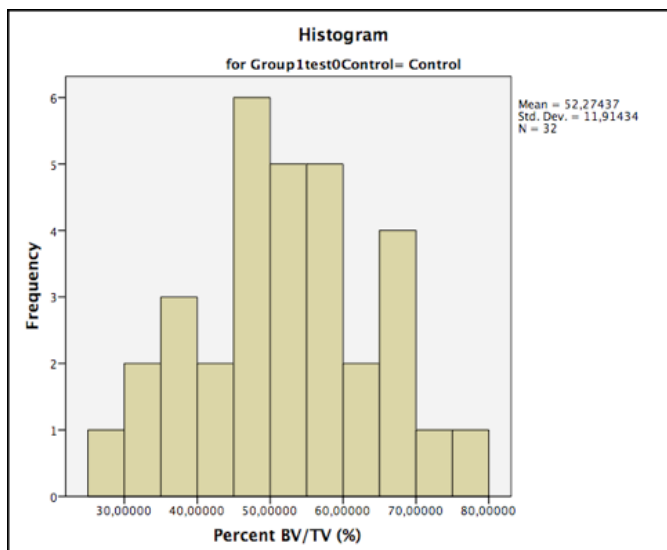


Fig. 14: Diagrama de barras representando las frecuencias de resultados de BV/TV en el grupo Control (T2+ T8)

Grupo Test BV/TV

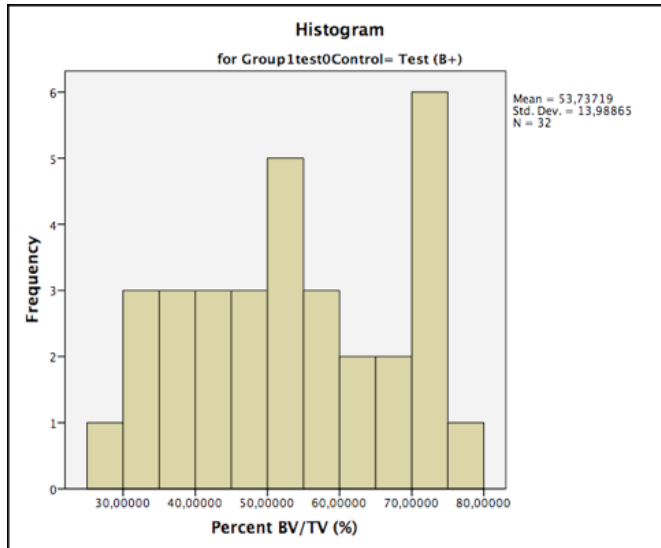


Fig. 15: Diagrama de barras representando las frecuencias de resultados de BV/TV en el grupo Test (T2+ T8)

Grupo Control 360° BIC

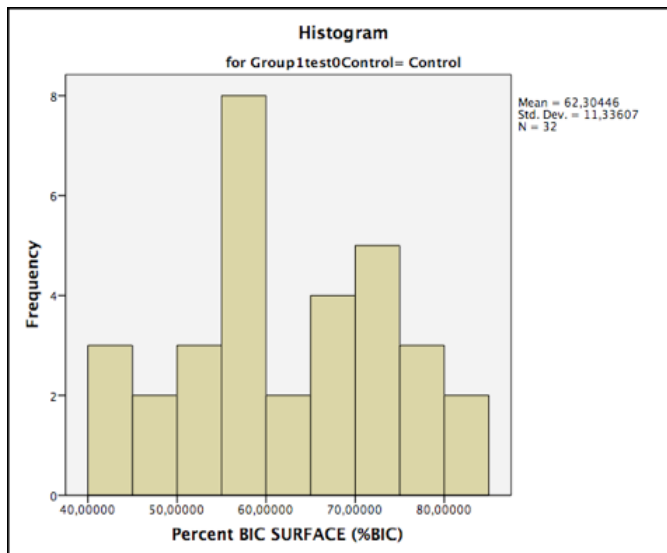


Fig. 16: Diagrama de barras representando las frecuencias de resultados de 360° BIC en el grupo Control (T2+ T8)

Grupo Test 360° BIC

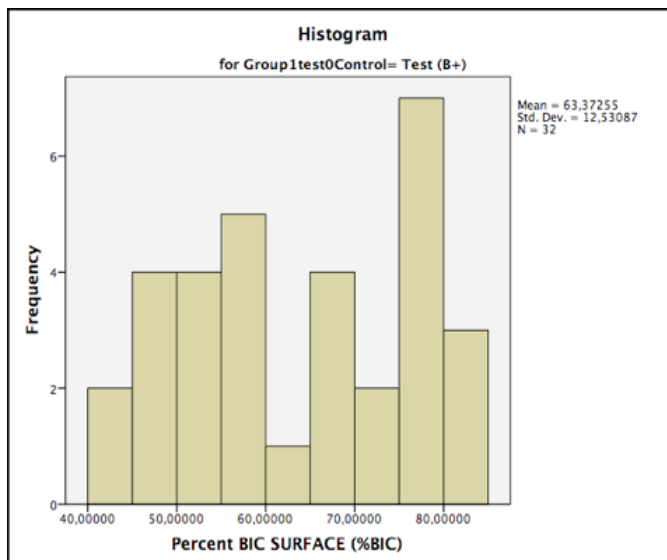


Fig. 17: Diagrama de barras representando las frecuencias de resultados de 360° BIC en el grupo Test (T2+ T8)

DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio en animales, realizado en perros Beagle, fue investigar la presencia de mejoras en la neoformación de hueso peri-implantario, tanto en términos de BV/TV como de 360° BIC estudiados mediante microtomografía computerizada, alrededor de un nuevo prototipo de implante (MIS[®] Dental Implant, C1 straight (B+)) dotado en su superficie de una mono-capa de multi-fosfonatos, SurfLink[®], demostrada estar unida mediante enlaces covalentes a la capa de óxido de la superficie de titanio del implante (48,49).

Tal estructura química hace que el tratamiento sea estable en el tiempo a pesar de los diferentes fenómenos de hidrólisis química y enzimática en el medio, permitiendo así a la capa de multi-fosfanotos quedarse permanentemente unida a la superficie del implante en cualquier condición fisiológica.

Mientras que los implantes convencionales dotados de diferentes grados de rugosidad superficial dependen de la retención mecánica para su estabilidad (50), este tipo de tratamiento de superficie ha sido diseñado para proporcionar una conexión hueso-implante química además que mecánica, más rápida y sobretodo más estable en el tiempo. Para averiguarlo se realizó un estudio preliminar en animales donde se observó un aumento significativo en la fijación temprana de tales implantes medida como el porcentaje de contacto hueso-implante (51) y también los primeros resultados clínicos con implantes dentales tratados con multi-fosfonatos mostraron al acabo de un año unos

resultados excelentes sin ningún fallo de los implantes y preservando los niveles óseos marginales, mientras que los implantes control mostraron una pérdida significativa de estos (46).

Los resultados de la presente investigación mostraron un aumento estadísticamente significativo de las medias de BV/TV y de 360° BIC entre T2 y T8, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de dichas variables entre los grupos Test y Control en cada periodo de estudio. Sin embargo, aunque leve, hubo una mayor frecuencia de resultados positivos a favor del grupo Test (B+) tanto a nivel de BV / TV como de 360° BIC.

Resultados parecidos fueron encontrados por Y. C. Chang y colaboradores (52) en su estudio en el que evaluaron el grado de osteointegración de unos implantes de titanio tratados con plasma luminescente y modificados en su superficie con fibronectina. Los investigadores emplearon el mismo modelo animal y los mismos tiempos de estudio que los empleados por nosotros, además de un tiempo intermedio de 4 semanas y midieron mediante micro-CT los porcentajes de BV/TV en un grupo Test con fibronectina y un grupo Control sin esta. Como en nuestro estudio al analizar los resultados se apreció un aumento estadísticamente significativo de las medias de BV/TV en ambos grupos (Test y Control) a lo largo del tiempo, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre dichos grupos, en cada periodo de estudio. Transcurrido un tiempo de dos semanas los implantes con fibronectina consiguieron un mayor porcentaje de BV/TV respecto a los tratados con multi-fosfonatos

(similares a los utilizados en nuestro estudio), e iguales resultados a las ocho semanas.

Sin embargo, aunque ya este demostrada la efectividad del análisis de micro-CT para mediciones de BV/TV y 360° BIC, debe tenerse en cuenta que estas fueron realizadas con un modelo diferente de micro-CT con ajustes y umbrales de detección diferentes, lo que podría justificar la diferencia de resultados (53). De hecho, las exploraciones con baja resolución en relación con el tamaño trabecular pueden conducir a una sobrestimación de BV (54) y unos cambios en el umbral de detección del 5% pueden llevar a cambios de BV / TV de aproximadamente 8%, demostrando así la sensibilidad que debe tenerse en cuenta a la hora de elegir un umbral (55). De la misma forma pueden verse afectados los valores de 360° BIC (53, 56), así que es prioritario establecer unos parámetros de micro-CT comunes para todas las futuras investigaciones.

Durante estos últimos 5 años ha habido un incremento de las investigaciones sobre multi-fosfonatos a nivel implantar como refleja el estudio de Salis-Soglio y colaroradores (45) en otro modelo animal, los cuales demostraron la capacidad osteoinductiva de estos compuestos orgánicos y su alta tasa de éxito sin ningún efecto adverso en el tiempo. Los autores confrontaron un grupo Control de implantes convencionales de titanio con un grupo Test de implantes dotados de la misma tecnología de superficie "SurfLink", empleada en nuestro estudio. El grado de osteointegración fue medido a través de 360° BIC a las 2, 8 y 52 semanas y los resultados, mostraron un aumento

estadísticamente significativo de los valores de 360^0 BIC en ambos grupos (Test y Control) a lo largo del tiempo. Sin embargo, como en nuestro estudio, a pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas entre dichos grupos en cada periodo de estudio, se apreció una tendencia a mejores resultados de 360^0 BIC en los implantes del grupo Test con superficie bioactiva rica en multi-fosfonatos.

La falta de significación de BV/TV y de 360^0 BIC entre los grupos Test y Control en el presente estudio, como en los demás analizados, puede ser debida a que se trata de un diseño experimental optimizado, sin complicaciones y que el sistema comercial de implantes de titanio utilizado para todos los grupos goza de una alta tasa de éxito clínico (57). Además, al trabajar con una muestra pequeña la cual ha sido reducida ulteriormente por trabajar con diferentes periodos de estudio, ha propiciado que la presencia de unos pocos resultados no muy favorables afectara y empeorara la media, a pesar de una tendencia a mejores resultados para el grupo Test, como se apreció en la distribución por frecuencias.

En esta distribución de frecuencias se observa una frecuencia muy alta de resultados altamente favorables ($>75\%$ BIC) en el grupo Test, siendo además, esta frecuencia de resultados la que más se ha observado en este grupo (Fig 17). Sin embargo, en el grupo Control, el resultado que más frecuentemente se encontró fue de un BIC del 57% (Fig 16).

Por tanto es posible que existan realmente unas mejoras en la neoformación de hueso peri-implantario, tanto en términos de BV/TV como de 360^0 BIC estudiados mediante microtomografía

computerizada como demuestra la mayor frecuencia de resultados positivos para el grupo Test, aunque estas diferencias no tengan una magnitud suficiente como para ser estadísticamente significativas a nivel clínico.

Los resultados del presente informe han de ser tratados con cautela, puesto que existen limitaciones como la naturaleza experimental del estudio y la poca muestra incluida. Estos factores hacen necesario la realización de futuros ensayos clínicos en humanos para determinar la superioridad de la superficie estudiada a nivel experimental.

CONCLUSIONES

- No existen diferencias estadísticamente significativas en términos de formación de hueso peri-implantario (BV/TV y 360° BIC) medida a través de microtomografía computerizada entre un implante con superficie bioactiva rica en multi-fosfonatos y un implante con superficie convencional.
- Existe una tendencia de mayor frecuencia de resultados con BV/TV y 360° BIC mayores del 75% en el grupo Test frente al grupo Control, en el que los resultados más frecuentemente encontrados son del 57%.

BIBLIOGRAFÍA

1. Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, Lindhe J (2003). De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. *Clinical oral implants research* 14(3):251-262.
2. Berglundh T, Abrahamsson I, Welander M, Lang NP, Lindhe J (2007). Morphogenesis of the peri-implant mucosa: an experimental study in dogs. *Clinical oral implants research* 18(1,2):1-8/147-152.
3. Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E, Lang NP, Lindhe J (2004). Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clinical oral implants research* 15(4):381-392.
4. Albrektsson T, Brånemark PL, Hansson HA, Lindströms J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone anchorage in man. *Acta orthopaedica Scans* 1981;52:155-70.
5. Palma-Carrió C, Maestre-Ferrín L, Peñarrocha-Oltra D, Peñarrocha-Diago MA, Peñarrocha-Diago M. Risk factors associated with early failure of dental implants. A literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011 Jul 1;16(4):e514-7.
6. Swain MV, Xue J. State of the art of micro-CT applications in dental research. *International Journal of Oral Science* 2009;1:177-88.
7. Cano J, Campo J, Vaquero JJ, Martínez JM, Bascones A. High resolution image in bone biology I. Review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007 Oct 1;12(6):E454-8.
8. Al-Marshood MM, Junker R, Al-Rasheed A, Al Farraj Aldosari A, Jansen JA, Anil S. Study of the osseointegration of dental implants placed with an adapted surgical technique. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:753-9.
9. Hikedá H, Rossouw E, Campbell PM, Kontogiorgos E, Buschange PH. Three-dimensional analysis of peri-bone-implant contact of rough-surface miniscrew implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011;139:e153-e163.
10. Chang PC, Seol YJ, Kikuchi N, Goldstein SA, Giannobile WV. Functional apparent moduli as predictors of oral implant osseointegration dynamics. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010;94:118-26.

11. Park YS, Yi KY, Lee IS, Jung YC. Correlation between microtomography and histomorphometry for assessment of implant osseointegration. *Clin Oral Impl Res* 2005;16:156–160.
12. Senneby L, Wennerberg A, Pasop F. A new microtomographic technique for non-invasive evaluation of the bone structure around implants. *Clin Oral Implants Res* 2001;12:91-4.
13. Puleo DA, Thomas MV. Implants surfaces. *Dent Clin North Am* 2006;50:323-38.
14. Glauser R, Schupbach P, Gottlow J, et al. Periimplant soft tissue barrier at experimental one-piece mini-implants with different surface topography in humans: a light- microscopic overview and histometric analysis. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005; 7: 44-51.
15. Kasemo B, Gold J. Implant surfaces and interface processes. *Adv Dent Res*. 1999; 13-21.
16. Cooper LF, Masuda T, Whiston SW, Yliheikkila P, Felton DA. Formation of mineralizing osteoblast cultures on machined titanium surface. *Int J Maxillofac Implants*. 1999; 14: 37-34.
17. Boyan BD, Batzer R, Kieswetter K, Liu Y, Cochran DLK, et al. Titanium surfaces roughness alters responsiveness of MG63 osteoblast-like cells to 1 α ,25-(OH)₂ D₃. *J Biomed Mater Res* 1998; 39: 77-85
18. Pappalardo S, Baglio OA, Cappello V, Mortellaro C, Grassi FR. Implant surface and osseointegration. *Minerva Stomatol* 2005; 54: 661-73
19. Kieswetter K, Schwartz Z, Hummert TW, Cochran DL, Simpson J. Surface roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like (MG63) cells. *J Biomed Mater Res* 1996; 32: 55-63
20. Brunski JB, Puleo DA, Nanci A. Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15: 15-46.
21. Szmukler-Moncler S, Salama H, Reingewirtz Y, et al. Timing of loading and effect of micromotion on bone-dental implant interface: review of experimental literature. *J Biomed Mater Res* 1998;43:192-203.
22. Cordioli G, Majzoub Z, Piatrelli A, Scarano A. Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: an experimental study in the rabbit tibia. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000;15:668-74.
23. Piatelli A, Scarano A, Piatelli M, Calabrese L. Direct bone formation on sand-blasted titanium implants: an experimental study. *Biomaterials* 1996;17:1015-8.

24. Buser D, Belser UC, Lang NP. The original one stage dental implant system and its clinical applications. *Periodontol* 200 1998;17:106-18.
25. Albrektsson T. Oral implants surfaces: Part1, review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *Int J Prosthodont* 2004; 17: 536-43.
26. Kohn DH, Ducheyne P. A parametric study of the factors affecting the fatigue strength of porous-coated Ti6Al4V implant alloy. *J Biomed Mater Res* 1990;24:1483-501.
27. Eckert SE, Parein A, Myshin HL, Padilla JL. Validation of dental implant system through a review of literature supplied by system manufactures. *J Prosthet Dent* 1997; 77: 271-9.
28. Baier RE. Surface preparation. *J Oral Implantol* 1986;12: 387-95.
29. Hench LL. Bioactive glasses and glass ceramics : A perspective. In: Yamamuro T, Hench L, Wilson J (eds). *Handbook of Bioactive Ceramics Vol I*. Boca Raton, FL:CRC, 1990:7-23.
30. Jansen JA, Brugge P, Van Der Waal E, Vredenberg A, Wolke J. Osteocapacities of calcium phosphate ceramics. In: Ellingsen JE, Lyngstadaas SP(eds). *Bioimplant Inter- face*. Boca Raton, FL:CRC 2003:305-22.
31. Cardinali DP, Ladizesky MG, Boggio V, Cutrera RA, Mautalen C. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives. *J Pineal Res* 2003;34:81-7.
32. Bobynd JD, McKenzie K, Karabasz D, Krygier JJ, Tanzer M. Locally delivered bisphosphonate for enhancement of bone formation and implant fixation. *J Bone Joint Surg*. 2009;91(suppl 6):23–31.
33. Gao Y, Zou S, Liu X, Bao C, Hu J. The effect of surface immobilized bisphosphonates on the fixation of hydroxyapatite-coated titanium implants in ovariectomized rats. *Biomaterials*. 2009;30:1790–1796.
34. Garbuz DS, Hu Y, Kim WY, Duan K, Masri BA, Oxland TR, Burt H, Wang R, Duncan CP. Enhanced gap filling and osteoconduction associated with alendronate-calcium phosphate-coated porous tantalum. *J Bone Joint Surg Am*. 2008;90:1090–1100.
35. Gedmintas L, Solomon DH, Kim SC. Bisphosphonates and risk of subtrochanteric, femoral shaft, and atypical femur fracture: a systematic review and meta-analysis. *J Bone Miner Res*. 2013;28:1729–1737.
36. Goodship AE, Blunn GW, Green J, Coathup MJ. Prevention of strain-induced osteopenia in aseptic loosening of hip prostheses using perioperative bisphosphonate. *J Orthop Res*. 2008;26:693– 703.

37. Hilding M, Aspenberg P. Local preoperative treatment with a bisphosphonate improves the fixation of total knee prostheses: a randomized, double-blind radiostereometric study of 50 patients. *Acta Orthop*. 2007;78:795–799
38. Kettenberger U, Latypova A, Terrier A, Pioletti DP. Time course of bone screw fixation following a local delivery of Zoledronate in a rat femoral model: a micro-finite element analysis. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2015;45:22–31.
39. Peter B, Pioletti DP, Laib S, Bujoli B, Pilet P, Janvier P, Guicheux J, Zambelli PY, Bouler JM, Gauthier O. Calcium phosphate drug delivery system: influence of local zoledronate release on bone implant osteointegration. *Bone*. 2005;36:52–60.
40. Tanzer M, Karabasz D, Krygier JJ, Cohen R, Bobyn JD. The Otto Aufranc Award: bone augmentation around and within porous implants by local bisphosphonate elution. *Clin Orthop Relat Res*. 2005;441:30–39.
41. 25. 25. Tengvall P, Skoglund B, Askendal A, Aspenberg P. Surface immobilized bisphosphonate improves stainless-steel screw fixation in rats. *Biomaterials*. 2004;25:2133–2138.
42. Zhao J, Tang H, Wang J, Li G. Local treatment of osteoporosis with alendronate-loaded calcium phosphate cement. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127:3906–3914.
43. Yoshinari M, Oda Y, Inoue T, Matsuzaka K, Shimono M. Bone response to calcium phosphate-coated and bisphosphonate-immobilized titanium implants. *Biomaterials*. 2002;23:2879–2885.
44. Jakobsen T, Baas J, Kold S, Bechtold JE, Elmengaard B, Søballe K. Local bisphosphonate treatment increases fixation of hydroxyapatite-coated implants inserted with bone compaction. *J Orthop Res*. 2009;27:189–194.
45. Salis-Soglio von M, Stübinger S, Sidler M, Klein K, Ferguson S, Kämpf K, et al. A Novel Multi-Phosphonate Surface Treatment of Titanium Dental Implants: A Study in Sheep. *JFB. Multidisciplinary Digital Publishing Institute*; 2014 Sep;5(3):135–57.
46. Esposito, M.; Dojcinovic, I.; Germon, L.; Lévy, N.; Curno, R.; Buchini, S.; Péchy, P.; Aronsson, B.-O. Safety and efficacy of a biomimetic monolayer of permanently bound multi-phosphonic acid molecules on dental implants: 1 year post-loading results from a pilot quadruple-blinded randomised controlled trial. *Eur. J. Oral Implantol*. **2013**, *6*, 227–236.
47. Jokstad A, Brägger U, Brunski J, Carr AB, Naert I, Wennerberg A. Quality of dental implants. *Int Dent J*. 2003; 53: 409-43.

48. Viornerly, C.; Chevolut, Y.; Léonard, D.; Aronsson, B.-O.; Péchy, P.; Mathieu, H.J.; Descouts, P.; Grätzel, M. Surface modification of titanium with phosphonic acid to improve bone bonding: Characterization by XPS and ToF-SIMS. *Langmuir* **2002**, *18*, 2582–2589.
49. Viornerly, C.; Guenther, H.L.; Aronsson, B.-O.; Péchy, P.; Descouts, P.; Grätzel, M. Osteoblast culture on polished titanium disks modified with phosphonic acids. *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, *62*, 149–155.
50. Terheyden, H.; Lang, N.P.; Bierbaum, S.; Stadlinger, B. Osseointegration–communication of cells. *Clin. Oral Implants Res.* **2012**, *23*, 1127–1135.
51. Dayer, R.; Rizzoli, R.; Péchy, P.; Vig, T.; Aronsson, B.-O.; Descouts, P.; Ammann, P. Chemical modification of smooth titanium implant surface by coating with propylene-tetra-phosphonic acid increases their osseointegration. *Bone* **2005**, *36*, doi:10.1016/j.bone.2005.04.001.
52. Chang Y-C, Ho K-N, Feng S-W, Huang H-M, Chang C-H, Lin C-T, et al. Research Article Fibronectin-Grafted Titanium Dental Implants: An In Vivo Study. BioMed Research International. Hindawi Publishing Corporation; 2016 Jun 6;:1–11.
53. Bissinger O, Probst FA, Wolff K-D, Jeschke A, Weitz J, Deppe H, et al. Comparative 3D micro-CT and 2D histomorphometry analysis of dental implant osseointegration in the maxilla of minipigs. *J Clin Periodontol.* 2017 Feb 27;44(4):418–27.
54. Bauer, J. S., Sidorenko, I., Mueller, D., Baum, T., Issever, A. S., Eckstein, F., Rummeny, E. J., Link, T. M. & Raeth, C. W. (2014) Prediction of bone strength by muCT and MDCT- based finite-element-models: how much spatial resolution is needed? *European Journal of Radiology* 83, e36–e42.
55. Giesen, E. B. & Van Eijden, T. M. (2000) The three-dimensional cancellous bone architecture of the human mandibular condyle. *Journal of Dental Research* 79, 957–963
56. Song JW, Cha JY, Bechtold TE, Park YC. Influence of peri-implant artifacts on bone morphometric analysis with micro-computed tomography. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2013 Mar;28(2):519–25.
57. Gholami, H.; Mericske-Stern, R.; Kessler-Liechti, G.; Katsoulis, J. Radiographic bone level changes of implant-supported restorations in edentulous and partially dentate patients: 5-year results. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **2014**, *29*, 898–904.

ANEXOS

TABLAS ALEATORIZACIÓN T8-T2:

T8 Both Sides

	1		2		3		4		5		6		7		8	
Dog	R	L	L	R	R	L	L	R	R	L	L	R	R	L	L	R
	T2	T8	T2	T8	T2	T8	T2	T8	T2	T8	T2	T8	T2	T8	T2	T8
PM2		C		T		T		C		C		T		T		C
PM3		T		C		C		T		T		C		C		T
PM4		C		T		T		C		C		T		T		C
MI		T		C		C		T		T		C		C		T
Extra		C		T		T		C		C		T		T		C

T2 Both Sides

	1		2		3		4		5		6		7		8	
Dog	R	L	L	R	R	L	L	R	R	L	L	R	R	L	L	R
	T2	T8	T2	T8	T2	T8	T2	T8	T2	T8	T2	T8	T2	T8	T2	T8
PM2	T		C		C		T		T		C		C		T	
PM3	C		T		T		C		C		T		T		C	
PM4	T		C		C		T		T		C		C		T	
MI	C		T		T		C		C		T		T		C	
Extra	T		C		C		T		T		C		C		T	

ARF (Animal Record Form) - IMPLANTES:

De novo bone formation around implants with different surface characteristics. An experimental study in the beagle dog

Date of Procedure Dog n° dog num _____
 DD MM YY

Surgeon _____

H Inicio:

H Fin:

LEFT	RIGHT
Date:	Date:

	2Pd	3P	4P	1Md	Extra	P2d	P3	P4	M1d	Extra
Gap.Depth (mm)										
G.WIDTH (mm)										
S-Lwall (vert) (mm)										
Crestal width (mm)										
Vest wall width (mm)										
REC (mm)										
IMPLANT										
ABUTMENT										
TORQUE										