



“Valoración mecánica, histológica e histomorfométrica de implantes dentales de Zirconia modificados por láser de femtosegundo vs implantes de Titanio en hueso cicatrizado. Estudio experimental en perros American Fox Hound a tres meses”

Carlos Pérez-Albacete Martínez

2012.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos, en primer lugar a las personas que me han guiado y ayudado en la realización de este trabajo, mis directores de este trabajo:

Al Prof. Jose Luis Calvo Guirado, por darme la oportunidad de conocer esta parte tan bonita de la Odontología, por guiarme y transmitirme la motivación y los conocimientos necesarios para seguir aprendiendo cada día más. Sin su ayuda y apoyo no habría sido posible la realización de este trabajo.

Al Prof. Rafael Arcesio Delgado Ruiz, por guiarme y ayudarme en la resolución de mis dudas. Por transmitirme también la energía e ilusión por la investigación y ser un excelente director en la realización de este trabajo.

Al Prof. José Maté Sánchez De Val, por tener siempre la puerta abierta para resolver dudas y guiarme en el desarrollo de este trabajo.

En segundo lugar, me gustaría agradecer a la Dra. Piedad Ramírez y, en general a todos los compañeros del grupo de investigación el ambiente y la ilusión que transmiten por aprender cada día más. Creo que es un gran grupo de investigación, más allá de por los conocimientos técnicos, por el buen ambiente y amistad hay dentro del grupo. En especial, me gustaría agradecer a mis compañeros Antonio Aguilar y María Ramos su apoyo y colaboración.

Al Dr. Daniel Rothamel, por su indispensable colaboración en la preparación y análisis histológico.

También me gustaría expresar mis profundos agradecimientos a nivel personal:

A mis padres, M^a ángeles y Ceferino, por su apoyo incondicional y por educarme en unos valores de respeto y esfuerzo para poder crecer cada día más.

A mis hermanos, M^a ángeles y Ceferino.

A mis amigos, Nando, Javi, Jesús, Quique, Rafa, etc. por su amistad y apoyo.

Por último, me gustaría agradecer a la compañía Bredent la aportación de los materiales necesarios para la realización de este trabajo.

INDICE

Abreviaturas	6-8
1. Introducción	9-11
2. Antecedentes y justificación	12-34
2.1. Generalidades	13-14
2.2. Estabilidad primaria	14-17
2.3. Contacto Hueso-implante	17-21
2.4. Nivel de hueso marginal	21-24
2.5. Las cerámicas en implantología	24-25
2.6. Implantes de Zirconia	25-34
2.6.1. Detalles de la Zirconia	26-28
2.6.2. Biocompatibilidad de la Zirconia	28-29
2.6.3. Zirconia como biomaterial	29-30
2.6.4. Métodos de texturización de la superficie de implantes	30-31
2.6.5. Microtexturización por láser de los implantes de Zirconia	31-34
3. Objetivos	35-36
4. Materiales y métodos	37-75
4.1. Materiales	38-47
4.1.1. Animales de experimentación	38
4.1.2. Implantes de Titanio	39
4.1.3. Implantes de Zirconia	39-40
4.1.4. Texturizado de los implantes mediante láser de Femtosegundo	40-44
4.1.5. Periotest®	45-46
4.1.6. Microscopio electrónico de Barrido	46-47
4.1.7. Microscopio óptico	47
4.2. Métodos	48-75
4.2.1. Tipo de estudio	48
4.2.2. Diseño del estudio	48-49
4.2.3. Método para la texturización del implante de Zirconia mediante láser de Femtosegundo	49
4.2.4. Método para la realización de los surcos	50-51
4.2.5. Procedimiento quirúrgico	51-63
4.2.5.1. Primera fase: Exodoncias	51-55
4.2.5.2. Segunda fase: Procedimiento de inserción de los implantes	56-62
4.2.5.3. Tercera fase: Sacrificio y recogida de muestras	63
4.2.6. Método de preparación histológica	63-64

4.2.7. Método de análisis de la estabilidad primaria inicial y secundaria de los implantes	64-65
4.2.8. Método para la cuantificación de elementos en los implantes de Titanio y Dióxido de Zirconio modificados, en la interfaz hueso-implante	65-72
4.2.9. Método de análisis cuantitativo del contacto hueso-implante	73
4.2.10. Método de análisis cuantitativo de la reabsorción ósea crestal	74
4.2.11. Método de análisis estadístico	75
5. Resultados	76-95
5.1. Análisis estadístico	77-95
5.1.1. Análisis de la estabilidad primaria	77-81
5.1.1.1. Estabilidad primaria inicial	77
5.1.1.2. Estabilidad secundaria en 1 y 3 meses	77-80
5.1.1.3. Comparaciones múltiples de la estabilidad primaria inicial y secundaria. Test de Bonferroni	80-81
5.1.2. Análisis de elementos mediante Espectrometría Dispersiva de Rayos X (EDX) en la interfaz hueso-implante	81-87
5.1.2.1. Estadística descriptiva	81-85
5.1.2.2. Comparaciones múltiples del análisis de elementos químicos. Test de Bonferroni	86-87
5.1.3. Contacto hueso-implante	87-91
5.1.3.1. Estadística descriptiva	87-88
5.1.3.2. ANOVA y test de comparaciones múltiples Bonferroni y Post-Hoc para el contacto hueso-implante	89-91
5.1.4. Nivel de hueso crestal peri-implantario	91-95
5.1.4.1. Estadística descriptiva	91-93
5.1.4.2. ANOVA y test de comparaciones múltiples Bonferroni para la variable pérdida de hueso crestal	93-95
6. Discusión	96-110
6.1. Estabilidad primaria	97-100
6.2. Contacto hueso-implante	100-107
6.3. Pérdida ósea peri-implantaria	107-110
7. Conclusiones	111-112
8. Bibliografía	113-127
ANEXO I	128
Background	129-137

ABREVIATURAS

Al	Aluminio
Al₂O₃	Alúmina/óxido de aluminio
BIC	Bone to Implant Contact
C	Carbono
Ca	Calcio
CBL	Crestal Bone Level/ Nivel hueso crestal
Ce	Cerio
CHI	Contacto Hueso Implante
cm	Centímetro
cols	Colaboradores
CPA	Chirped Pulse Amplification
Cr-Co	Cromo-Cobalto
fs	Femtosegundo (1fs=10⁻¹⁵s)
G/cm	Gramos/centímetro
G/cm³	Gramos/centímetros cúbicos
GPa	Gigapascal
IL	longitud de implante
ISQ	coeficiente de estabilidad de los implantes
KHz	Kilohercio
KIC	medida según el factor crítico de intensidad de tensión
Kv	Kilovoltio
MEB	Microscopio electrónico de Barrido
Mg	Magnesio
mg	miligramos
mg/Kg	miligramos/Kilogramos
mg/Kg/minutos	miligramos/Kilogramos/minutos

MHz	Megahercio
mJ	milijulio
mm	milímetros
Mpa	Megapascal
M₁	Primer molar
M₂	Segundo molar
M₃	Tercer molar
N	newton
Ncm	newton-centímetro
N/cm²	newton/centímetro cuadrado
nm	nanómetro
O	Oxígeno
P	Fósforo
PTV	Periotest[®] value /valor de Periotest[®]
P₂	Segundo premolar
P₃	Tercer premolar
P₄	Cuarto premolar
Ra:	Media aritmética de la rugosidad
RFA	Análisis de Frecuencia de Resonancia
Rq:	Media aritmética de la rugosidad al cuadrado
Rt:	Media de las alturas de los picos y las profundidades máximas
Rz:	Media aritmética de la profundidad de la rugosidad
s	Segundos
SLA	arenado y grabado ácido
SLA-Ti	Titanio con superficie modificada mediante grabado ácido y arenado
SD	Standard Desviation
Ti	Titanio

μm	micrómetro
$\mu\text{m/s}$	micrómetro/segundo
\bar{X}	Media aritmética
Y	Ytrio
Y-TZP	Policristales de Zirconio Tetragonal parcialmente estabilizado con Itrio
Zr	Zirconio
ZrO ₂	Dióxido de Zirconio
°C	Grados centígrados
°/s	Grados/segundo
3D	Tres dimensiones

1.INTRODUCCIÓN

A pesar del extendido uso a nivel mundial y de la demostrada fiabilidad a largo plazo de los implantes dentales de Titanio, **(Albrektsson T y cols. 2008; Dierens M y cols. 2011; Malo P y cols. 2011; Jacobs R y cols.2010)**, existen descritos en la literatura algunos inconvenientes con respecto a estos, tanto a corto como a largo plazo, como son la sensibilidad al titanio y la posibilidad de producir reacciones de tipo alérgico **(Javed F y cols. 2011; Siddiqi A y cols. 2011; Sicilia A y cols. 2008)**, la aparición de la retracción gingival o la translucidez gingival en biotipos finos, pueden dejar el color oscuro o grisáceo del titanio expuesto a la vista en la zona estética del maxilar superior con el consiguiente defecto estético **(Kan JY y cols. 2011; Nisapakultorn K y cols. 2010; Verdugo F y cols. 2009)**.

Por todo ello, en los últimos años se ha sugerido la utilización de implantes dentales de Zirconia, como una alternativa a los implantes de Titanio debido a ciertas propiedades como son: excelente respuesta ósea, presentar mínima inflamación adyacente a su superficie, ser biocompatible, poseer excelentes propiedades ópticas y estéticas, menor adherencia de bacterias y patógenos, resistencia a la fractura elevada y una gran resistencia a la compresión **(Sennerby L y cols. 2005; Depprich R y cols. 2008; Manicone PF y cols. 2007; Hisbergues M y cols. 2009; Kohal RJ y cols. 2004; Quan R y cols. 2008; Scarano A y cols. 2004; Deville S y cols. 2006; Andreiotelli M y cols. 2009)**.

Las propiedades superficiales del dióxido de Zirconio impiden realizar con los mismos resultados los tratamientos químicos y físicos de superficie que se realizan en los implantes de Titanio, pues el dióxido de Zirconio es resistente a los tratamientos químicos especialmente al ataque ácido, muy utilizado en los implantes de Titanio **(Al-Hamdan K y cols. 2011)**.

Los sistemas de implantes de Zirconia disponibles son sometidos a técnicas físicas de arenado superficial. Las diferentes técnicas físicas de microtexturización que actualmente se aplican

sobre los implantes dentales resultan en unas geometrías y valores de rugosidad superficial aleatorios a nivel nanométrico y micrométrico de diferentes grados y son procesos no limpios (**Sammons RL y col. 2005**), su reproductibilidad es discutible al no poder controlar el resultado final del proceso (**ter Brugge PJ y cols. 2002**), y en ocasiones requieren de condiciones especiales de vacío y materiales conductivos. Una técnica prometedora en la que se obtiene un control preciso de la textura deseada en casos de superficies de forma compleja, que no necesita contacto para su realización, que no presenta contaminación y es un proceso rápido y limpio, es el microtexturizado por láser (**Delgado-Ruiz RA y cols. 2011**).

Desde el desarrollo de los primeros láseres en la década de los 60 hasta hoy, esta tecnología ha evolucionado de forma meteórica así como los campos en los que esta herramienta ha encontrado aplicación. En los últimos años, una de las líneas de desarrollo ha sido la producción de fuentes de láser pulsada de alta intensidad, en particular fuentes que producen pulsos extremadamente cortos, por debajo del picosegundo. Estos pulsos láser, amplificados hasta alcanzar energías del orden del milijulio (mJ) y focalizados convenientemente sobre la superficie de los materiales, permiten la ablación de la superficie con extremada precisión y reproductibilidad, lo que produce daños colaterales en el material adyacente incomparablemente más leves que con cualquier otra fuente térmica, proceso químico o mecánico. Las ventajas más importantes que presenta este láser aplicado a los implantes de Zirconia, que fueron descritas por **Vorobyev AY y cols. 2006**, son:

- Es un proceso limpio sin residuos post-procesado y es reproducible.
- Produce un mínimo daño térmico sobre la superficie del material.
- Se puede aplicar sobre cualquier superficie.
- No necesita ningún medio especial para su aplicación.
- Se obtiene precisión dimensional y calidad geométrica.

2.ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

2.1 Generalidades

La respuesta biológica del organismo frente a los implantes dentales depende de varios factores con respecto a la superficie de los mismos, además de otros factores como la técnica quirúrgica, aspectos inherentes al huésped o las cargas mecánicas. Entre los factores relativos a los implantes, se incluyen las propiedades mecánicas de los materiales así como sus propiedades físico-químicas (forma, composición química, humectabilidad y topografía de la superficie) (Al-Radha AS y cols. 2012). Cuando todo el proceso tiene éxito hablamos de oseointegración, que podemos definir como “el contacto directo entre hueso e implante (BIC) sin ningún tejido conectivo que se interponga en medio de ese contacto” (Figura.1). Este concepto es un prerequisite indispensable para asegurar el éxito a largo plazo de los implantes dentales (Orsini E y cols. 2009; Nkenke E y cols. 2003; Pak HS y cols. 2010).

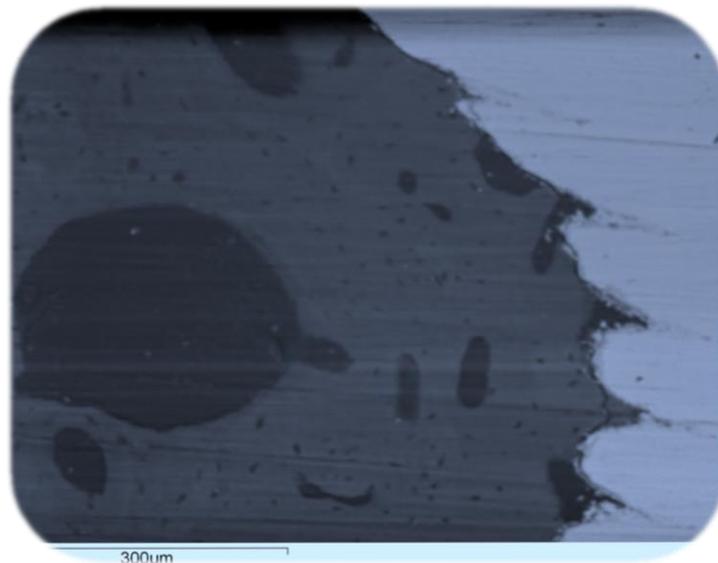


Figura.1. Imagen de microscopio electrónico de barrido x150. Se aprecia el contacto hueso-implante en el cuerpo de un implante de Zirconia modificado con microsurcos.

Para obtener dicha oseointegración, es indispensable obtener una adecuada estabilidad primaria del implante a la hora de su colocación, evitando de este modo la presencia de micromovimientos que afecten a todo el proceso de oseointegración posterior **(Yoon HG y cols. 2011)**.

2.2 Estabilidad primaria

La estabilidad primaria de los implantes dentales, definida como la ausencia de movilidad del implante en el lecho implantario inmediatamente posterior a su colocación, es uno de los factores más importantes para conseguir una adecuada oseointegración y asegurar su posterior función **(Javed F y cols. 2010)**. El concepto es el mismo que se aplica para la reducción de la fractura de los huesos largos; es decir, no debe haber absolutamente ningún movimiento entre los fragmentos cuando los extremos de un hueso largo fracturado se reducen para asegurar una adecuada curación **(Perren SM 2002)**. Esto es porque incluso los movimientos en el rango micrométrico pueden inducir un estrés o deformación que puede dificultar la formación de nuevas células en el defecto **(Terheyden H y cols. 2011)**. Correlacionando esto con la oseointegración de los implantes, micromovimientos superiores a 100µm pueden influir negativamente en la oseointegración y la remodelación ósea, provocando la formación de tejido fibroso en la interfase hueso-implante, e incluso inducir con ello la reabsorción ósea **(Javed F y cols. 2010; Pieri F y cols. 2009; Nedir R y cols. 2004)**. En la actualidad existen dos métodos para valorar la estabilidad primaria de los implantes, el análisis de frecuencia de resonancia (RFA) y el sistema Periotest® **(Figura 2)**.



Figura 2. Medición de la estabilidad primaria con el sistema Periotest®.

Utilizando el primero de ellos (RFA), se obtiene un valor llamado coeficiente de estabilidad de los implantes (ISQ). El valor del ISQ puede variar en un rango de 1 hasta un valor máximo de 100 y es directamente proporcional a la mayor o menor estabilidad primaria de los implantes **(Yoon HG y cols. 2011; Javed F y cols. 2010; Perren SM. 2002; Nedir R y cols. 2004; Kim NS y cols. 2009; Huang HM y cols. 2003; Zix J y cols. 2008; Sjöström M y cols. 2005).**

Por otro lado, mediante el segundo de los métodos mencionados (Periotest®), se obtienen unos valores, expresado como PTV (Periotest® values), que varían desde -8 a +50 para analizar la mayor o menor estabilidad de los implantes. A diferencia del método RFA, cuanto más negativos son los valores obtenidos, mayor es la estabilidad primaria de los implantes **(Javed F y cols. 2010; Kim NS y cols. 2009; Romanos GE y cols. 2005).**

Dilek O y cols; en 2008, estudiaron la estabilidad primaria inicial de mini-implantes en tibias de fémur de origen bovino estableciendo un rango adecuado de valores de Periotest® desde -8 hasta +9 para poder realizar procedimientos de carga inmediata. Con el objetivo de evaluar el éxito de implantes de zirconia cargados de manera inmediata mediante coronas provisionales,

Payer M y cols; en 2012, realizaron un estudio en 20 pacientes durante 24 meses utilizando implantes de zirconia. Para ello, entre otros parámetros, analizaron la estabilidad primaria de dichos implantes mediante el uso de Periotest®. En el análisis de la estabilidad primaria obtuvieron valores negativos para todos los periodos de tiempo (desde el inicio hasta los 24 meses). Obteniendo los valores más bajos el día de la cirugía (-1.89 ± 1) y los más altos (-3.81 ± 1.7) a los 24 meses (tras 20 meses de carga oclusal), constatando una disminución progresiva de los valores de Periotest® en el tiempo, excepto durante los 6 primeros meses (coincidiendo en el periodo de oseointegración de los mismos).

Moon SY y cols; en 2008, realizaron un estudio comparativo entre carga inmediata y carga temprana utilizando, entre otros parámetros, el análisis de la estabilidad primaria inicial y a las 16 semanas de la implantación mediante el uso de Periotest®. Estos autores no encontraron diferencias significativas en ambos periodos de tiempo para los valores de Periotest® en los distintos grupos de estudio y en el grupo control (implantes sin carga oclusal), situándose los valores de Periotest® entre -3.1 y -3.8.

Noguerol B y cols; en 2006, analizaron 1084 implantes Bränemark® en 316 pacientes durante 10 años con el objetivo de determinar la precisión del sistema Periotest® comparándolo con el análisis de la oseointegración mediante el uso de radiografías. Éstos llegaron a la conclusión de que el sistema Periotest® es más sensible y fiable a la hora de predecir fracasos de oseointegración tempranos, y que valores superiores a -2 en la primera cirugía pueden ser indicativos de una escasa estabilidad primaria y, por consiguiente, pueden ser de riesgo en la posterior oseointegración. Por otro lado, **Kim NS y cols; en 2009**, evaluaron la estabilidad primaria de implantes con distintos tratamientos de superficie cada semana para un periodo total de 8 semanas en mandíbulas de perros; para ello utilizaron tanto el sistema Periotest® como el sistema RFA. Tras analizar los resultados, llegaron a la conclusión de que los valores de Periotest® eran negativos en todos los implantes, excepto en los implantes no oseointegrados; también afirman que no hay diferencias estadísticas entre los valores de Periotest® y los

valores de ISQ, aunque llegan a la conclusión de que el sistema Periotest® es más sensible a errores de medición, ya que puede establecer valores más o menos altos según cambio en la altura del pilar del implantes al que se mida la estabilidad primaria, la angulación del aparato de medida o la distancia desde el aparato de medida al implante. Sin embargo, **Oh JS y cols; en 2009**, compararon los dos sistemas más utilizados para analizar la estabilidad primaria de los implantes (Periotest® y RFA mediante Ostell Mentor®) en cuatro perros. Para ello, hicieron las mediciones el día de la cirugía, a las 3 y 6 semanas respectivamente. Los valores de Periotest® fueron menores en mandíbula que en maxilar, al contrario que los valores de ISQ. Los valores de Periotest® fueron significativamente menores a las 6 semanas en comparación con los valores a las 3 semanas al contrario que los valores de ISQ. Por lo que los autores llegaron a la conclusión de que ambos métodos son válidos para evaluar la oseointegración de los implantes a largo plazo.

2.3 Contacto hueso-implante (CHI)

La investigación indica que el éxito de los implantes se basa en el grado de oseointegración, que se define como la conexión directa estructural y funcional entre el hueso vivo ordenado y la superficie de un soporte de carga del implante (**Branemark PI y cols. 1985**).

La oseointegración es una consecuencia bien conocida de la colocación de implantes. Después de colocar un implante, la curación inicial incluye un remodelado óseo en su contorno, parecido a la reparación de un hueso fracturado.

Gran parte de la investigación y desarrollo de la implantología actual está enfocada a la evaluación del contacto-hueso-implante (BIC), siendo este uno de los principales factores responsables de la estabilidad implantaria. Numerosos autores han especificado los factores que tendrían influencia sobre los niveles de BIC, tales como ser la densidad ósea (**Cho HW y cols. 2002**), los valores de fuerza funcional ejercidos sobre el implante (**De Pauw GA y cols.**

2002), material y forma del implante (**Carr AB y cols. 2000**), la configuración y geometría del implante (**Caneva M y cols. 2010; Sanz M y cols. 2010**), la rugosidad de la superficie del titanio (**Trisi P y cols. 2002**), la humectabilidad de la misma (**Calvo-Guirado JL y cols. 2010**), o la longitud y diámetro del implante (**Ivanoff CJ y cols. 1997**).

Orsini E y cols; en 2009, en un estudio experimental realizado en perros, investigaron la relación entre dos diseños diferentes de implantes y la respuesta del tejido óseo periimplantario. Se evaluó el contacto-hueso-implante (BIC) de manera inicial. Se compararon implantes roscados con superficie modificada con arenado (SLA) y dos tipos de diseño diferentes basados en diferentes diseños de paso de rosca (screw pitch): con paso de rosca estrecho (narrow pitch) y paso de rosca ancho (wide pitch). Se encontró que los implantes con paso de rosca estrecha presentaron valores de contacto-hueso-implante (BIC) más elevados, y se consideró que el diseño del implante también es un factor importante que podría influenciar la oseointegración así como la estabilidad primaria en tejido óseo de diferente calidad.

El proceso de osteogénesis en el medio ambiente de un defecto periimplantario es el resultado de dos mecanismos distintos: la osteogénesis a distancia, que ocurre cuando la matriz ósea es depositada desde las paredes del hueso hospedador hacia la superficie del implante por un fenómeno aposicional (**Davies JE 2003; Orsini E y cols. 2011**); y la osteogénesis de contacto, que ocurre cuando la matriz ósea es depositada desde la superficie del implante hacia la pared del hueso hospedador por mineralización de la matriz extracelular. La situación anatómica y el diseño topográfico de la superficie del implante tienen influencia sobre este fenómeno. Sin embargo, mientras la osteoconducción está influenciada y es dependiente de la superficie del implante, el proceso de formación ósea en sí mismo es independiente de la superficie del material (**Davies JE 2003; Orsini E y cols. 2011**). Esto explica por qué el hueso ha mostrado

formarse en casi cualquier superficie no tóxica. El tejido óseo crece de manera aposicional y a través de una matriz siendo este proceso más o menos rápido según la estructura/complejidad de la superficie **(Terheyden H y cols. 2011)**. Además, cuando la osteoconducción resulta en un crecimiento óseo sobre una superficie, existe la posibilidad de que el hueso pueda “pegarse” a la superficie del implante, fenómeno conocido como “bone bonding” **(Davies JE y cols. 2010)**.

Dentro de las estrategias utilizadas para mejorar la biocompatibilidad y capacidad osteogénica de los implantes se incluyen: modificación de superficie por cubiertas inorgánicas, pulverización de plasma, recubrimiento sales de fosfato de calcio, o carbonatos. Existen también biopelículas bioactivas que recubriendo el biomaterial presentan una aumentada afinidad osteoblástica **(Park EK y cols. 2004; Franchi M y cols. 2004; Park HS y cols. 2010)**.

La razón de estas estrategias es hacer las superficies más afines para las células óseas. De tener éxito la superficie o cubierta del implante debería tener primero unas características químicas y estructurales que estimulen la actividad celular y terminen en la osteointegración y segundo la interfase hueso-implante resultante debería tener suficiente resistencia y capacidad de unión para soportar las cargas funcionales **(Ellingsen JE y cols. 2006)**.

Por ello el gran reto de la implantología hoy, es poder combinar el conocimiento en biomateriales, en ingeniería de tejidos, y en biología para diseñar superficies capaces de una óptima unión con el hueso y proporcionar señales a las células que favorezcan la curación del hueso y la oseointegración.

Son numerosos los estudios que encontramos acerca del tratamiento de las superficies, tanto en los implantes de Titanio como en los de dióxido de Zirconio, para lograr una mayor rapidez en la integración del hueso-implante y obtener mayor BIC **(Franchi M y cols. 2004; Zhao G y**

cols. 2005; Lang NP y Jepsen S 2009; Andreiotelli M y Kohal RJ 2009; Sul YT y cols. 2009; Jimbo R y cols. 2011).

Existen varios tipos de tratamiento de superficie, que tienen como objetivo aumentar la rugosidad de la superficie de titanio mediante chorreado de arena o tratamiento químico (SLA) (Wennerberg A y cols. 1996; Diniz MG y cols. 2002).

En contraste con los implantes de superficie lisa, los implantes con una superficie rugosa crean un microambiente más adecuado para la adhesión, proliferación y diferenciación de los osteoblastos hacia un fenotipo maduro (Mustafa K y cols. 2001; Lang NP y Jepsen S 2009).

Son varios los estudios que nos han demostrado que los implantes de superficie rugosa muestran mejor aposición de tejido óseo y mejor contacto-hueso-implante que los implantes de superficie lisa (Buser D y cols. 1999; Cochran DL y cols. 2002).

Por otro lado los estudios de Akagawa Y y cols; en 1998, Sennerby L y cols; en 2005, y Hoffman O y cols; en 2008, demostraron que el tejido óseo tiene la capacidad de crecer y formar un contacto directo sobre ambos materiales (Titanio y dióxido de Zirconio) en la misma proporción, aunque parece que al incrementar la rugosidad superficial del óxido de Zirconio este contacto es mayor si se compara con el Titanio sin modificar.

En otro estudio reciente, Delgado-Ruíz RA y cols; en 2011, desarrollaron una técnica de modificación de la superficie de un implante de Zirconia disponible en el mercado White-SKY® (Bredent Medical, Senden, Germany) mediante láser de femtosegundo, (Figura 3), creando microsurcos y microporos de 30 µm de diámetro en un área de 2 mm alrededor del cuello del implante, en la porción intraósea. Los hallazgos iniciales, demostraron una disminución en el porcentaje de elementos contaminantes (Carbono y Aluminio) en la superficie de los implantes, un incremento en la presencia de oxígeno, aumento de la rugosidad de la superficie

(expresado como Ra, Rq, Rt y Rz) sin afectación de la fase cristalina tetragonal, y una superficie limpia y homogénea de microtexturización.

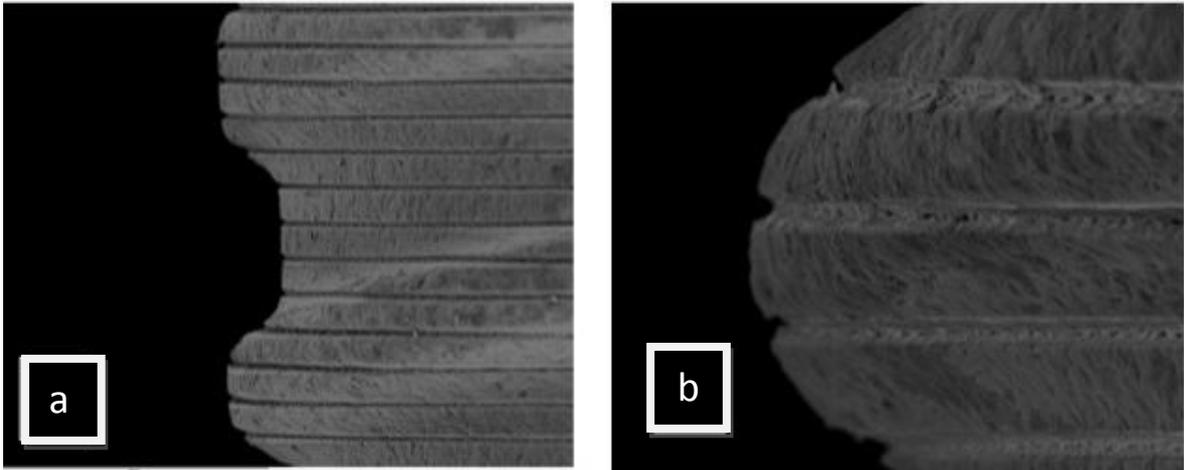


Figura 3. Imágenes obtenidas mediante microscopio electrónico de barrido de implantes de Zirconia modificados mediante láser de femtosegundo a) Imagen del cuerpo del implante donde se observan los surcos realizados mediante láser de femtosegundo. b) Detalle de los surcos en el implante de Zirconia (imágenes cedidas por el Prof. Delgado-Ruiz).

2.4 Nivel de hueso marginal

Albrektsson T y cols; en 1986, sugirieron los siguientes criterios de éxito de los implantes dentales a largo plazo en relación a los cambios en el nivel de hueso marginal: los cambios o la reabsorción del hueso marginal en los implantes durante el primer año tras la colocación de los mismos no debe superar el rango entre 1 y 1.5 mm, y en los posteriores años la pérdida ósea debe ser inferior a 0.2mm. Del mismo modo, **Behneke A y cols; en 2002**, en un estudio realizado en 100 pacientes rehabilitados mediante implantes ITI® cargados mediante un protocolo estándar y mediante rehabilitación protésica consistente en sobredentaduras, obtuvieron un porcentaje de éxito del 95,7% a 5 años de estudio. Alcanzaron también una media para la reabsorción ósea marginal de 0.5mm durante el periodo de oseointegración, y una media de 0.1mm posteriormente a la carga de los implantes. **Abrahamsson I y cols; en**

2006, en un trabajo realizado en perros Beagle, analizaron la reabsorción ósea marginal en implantes de Titanio con microrroscas en el cuello y sin ellas durante un periodo de 16 meses. Tras los análisis de los resultados, obtuvieron una media de reabsorción ósea crestal de -0.19 ± 0.32 mm en el grupo control (implantes sin microrroscas), y una media de $+0.05 \pm 0.06$ mm para el grupo test (implantes con microrroscas). No siendo significativas las diferencias entre ambos grupos.

En otro estudio realizado por **Nickenig HJ y cols; en 2009**, se analizaron, durante 2 años, dos tipos de diseño para el cuello en los implantes de Titanio, un grupo de implantes con cuello pulido y otro grupo con microrroscas en el cuello. Estos autores realizaron un seguimiento radiográfico en cuatro periodos de tiempo: el día de la cirugía, tras la oseointegración de los implantes, a los 6 meses (tras la carga funcional de los implantes), y a los 2 años de la cirugía; obteniendo unos valores significativamente inferiores en el grupo de implantes con microrroscas (0.1mm durante el periodo de oseointegración, 0.4mm a los 6 meses y 0.5mm a los 2 años), en comparación con el grupo de implantes de cuello pulido. En concordancia con el trabajo anterior, **Lee DW y cols; en 2007**, obtuvieron resultados similares en su trabajo prospectivo a 3 años. Siendo, los valores de reabsorción ósea crestal, significativamente menores en los implantes de titanio con microrroscas en el cuello en comparación con los implantes sin microrroscas a 1,2 y 3 años. Aunque ambos grupos estuvieron por debajo de 1mm. de pérdida ósea en el tiempo total del estudio. Estos datos llevaron a los autores a concluir que el diseño del cuello de los implantes con microrroscas es importante con el objetivo de minimizar la pérdida de hueso a nivel del cuello del implante, ya que puede minimizar las fuerzas de cizallamiento sobre la cresta ósea.

Otra investigación llevada a cabo por **Yun HJ y cols; en 2011**, en 27 pacientes durante un año, evalúa también el uso de implantes con microrroscas en el cuello y plataforma expandida,

obteniendo una media de reabsorción ósea durante el tiempo de estudio de $0.16\pm 0.08\text{mm}$ (valores similares a los autores anteriormente citados).

Hansson S, en 1999, utilizó un modelo matemático en 3D y el análisis de simetría axial de los elementos finitos para determinar la superficie rugosa ideal. Estableciendo la hipótesis, al igual que en los trabajos anteriormente citados, de que la rugosidad de la superficie o los elementos de retención, tales como la realización de microrroscas en el cuello del implante, aumentan la resistencia del hueso marginal a la pérdida de hueso mediante la mejora de la fuerza de enclavamiento entre la superficie del implante y el hueso crestral.

En cuanto a la comparación de la media de reabsorción ósea crestral anual entre distintos tipos de implantes de Titanio, **Chung DM y cols; en 2007**, en su análisis retrospectivo en 69 pacientes, vieron que no había diferencias significativas al comparar los distintos sistemas, obteniendo una media de $0.12\pm 0.01\text{mm}$. Sin embargo, llegaron a la conclusión de que implantes más cortos, más anchos, implantes que soportan prótesis fijas e implantes en los fumadores se asocia con una mayor pérdida de hueso crestral.

Por otro lado, **Akagawa Y y cols; en 1998**, estudiaron, entre otros parámetros, la reabsorción ósea crestral en implantes de Zirconia cargados oclusalmente durante 12 meses y 24 meses en monos. Obteniendo valores entre 1.6 y 2.3mm de pérdida ósea para el grupo de 12 meses y, valores entre 1.7 y 2.1mm para el grupo de 24 meses. Datos bastante superiores a los autores mencionados anteriormente. Sin embargo, **Gahlert M y cols; en 2010**, en un estudio en cerdos, compararon la oseointegración entre implantes de Titanio sometidos a grabado ácido y arenado (SLA-Ti) e implantes de Zirconia. Y obtuvieron mayor reabsorción ósea en los implantes de Titanio en comparación con los implantes de Zirconia, aunque no reflejan los

valores en milímetros de reabsorción ósea y, tampoco reflejan si estas diferencias son significativas o no.

Por otro lado, **Cannizzaro G y cols; en 2010**, estudiaron la reabsorción ósea en implantes sometidos a carga inmediata en comparación con implantes no cargados oclusalmente durante un año. Éstos no encontraron diferencias significativas entre ambos grupos durante el tiempo de estudio. Y, en contraposición con **Akagawa Y y cols; en 1998**, obtuvieron una media de pérdida ósea de 0.9mm en el grupo de implantes de carga inmediata y una media de 0.7mm en los implantes no cargados. Valores dentro de los parámetros de éxito a largo plazo de los implantes según **Albrektsson T y cols. 1986**, y más acordes a los valores obtenidos por los autores antes mencionados en otros tipos de implantes.

2.5 Las cerámicas en implantología

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

De los biomateriales cerámicos de aplicación médica el dióxido de Zirconio o Zirconia, presenta las mejores características: con una densidad $>6\text{G}/\text{cm}^3$, una resistencia a la flexión de 900-1200 Mpa, y una resistencia a la compresión de 2000 Mpa; aún comparado con otros biomateriales como la alúmina, aleación de titanio ($\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$) o aleación de Cr-Co, presenta valores superiores en cuanto resistencia y dureza, **(Piconi G y cols. 1999)**.

El óxido de Zirconio parcialmente estabilizado con itrio (Y-TZP Yttrium-stabilized tetragonal polycrystals) presenta unas ventajas sobre el óxido de aluminio debido a su alta resistencia a la fractura y alta resistencia a la flexión, **(Piconi C y cols. 2003; Sennerby L y cols. 2005)**, así como baja afinidad a la colonización bacteriana, biocompatibilidad. Y además, otra

característica que le hace más ventajosa respecto al óxido de aluminio es que no provoca respuesta inflamatoria en el organismo.

Berge TI y Gronningsaeter AG, en 2000, investigaron los implantes de alúmina Bioceram® durante un periodo de observación medio de 8,2 años. Los autores presentaron los resultados de 30 pacientes con 116 implantes. La tasa de supervivencia acumulada de los implantes ascendió a 68,7%. La razón de pérdida (pérdida de la oseointegración, la fractura) no fue indicada. La pérdida de ósea anual de alrededor de los implantes fue de 0,2 mm.

Andreiotelli M y cols; en 2009, y **Hobkirk JA y Wiskott HWA también en 2009**; en sus revisiones bibliográficas sobre las cerámicas en implantología ya indican la ausencia de fabricación de implantes de alúmina en la actualidad debido a su mal comportamiento en relación a su mala resistencia a la fractura. Además, estos autores comentan también la alta variabilidad en los rangos de supervivencia en estos implantes (desde 23% hasta 98%), lo que indica su escasa predictibilidad en cuanto a su comportamiento.

Otro aspecto en comparación con la alúmina, es su excelente oseointegración expresada con el contacto directo hueso-Zirconia y su especial ventaja con respecto al resto de materiales desde el punto de vista estético, ya que, al ser un material blanco, hace que no se vea alterada la estética en biotipos gingivales finos.

2.6 Implantes de Zirconia

Por tanto, los datos anteriormente comentados han llevado a la utilización del óxido de Zirconio parcialmente estabilizado con itrio (Y-TZP) como material de elección cerámico en comparación con otros materiales en implantología.

2.6.1 Detalles de la Zirconia

El dióxido de zirconio (ZrO_2), también conocido como Zirconia (no se debe confundir con el Zircón), es un óxido cristalino blanco de zirconio. En su forma más natural, con una estructura cristalina monoclinica, es el mineral baddeleyita (**Figura 4**).



Figura 4. Imagen de un fragmento de baddeleyita.
<http://roble.pntic.mec.es/~jfes0017/mineral.php?letra=b&orden=231>

El óxido de zirconio fue descubierto en el año 1789 por el alemán M.H. Klaproth (**Figura 5**), su nombre procede del idioma persa “Zargon” y significa “Dorado”.



Figura 5. Ilustración de Martin Heinrich Klaproth, descubridor del óxido de Zirconio.
<http://www.biografiasyvidas.com/biografia/k/klaproth.htm>

El óxido de Zirconio se obtiene principalmente del Zirconio que se encuentra en las rocas de tipo volcánico, siendo sus principales productores Australia, Estados Unidos, India y el sur de África.

El óxido de Zirconio puro a presiones atmosféricas presenta tres formas cristalográficas distintas, lo que se conoce como polimorfismo:

- Monocíclica o monoclinica.
- Tetragonales.
- Cúbicas.

La fase monoclinica se encuentra a temperatura ambiente, presenta una densidad de 5.83 g/cm^3 y es estable hasta los 1170°C . Al superar esta temperatura, pasa a la fase tetragonal, que es más la más densa de las tres con 6.1 g/cm^3 , cuando la temperatura supera los 2370°C se alcanza la fase cúbica que tiene una densidad de 6.06 g/cm^3 . **(Figura 6)**.

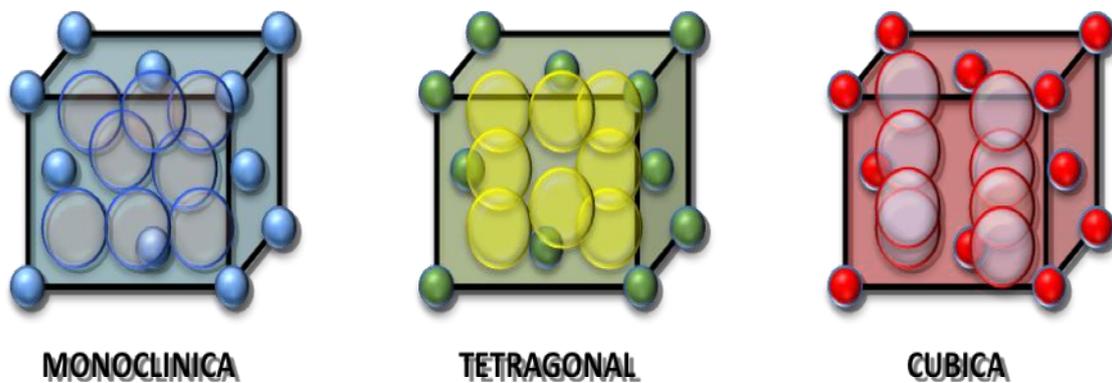


Figura 6: Fases cristalinas de óxido de zirconio

Las mejores propiedades mecánicas y químicas, en cuanto a resistencia las tiene la fase tetragonal. Que se obtiene mediante calentamiento por encima de 1200°C , cuando se enfría la fase cristalina sufre un cambio volumétrico mayor al 4% que altera las propiedades conseguidas **(Heuer AH 1986)**. Para evitar estos cambios y conseguir un control del estrés y del volumen del material, se incorporan a la estructura otros óxidos como Mg (Magnesio), Ce (Cerio) e Y (Itrio). Los implantes dentales de Zirconia disponibles en el mercado incorporan en

su estructura Y (3%mol), y su composición es denominada zirconio tetragonal parcialmente estabilizado con Itrio (Y-TZP).

Los pilares de óxido de zirconio tienen una resistencia contra roturas de 672 N *in vitro* aunque se ha demostrado que sus valores *in vivo* descienden hasta 403 N (**Oliva J y cols. 2010**). Sin embargo, **Andreiotelli M y Kohal RJ, en 2008**, encontraron una resistencia a la fractura desde 725 N a 850 N en implantes de Zirconia en un estudio mediante un modelo masticatorio artificial. En otro estudio **Kohal RJ, en 2009**, obtuvieron una media de resistencia a la fractura menor (entre 275.7 N y 280.7 N) en un modelo masticatorio artificial, sometiendo a un prototipo de implantes de Zirconia de dos piezas a 1.2 millones de ciclos masticatorios.

2.6.2 Biocompatibilidad de la Zirconia

La zirconia es un material inerte que ha demostrado una alta biocompatibilidad en los test *in vivo* e *in vitro* (**Christel PS 1989**). Al evaluar el comportamiento *in vivo* de Y-TZP (policristales de zirconio tetragonal parcialmente estabilizado con itrio) implantado en músculo para-espinal y tibia de conejo, comparado con alúmina, a corto y medio plazo, los resultados fueron similares y no hubo ninguna reacción adversa. Los test *in vitro* concluyeron que la zirconia no tiene efecto citotóxico en fibroblastos, además descubrieron que el Y-TZP no tiene efectos oncogénicos ni mutagénicos y puede considerarse como un material de elección para aplicaciones biomédicas (**Covacci V y cols. 1999**). La aparición de efectos negativos a corto y largo plazo también han sido estudiados *in vivo* en animales demostrando la ausencia de efectos locales como inflamación, irritación, formación de tejido de granulación o sistémicos como reacciones alérgicas a cuerpo extraño, después de la implantación de zirconia en músculos o huesos (**Piconi C y Maccauro G 1999**).

También se ha analizado la respuesta del hueso en monos en los que se insertaron implantes de Zirconia con y sin carga oclusal, después de 24 meses de carga los implantes permanecían inmóviles. No presentaron fracturas ni problemas mecánicos **(Akagawa Y y cols. 1998)**.

Una vez demostrada la seguridad del uso de este material se evaluó, tal y como ocurre en el caso de los implantes de titanio, la posibilidad de modificar la superficie de los implantes. Así, **Sennerby L y cols; en 2005**, modificaron la superficie de implantes de zirconia aumentando la rugosidad superficial mediante dos tratamientos de arenado superficial con diferentes granulometrías de alúmina y los insertaron en tibias de conejos. Tras 6 meses de cicatrización se confirmó la integración de los mismos. Evaluaron los implantes mediante pruebas de torque reverso con valores de 88 N/cm² en titanio y de 95 N/cm² en zirconia, siendo ligeramente mayor en zirconia a la hora de retirar los implantes.

2.6.3 Zirconia como biomaterial

La estética que se puede conseguir con las coronas sobre implantes puede llegar a ser óptima, pero existe la posibilidad de que el color gris del implante de titanio o del mismo pilar sea percibido a través de una mucosa peri-implantaria delgada, empeorando el resultado estético **(Piconi C y Maccauro G 1999)**.

Hay evidencias de que los metales incluido el titanio son capaces de inducir reacciones inespecíficas de inmunomodulación y autoinmunidad, y en algunos casos resultados de test *in vitro* de alta sensibilidad al titanio **(Stejskal J y Stejskal VD 1999; Valentine-Thon E y Schiwara HW 2003; Muller K y Valentine-Thon E 2006)**, recientemente se han descrito posibles reacciones de alergia al titanio **(Egusa H y cols. 2008; Sicilia A y cols. 2008)**. Por todo ello y gracias al desarrollo tecnológico, se deben realizar esfuerzos en la creación de implantes de otros materiales, como la Zirconia, más afines al paciente, pero manteniendo todas las

características que aseguren el cumplimiento de los criterios de éxito de los implantes de titanio. Un implante cerámico podría solucionar los posibles problemas estéticos y de salud que se podrían presentar con los implantes de titanio, y puede ser una alternativa viable especialmente en la región anterior del maxilar superior **(Kohal RJ y Klaus G 2004)**.

2.6.4 Métodos de texturización de la superficie de los implantes

La rugosidad de la superficie de un material se puede conseguir de diversos modos, utilizando técnicas físicas, químicas o técnicas combinadas. Las técnicas físicas inducen la configuración de la superficie de un material mediante fuerzas físicas y principalmente son sustractivas. Las técnicas comúnmente utilizadas son: mecanizado, pulido y arenado. La topografía de superficie de un implante está caracterizada por surcos y valles más o menos orientados en la misma dirección del maquinado **(Wennerberg A y Albrektsoon T 2010; Palmquist A y cols. 2010)**.

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

En la actualidad técnicas químicas como el grabado ácido o alcalino, tratamiento electroquímico de superficies y la combinación de tratamientos de superficie son empleadas sobre implantes de Titanio **(Cordioli G y cols. 2000; Vanzillotta PS y cols. 2006; Gaggi A y cols. 2000)**.

Las técnicas físicas aplicadas actualmente sobre implantes de zirconia se basan principalmente en el arenado mediante partículas de óxido de aluminio de diferentes granulometrías, las

técnicas eléctricas no se pueden aplicar al no conducir la electricidad, además las técnicas de grabado ácido o alcalino no surten suficiente efecto en el incremento de la rugosidad de los implantes de Zirconia (**Kurella A y Dahotre NB 2005**).

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

Esta técnica presenta una serie de interesantes ventajas:

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

Además, tiene unas posibilidades muy amplias de automatización e integración lo que permitiría su reproductibilidad (**Daniel C y cols. 2003**).

2.6.5 Microtexturizado por láser de los implantes de Zirconia

El láser es una fuente de radiación electromagnética coherente producida por la amplificación de la luz por emisión estimulada de la radiación. Una de las principales aplicaciones de los sistemas de radiación láser es el tratamiento de superficies. A todo esto, el láser añade la enorme ventaja de su precisión que permite tratar zonas de dimensiones micrométricas e

incluso nanométricas, lo que permite un procesado enormemente selectivo difícilmente alcanzable con otros métodos. En el caso de los pulsos láser ultracortos, estas ventajas se multiplican debido a la capacidad de depositar sobre la superficie del material cantidades de energía extremadamente pequeñas y muy concentradas en el tiempo y en el espacio, lo que reduce los efectos colaterales del procesado.

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

En el caso del procesado de materiales biológicos o materiales cuyo destino es la sustitución de tejidos biológicos, la ausencia de tales efectos es crucial **(Kurella A y Dahotre NB 2005)**.

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

La elección de este tipo de láser se hizo tras analizar si los pulsos ultracortos del láser pueden producir mejoras en el material de base de nuestros implantes. El proceso físico que está detrás de la capacidad de los pulsos ultracortos de eliminar material con precisión y sin daños apreciables en el resto de la superficie es la ablación láser denominada ultrarrápida. Si bien el mecanismo no está absolutamente comprendido a día de hoy, la base teórica fundamental que explica el proceso ya ha sido establecida **(Stuart BC y cols. 1995; Perez D y Lewis LI y cols. 2002; Stuart BC y cols. 1996)**.

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

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

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

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

energía (siempre por encima del umbral mínimo) y un número reducido de pulsos (20-30 según los materiales), dando lugar a tasas de ablación (profundidad por pulso) muy bajas.

En la mayoría de los casos, sobre todo en aplicaciones de microestructurado de profundidades de decenas o centenas de micras, es necesario irradiar las superficies con un número muy elevado de pulsos (miles de pulsos) y/o densidades de energía varias veces el umbral necesario para producir la ablación. En estos casos, coexiste el mecanismo anterior con otro mecanismo, de naturaleza térmica, denominado *explosión de fase* y que prevalece sobre el anterior tanto más cuanto mayor es el número de pulsos y/o la densidad de energía. Cuando este proceso tiene lugar, en los primeros instantes de la interacción del pulso con el material, la capa afectada libera una cantidad ingente de electrones que forman un plasma que absorberá el resto de la energía del pulso, sobrecalentándose y comenzando a radiar en todas las direcciones del espacio y en todo el espectro, dando lugar a un proceso de fusión y/o vaporización ultrarrápida (*explosión de fase*) de una capa del material de mayor espesor (hasta algunas micras) que la meramente afectada por la irradiación directa con el láser. Aun siendo un proceso de naturaleza térmica, se produce con tal rapidez que la energía transferida al resto del material es muy pequeña, limitándose los efectos térmicos a zonas tan próximas como una micra de la zona estructurada **(Delgado-Ruiz RA y cols. 2011)**.

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

En el presente trabajo, se ha aplicado la tecnología del láser de femtosegundo texturizando la superficie de implantes dentales de Zirconia mediante microsurcos y analizando su comportamiento en un modelo *in vivo* en comparación con implantes de Titanio.

3.OBJETIVOS

Los objetivos del presente estudio fueron:

1. Cuantificar la fuerza de la integración y la resistencia mecánica de la misma de los implantes de Zirconia modificados por láser e implantes de Titanio (control), mediante Periotest® a 1 y 3 meses.
2. Cuantificar la composición de elementos de la superficie de los implantes de Titanio y la superficie de los implantes de Zirconia modificadas por láser mediante microanálisis, en el microscopio electrónico de barrido, a 1 y 3 meses.
3. Cuantificar y comparar el contacto hueso-implante en la superficies de implantes de Zirconia modificada por láser y en la superficie de los implantes de Titanio mediante análisis histológico e histomorfométrico, a 1 y 3 meses.
4. Cuantificar y comparar la reabsorción ósea en hueso peri-implantario en los implantes de Zirconia modificada por láser y en los implantes de Titanio mediante análisis histológico, a 1 y 3 meses.

4.MATERIAL Y MÉTODOS

4.0. Material y Métodos

4.1 Materiales:

4.1.1 Animales de experimentación

El estudio se realizó en 6 perros de la raza American Fox Hound, de una edad entre 1-3 años, con un peso entre 18 y 20 kilogramos (**Figura 7**), procedentes del animalario de la Universidad de Murcia. Los perros presentaron las mandíbulas intactas, dentición permanente totalmente erupcionada, sin ningún tipo de trauma oclusal. Los especímenes mostraron buenas condiciones de salud general.

Los animales una vez recibidos fueron correctamente identificados, y fueron alimentados *ad-libitum* con dieta sólida a base de pienso y agua.



Figura 7. American Fox Hound en el estabulario de la Universidad de Murcia.

4.1.2 Implantes de Titanio

En este estudio se utilizaron 24 implantes de titanio Blue SKY[®] (Bredent medical[®] GMBH & Co. KG, Senden, Germany) de 4mm de diámetro y 10mm de longitud, fabricados con titanio grado IV, mecanizados en frío, lo que mantiene todas las propiedades mecánicas, y reciben un tratamiento superficial de arenado y posterior grabado ácido (**Figura 8**).



Figura 8. Imagen Implante Titanio Blue Sky[®] dimensiones 4mm diámetro x 10 mm longitud (Bredent medical[®] GMBH & Co. KG, Senden, Germany).

4.1.3 Implantes de Zirconia

En este estudio se utilizaron 24 implantes de dióxido de Zirconio White SKY[®] (Bredent medical[®] GMBH & Co. KG, Senden, Germany) modificados mediante láser de femtosegundo de 4mm de diámetro por 10mm de longitud, (**Figura 9**). Los implantes dentales de dióxido de Zirconio son fabricados por un proceso de sinterización a altas presiones y temperatura del orden de 1173°C-2370°C, (**Figura 10**).

Están compuestos por poli-cristales tetragonales de óxido de Zirconio estabilizados con 3 mol% de óxido de itrio, para mantener a temperatura ambiente la fase tetragonal estable, (**Figura 11**).

Poseen unas características físicas de: resistencia a la flexión de 1350 MPa, resistencia a la fractura de 9 MPa KIC (medida según el factor crítico de intensidad de tensión), módulo elástico de 230 GPa, resistencia a la sobrecarga lateral de más de 800N con un movimiento previo de adaptación de +/- 1,1mm.



Figura 9. Implante de zirconio White-sky®

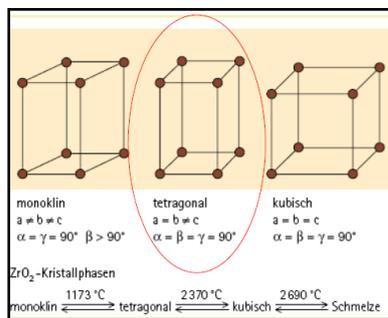


Figura 10. Fase tetragonal del zirconio

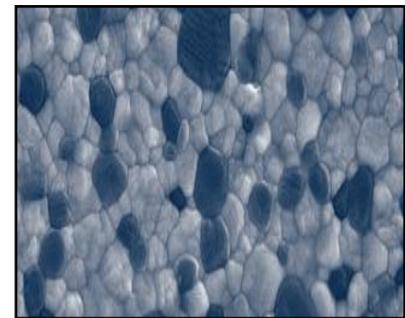


Figura 11. Policristales. En blanco zirconio y en negro itrio

4.1.4 Texturizado de los implantes mediante láser de Femtosegundo

El texturizado se ha realizado en el Servicio Láser de la Facultad de Física de la Universidad de Salamanca, empleando para ello un sistema basado en un oscilador de Ti: Zafiro modelo Tsunami®, (Spectra Physics, Newport Corporation Alberta, Canada) que produce pulsos de un centenar de femtosegundos ($1 \text{ fs} = 10^{-15} \text{ s}$), longitudes de onda en el infrarrojo cercano (795 nm) y energías del orden de los 10 nanojulios, con una tasa de repetición del orden de 80 MHz (es decir, 80 millones de pulsos por segundo). Estos pulsos de baja energía no son capaces, incluso focalizándolos con objetivos de microscopio, de producir la ablación de la superficie de los materiales. Para dotarlos de la energía suficiente se procede a su amplificación mediante un sistema regenerativo Spitfire® (Spectra Physics, Newport Corporation Alberta, Canada)

basado en la técnica CPA (*Chirped Pulse Amplification*) desarrollada a finales de los años ochenta por **Mourou G y Strickland D (1985)**. La técnica CPA consiste en alargar la duración de los pulsos para posteriormente amplificarlos mediante el bombeo con otro sistema láser. Finalmente, los pulsos ya amplificados, se comprimen de nuevo en el tiempo, recuperando prácticamente la duración original del pulso pero con energías incrementadas hasta cinco órdenes de magnitud. La razón fundamental para seguir este procedimiento es que los elementos ópticos necesarios para amplificar la energía de pulsos ultracortos se dañan o destruyen si se amplifican directamente esos pulsos, debido a la altísima concentración de energía que se produciría en el tiempo, (**Figura 12**).

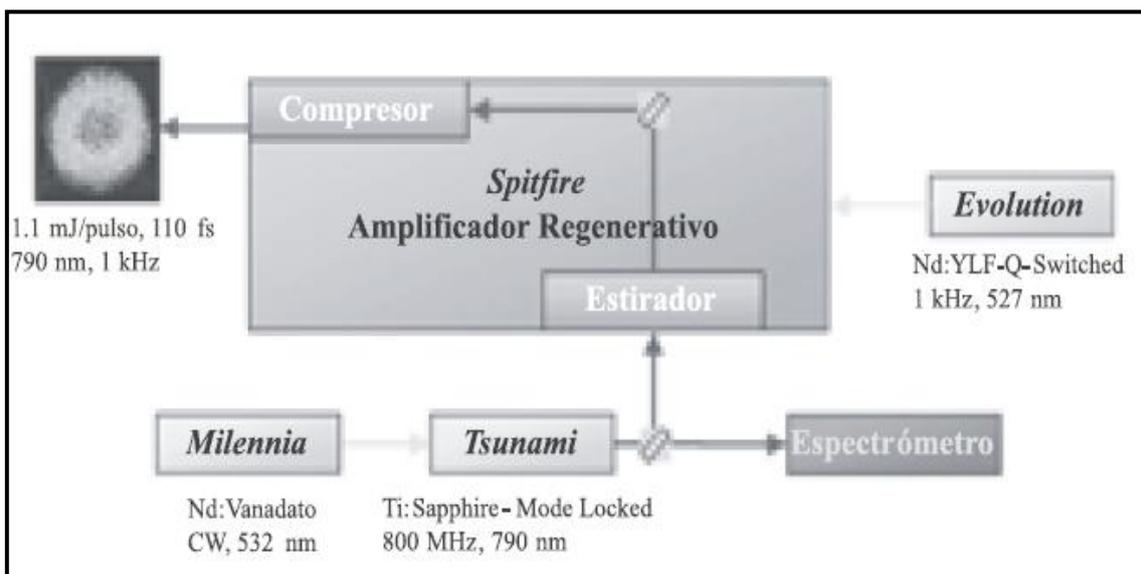


Figura 12. Esquema del sistema láser de femtosegundo utilizado que origina pulsos de 1.1 mJ (Moreno y cols 2005).

A la salida del amplificador y del compresor, se dispone de pulsos de duración de unos 120 fs y energías del orden del milijulio. La tasa de repetición del sistema es de 1 kHz (mil pulsos por segundo). Los pulsos salen con polarización lineal siendo la distribución transversal de energía gaussiana (modo transversal TEM₀₀), con una anchura del haz de unos 9 mm.

Dado que la energía de los pulsos ultracortos disponible es excesiva para la ablación de cualquier material, se emplean dos métodos para reducir y controlar de forma precisa esa energía. Por un lado se produce una reducción basta de la energía mediante el empleo de filtros neutros para a continuación emplear una combinación de láminas de media onda y un polarizador lineal para realizar el ajuste fino de la energía. Previamente al procesado de los materiales se determina el umbral de ablación del material para los parámetros del láser y de focalización utilizados, disponiendo así de un límite inferior de la energía de los pulsos para producir el microtexturizado. Los pulsos láser viajan a través del aire con la ayuda de espejos específicos para estas longitudes de onda hasta el sistema de focalización. Éste láser constituido por la lente de focalización y la óptica (lentes, espejos, soportes y filtros) para la visualización de la zona de procesado. Todo ello montado en una superficie estable donde están fijos todos los elementos, el haz finaliza su recorrido al impactar en la superficie objetivo del procesado, (**Figura 13**).

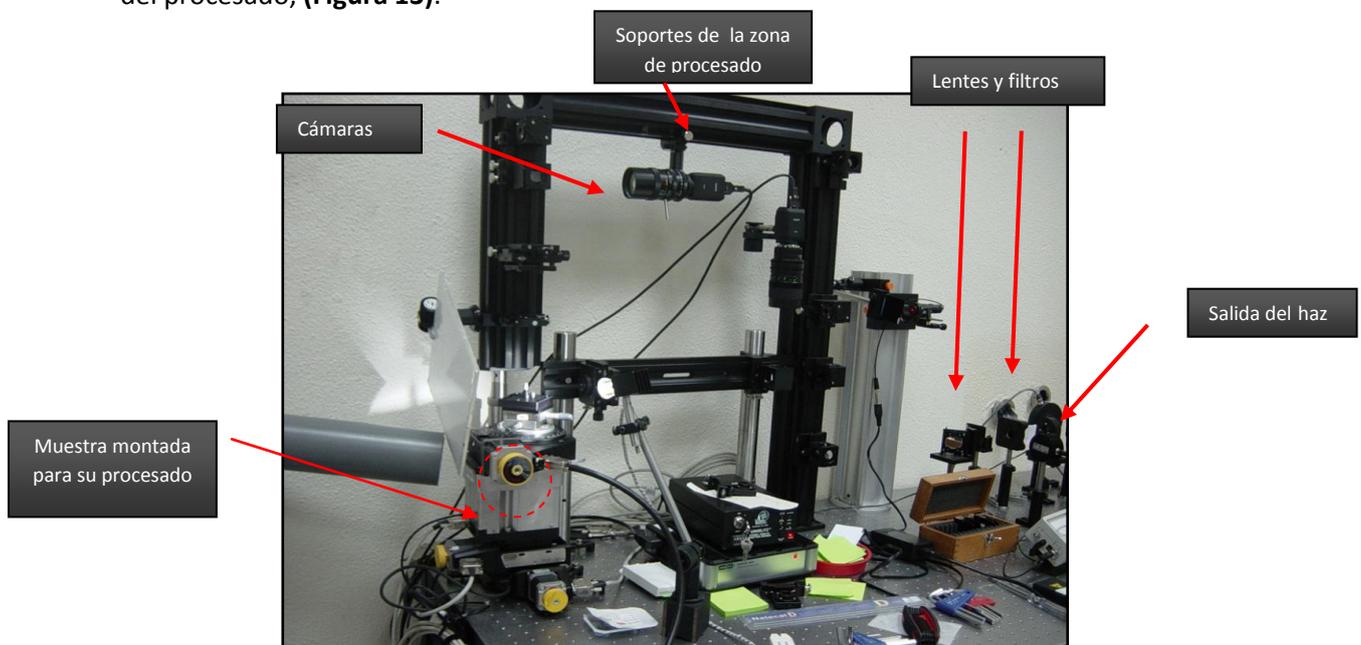


Figura 13 . Estructura de espejos, lentes y filtros por los que pasa el haz de rayos láser para ser enfocado en la pieza a procesar.

En cuanto a esta última, consiste en dos divisores de haz y dos cámaras CCD Philips Luca[®] (Philips electronics, Amsterdam , Netherland) que permiten recoger fuera del eje óptico la imagen de la superficie a procesar así como la reflexión del haz en la misma en dos direcciones perpendiculares, facilitando el posicionamiento del implante y la focalización del haz. La lente de focalización es también específica, tanto para la longitud de onda, como para la duración de los pulsos y la densidad de energía a utilizar. En este caso, se emplea un doblete acromático cuya distancia focal es de 100 mm y se sitúa con el eje óptico paralelo a la mesa óptica. La profundidad de foco de esta lente es de algunos milímetros lo que permite mantener una densidad de energía uniforme en toda la profundidad a la que se pretende realizar el microestructurado, (**Figura 14**).

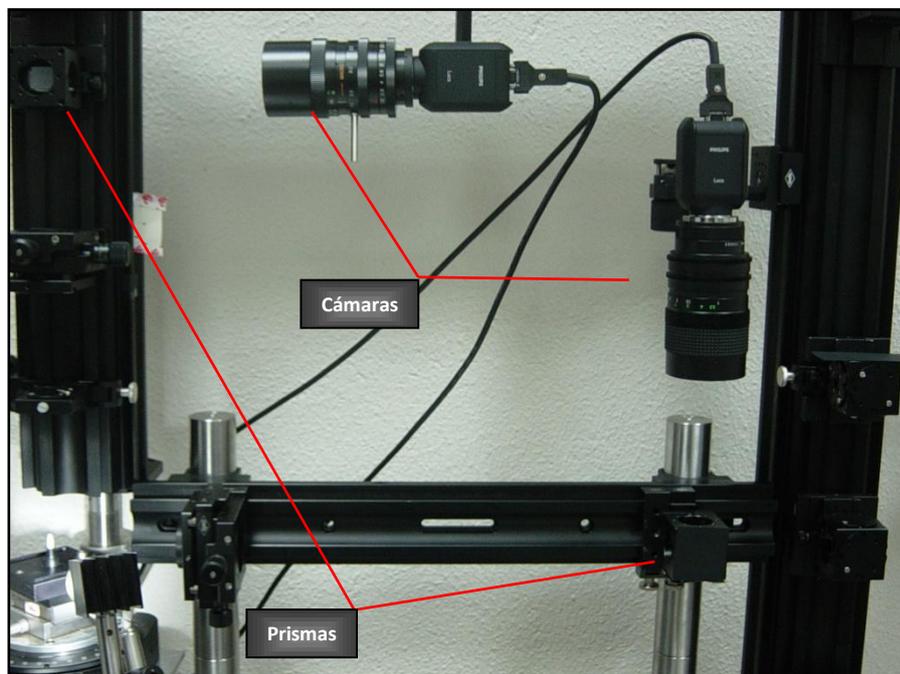


Figura 14. Cámaras enfocadas a prismas y espejos que permiten orientar el haz sobre la superficie a procesar.

Los implantes se sitúan sobre una mesa con desplazamiento motorizado controlado por software en los tres ejes XYZ Micos ES100[®] (Nanotec Electronic GMBH & Co München, Germany), de forma que los pulsos inciden perpendicularmente a la generatriz de los implantes. Los movimientos horizontales XY permiten la focalización de los pulsos exactamente en la superficie del implante, mientras que el movimiento Z permitirá barrer la zona de la superficie que se quiera texturizar. Al mismo tiempo la mesa XYZ descansa sobre una base rotante motorizada OWIS[®] (Nanotec Electronic GMBH & Co Munich, Germany), controlada por software, que gira a velocidades entre 0 y 30°/s y que permitirá texturizar toda la periferia del implante sin modificar las condiciones de focalización, (**Figuras 15 y 16**).

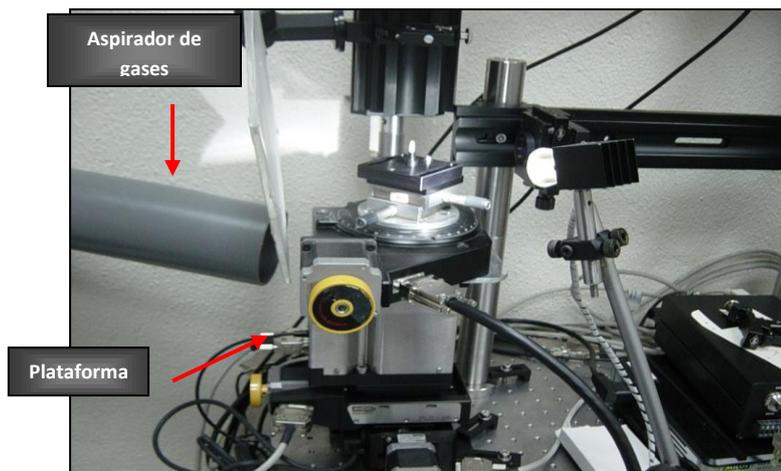


Figura 15. Plataforma de procesamiento con movimiento micrométrico en los tres ejes del espacio X, Y, Z.

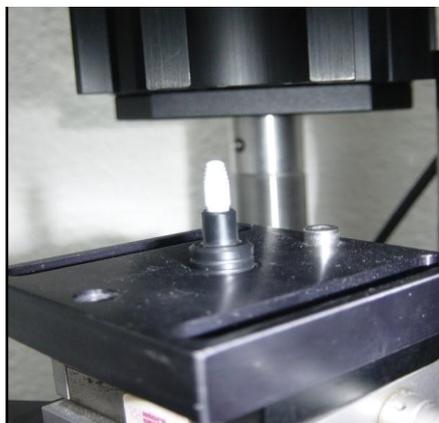


Figura 16. Implante de Zirconia montado en plataforma de procesamiento.

4.1.5 Periotest®

La estabilidad primaria de los implantes se midió tras su inserción mediante un instrumento llamado Periotest® (**Figura 17**). El Periotest® (Gulden-Medizintechnik, Bensheim am Bergstrabe, Alemania) es un instrumento electrónico diseñado originalmente para llevar a cabo las mediciones cuantitativas de las características de amortiguación del ligamento periodontal que rodea a un diente, estableciendo así un valor para su movilidad (**Oh JS y cols. 2009; Payer M y cols. 2012; Noguero B y cols. 2006**).



Figura 17. Instrumento medición Periotest® .

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

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

rigidez en comparación con las de los dientes que están conectadas por un ligamento periodontal. **Aparicio C y Lang NP, en 2006**, realizaron una revisión bibliográfica para evaluar la validez de la técnica Periotest®. Y tras la revisión, llegaron a la conclusión de que valores bajos de PTVs indican una oseointegración adecuada de los implantes.

4.1.6 Microscopio Electrónico de Barrido

Se utilizó un Microscopio Electrónico de Barrido JEOL-6100 (Jeol Ltda. Tokio, Japón) con sistema de microanálisis por dispersión de Rayos X LINK-ISIS (**Figura 18**). Tiene incorporados detector de Rayos X y electrones retrodispersados para poder realizar el análisis cuantitativo de elementos por área, por punto localizado o por superficie total, y determinar la proporción entre ellos en diferentes muestras.



Figura 18. Microscopio electrónico de Barrido JEOL-6100.

Este microscopio cuya fuente de electrones es generada por un filamento de Wolframio de 4nm de resolución, que al ser excitado por una corriente continua se hace incandescente hasta una temperatura próxima a los 2700°C, permite la observación de todo tipo de materiales tanto orgánicos como inorgánicos. Mediante el recorrido a modo de barrido de un

haz fino de electrones originados en el filamento dotados de energías que van de 0.3-30 kV , y chocar estos con una muestra sólida esta emite electrones de energías diversas así como una cierta radiación. Esto genera señales como: electrones secundarios (para las observaciones morfológicas de la superficie), electrones retrodispersados (discrimina fases existentes dentro del material analizado, su producción es proporcional al número atómico), electrones Auger (permite reconstruir imágenes de la repartición de los elementos químicos en los primeros nanómetros de las superficies analizadas) y rayos X (permite cuantificar los elementos químicos que componen el interior del material observado).

4.1.7 Microscopio Óptico

Las secciones fueron estudiadas y analizadas mediante microscopía de campo claro Leica DC 500



Figura 19. Microscopio óptico.

4.0 Material y Métodos

4.2 Métodos

4.2.1 Tipo de estudio

Este trabajo se trata de un estudio experimental controlado in vivo.

4.2.2. Diseño del estudio

El protocolo para la realización del estudio fue aprobado el 14 de Mayo de 2010 por el Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Medicina de Murcia (**Anexo I**). Todos los animales siguieron el Real Decreto (RD) 1201/2005 de 10 de octubre, sobre protección de animales utilizados para experimentación, y la Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado dado a los animales en su transporte, las pruebas y el sacrificio. Además, el proyecto siguió la Directiva 2010/63/UE DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 22 de septiembre de 2010, sobre protección de los animales utilizados para fines científicos.

Se colocaron 24 implantes de titanio Blue SKY® (grupo control) y 24 implantes White SKY® modificados mediante láser de femtosegundo (grupo de estudio), en 6 perros American Foux Hound de manera aleatoria mediante la utilización del programa randomization.com, introduciendo 4 implantes por hemimandíbula hasta un total de 8 implantes por cada perro (**Figura 20**).

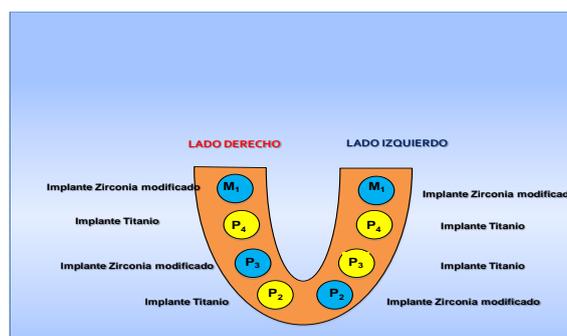


Figura 20. Distribución esquemática de la colocación de los implantes del estudio en cada perro.

Tras la colocación de los implantes y el sacrificio de los perros a uno y tres meses, se procedió a la recogida de las muestras para su posterior análisis. Se analizó la estabilidad primaria, se realizó análisis histológico para evaluar la pérdida de hueso peri-implantario y, se realizó análisis mediante microscopio electrónico de barrido para evaluar el contacto hueso-implante (BIC).

4.2.3 Método para la texturización del implante de Zirconia mediante láser de femtosegundo

La zona objetivo para la acción del láser elegida fue la porción intraósea del implante, desde el nivel cervical del implante tras el cuello pulido del implante hasta la porción apical, (**Figura 21**).



Figura 21. 1. Pilar protésico: Área del pilar mide 6mm de altura, previamente mecanizada por el fabricante, 2. Cuello pulido: Área pulida de 2mm para la adherencia del margen gingival, y prevenir la acumulación de placa, 3. Área intraósea: Mide 8mm, con una zona sombreada en azul se delimita la zona que se procesó por láser.

4.2.4. Método para la realización de los surcos

Previamente a la definición de los parámetros de proceso, es necesario producir la focalización de los pulsos sobre la superficie del implante en dirección normal a la misma. Para ello, se empleó el dispositivo constituido por los dos divisores de haz y las dos cámaras. Una de ellas permitió visualizar el giro del implante desde una posición cenital mientras que la otra nos proporcionó una imagen del punto de focalización sobre la superficie a texturizar. Consideramos que el implante estaba bien posicionado y el láser focalizado cuando el giro no presentaba excentricidad y el tamaño del punto de focalización era mínimo.

En lo referente a los parámetros de proceso, en primer lugar se establecieron los parámetros para producir un surco de 30 μm de anchura. La anchura de la estructura que se generó dependía de la lente de focalización y de la energía de los pulsos láser, y marginalmente del número de pulsos que irradian cada zona de la superficie del material. Dado que se fijó la óptica de focalización, la anchura del surco dependía de la energía de pulso, de forma que a mayor energía de pulso, mayor es el tamaño del punto de focalización y por tanto mayor la anchura del surco. La energía de pulso que produjo una anchura de 30 micras con la lente de $f=100\text{ mm}$ fué de 0.1 mJ.

En segundo lugar se determinó cuál era la velocidad de barrido necesaria para producir surcos de una profundidad mínima de 30 micras, resultando que la velocidad de giro de la base rotante más adecuada era de 5°/s.

El patrón de surcos se extendió a lo largo de toda la porción intraósea del implante: 8mm, teniendo una geometría helicoidal con un paso de hélice de 100 micras. Esto supone que la distancia entre las paredes de surcos adyacentes era de aproximadamente 70 micras.

Una vuelta de hélice requirió un tiempo de 72 segundos lo que significa una velocidad de traslación vertical de 1.4 $\mu\text{m/s}$.

4.2.5 Procedimiento quirúrgico:

4.2.5.1 Primera fase: Exodoncias

A los animales se les administró como medicación preanestésica acepromicina 0.04 mg/kg (CALMONEOSAN®, laboratorios Pfizer) diez minutos antes de administrarles butorfanol 0.2 mg/kg (TORBUGESIC®, laboratorios Fort Dog) y medetomidina en hidrocloreuro 0.7mg/kg (MEDETOR®, laboratorios Virbac, Burgdorf, Germany). La medicación fue inyectada de manera intramuscular en el cuádriceps femoral de cada animal. Posteriormente, los especímenes fueron llevados al quirófano, y seguidamente se les colocó un catéter intravenoso (diámetro 22 ó 20 G) en la vena cefálica para perfusión lenta de Propofol 1% en proporción de 0.4 mg/kg/minuto. En el campo quirúrgico se administró inyección infiltrativa de articaína/epinefrina 1:100.000 para aumentar la anestesia local y reducir la hemorragia en el campo quirúrgico. Estos procedimientos se llevaron a cabo bajo la supervisión de un veterinario. Durante el tiempo de duración de la cirugía, a los animales se les monitorizó la frecuencia cardíaca, la saturación de oxígeno en sangre y la temperatura corporal (**Figura 22**).

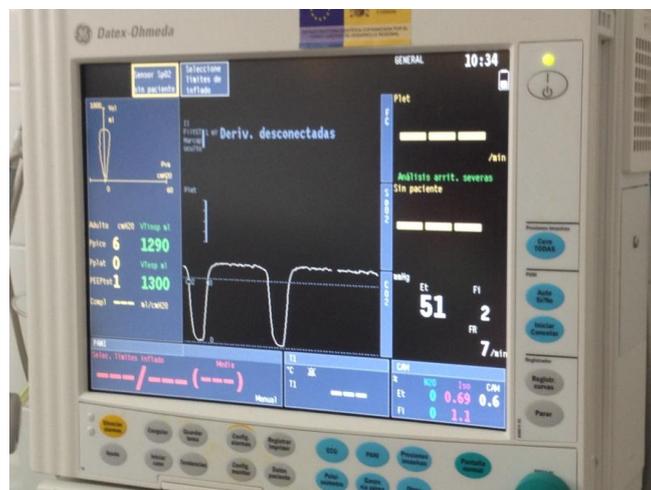


Figura 22. Imagen del monitor con las constantes vitales del espécimen.

Durante todo el período intraoperatorio se mantuvo la perfusión de propofol en solución de sodio.

Se obtuvieron radiografías periapicales para verificar la anatomía y disposición de las raíces de los premolares (**Figuras 23 a y b**).



Figura 23 (a). Imagen clínica de los premolares y primer molar mandibulares.

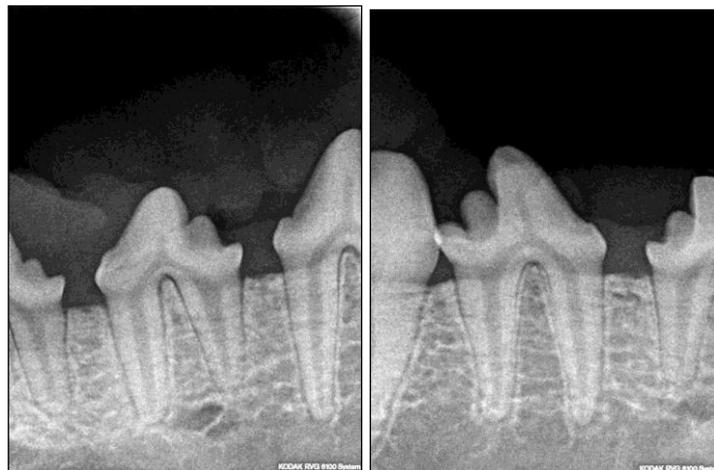


Figura 23 (b). Radiografías periapicales preoperatorias.

Seguidamente, se realizó una incisión crestal y sulcular alrededor de las piezas con despegamiento de un mínimo colgajo a espesor total (**Figura 24**).



Figura 24. Despegamiento de un mínimo colgajo mucoperióstico.

Se realizaron las exodoncias de los premolares (P_2 , P_3 , P_4) y del primer molar (M_1) en las hemimandíbulas de cada perro. Para ello, las piezas se seccionaron en sentido bucolingual a nivel de la furca utilizando una fresa de carburo de tungsteno (**Figura 25**) y de esta manera, las raíces se extrajeron de manera individual con perióstomo, elevador tipo Clev-Dent recto fino, y fórceps de restos radiculares (**Figuras 26,27 y 28**).



Figura 25. Odontosección con fresa de fisura HM 33L (carburo de tungsteno) a alta velocidad y abundante irrigación.



Figura 26. Odontosección de las raíces mesiales y distales.

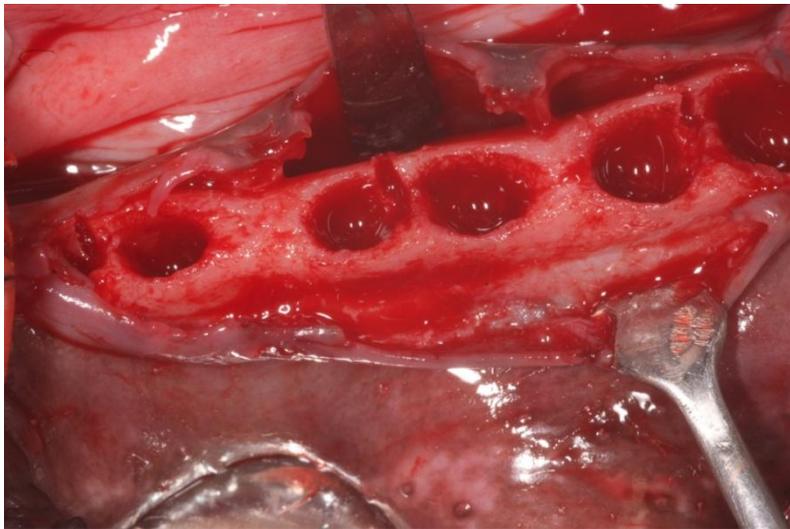


Figura 27. Alveólos tras las exodoncias.



Figura 28. Imagen de las raíces exodonciadas.

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

Tras las exodoncias, se llevó a cabo la sutura de los colgajos despegados previamente para la realización de las mismas. Para ello, se realizó la sutura con puntos simples reabsorbibles (3-0 TB-15. Lorca Marín Ref. 55346).

Como antibiótico y antiinflamatorio se utilizaron amoxicilina (500mg, dos veces al día) e ibuprofeno (600mg, tres veces al día) por vía sistémica. El antibiótico y el antiinflamatorio se administraron al terminar la intervención quirúrgica y posteriormente cada 2 días durante un total de 4 días, para prevenir la infección e inflamación post operatorias, como establecen los comités de ética de experimentación animal.

Los perros, terminada la cirugía, se trasladaron a su estabulario para que, bajo supervisión veterinaria, se recuperen progresivamente de la operación.

Durante los días posteriores se realizó el cuidado post-quirúrgico de las heridas post-exodoncia para evitar infecciones y se controló el estado general de los animales. La cicatrización se evaluó de manera semanal, y el control de placa se llevó cabo irrigando la cavidad oral con digluconato de clorhexidina 0.2% (Dentaid, Barcelona, España). Los animales fueron alimentados *ad-libitum* con dieta blanda a base de pienso blando y agua (**Figura 29**).



Figura 29. Imagen de un perro del estudio en el estabulario tras la cirugía.

4.2.5.2 Segunda fase: Procedimiento de inserción de los implantes

La cirugía de inserción de los implantes fue llevada a cabo mediante los mismos procedimientos anestésicos y cuidados postoperatorios que en la primera fase (realización de exodoncias). Los implantes fueron insertados después de un periodo de curación de dos meses **(Figura 30)**.



Figura 30. Estado de la encía tras periodo de cicatrización.

Después de la incisión crestal, se levantó un colgajo de espesor total **(Figura 31)**.

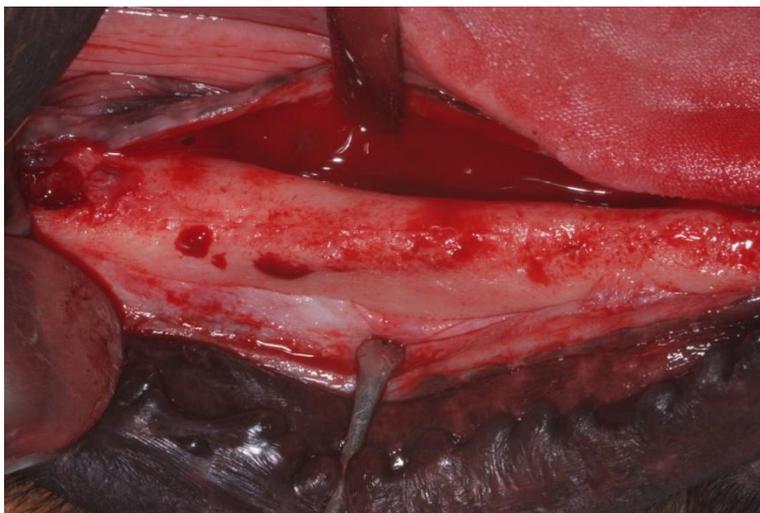


Figura 31. Imagen tras levantamiento del colgajo. Se observa cicatrización completa ósea tras 2 meses de las exodoncias.

Se preparó cada lecho implantario siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante de implantes (Bredent médica[®] GmbH & Co. KG, Senden, Alemania), preparando un lecho de 4 mm de diámetro y 10 mm de longitud cada una, separado de la perforación entre lechos vecinos por 3-3,5 mm (**Figura 32 y Figura 33a y 33b**).

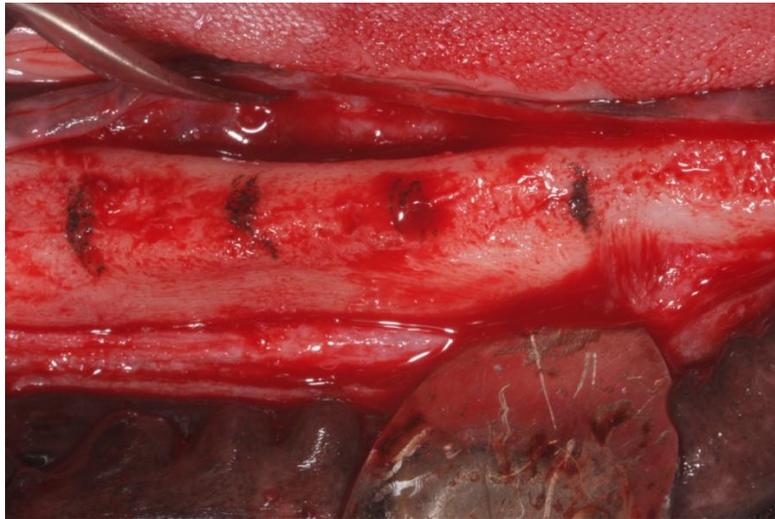


Figura 32. Marcas para la perforación de lechos implantarios.

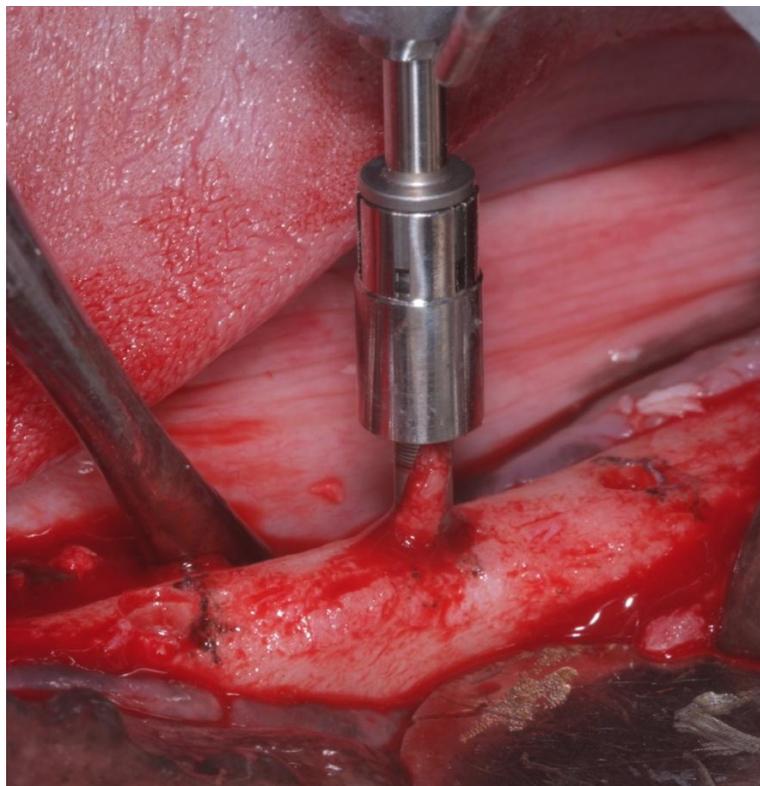


Figura 33a. Detalle Fresado durante la cirugía.

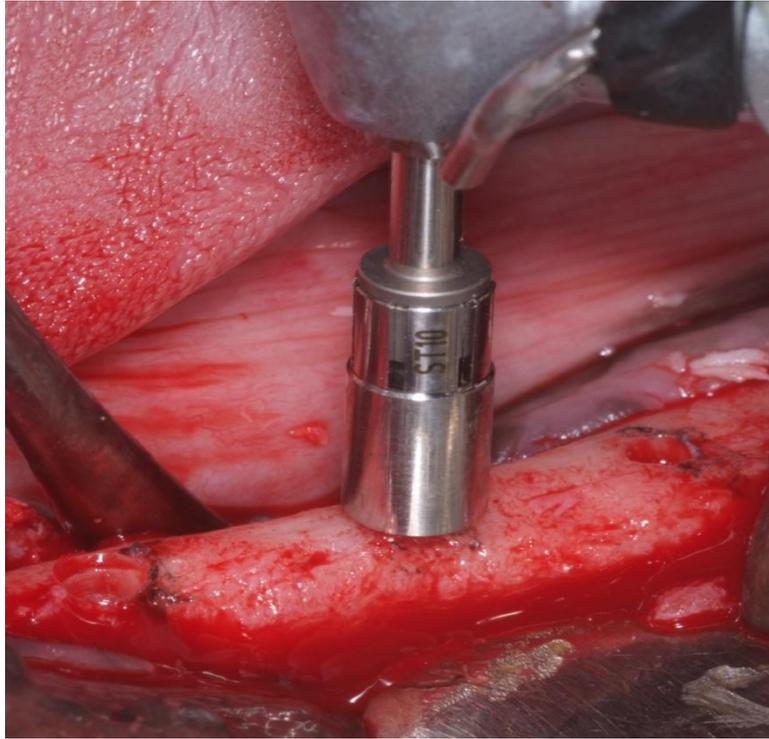


Figura 33b. Detalle uso de fresas con tope durante cirugía.

Durante la preparación de los lechos implantarios y tras el fresado de cada uno se verificó el paralelismo de los mismos (**Figura 34**) mediante los pins de paralelización SKY-PI22® (Bredent medical® GmbH & Co. KG, Senden, Alemania).

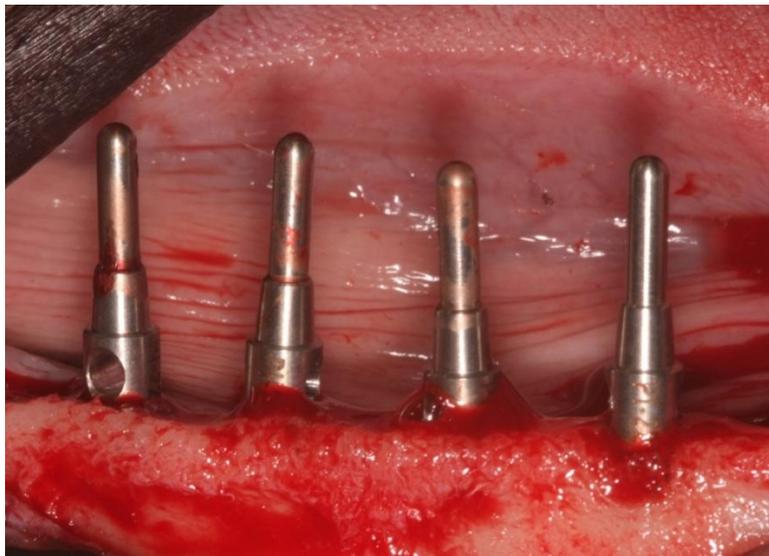


Figura 34. Uso de pins de paralelización para comprobar paralelismo de los implantes previamente a su colocación.

Cada hemi-mandíbula recibió cuatro implantes cilíndricos, insertados con un torque de 35 Ncm o más, todos con las mismas dimensiones y geometría en la porción intraósea (**Figuras 35a, 35b y 35c**).

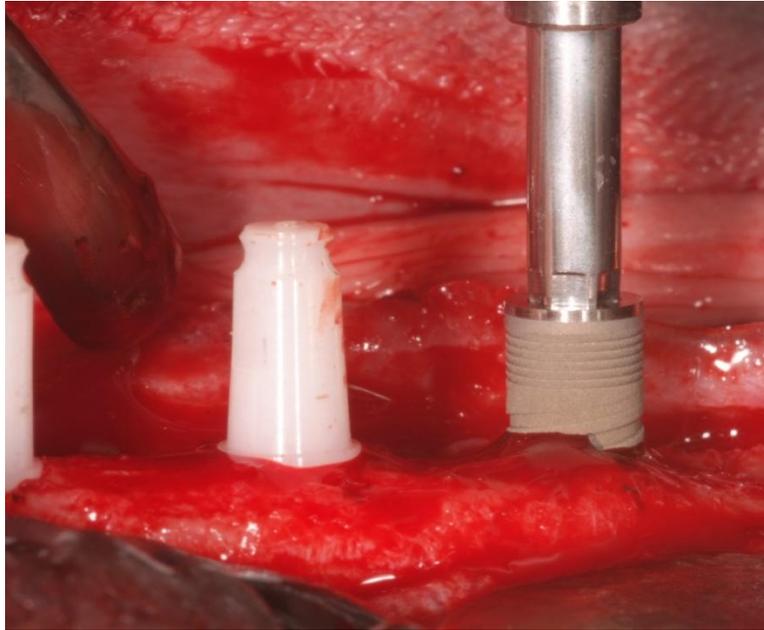


Figura 35a. Inserción implante Titanio Blue SKY®(Bredent medical ®GmbH & Co. KG, Senden, Alemania).

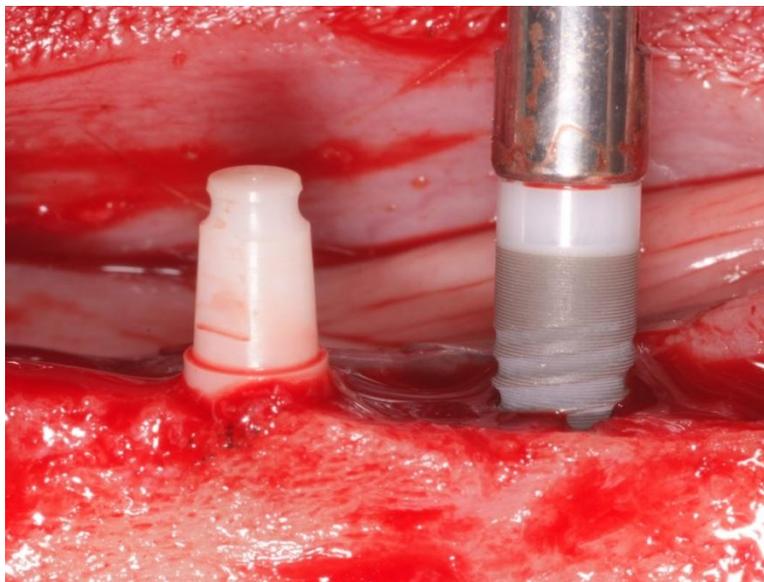


Figura 35b. Inserción implante Zirconia White SKY®(Bredent médicoal ®GmbH & Co. KG, Senden, Alemania).



Figura 35c. Detalle tras la colocación de los implantes.

El implante de Zirconia es un cuerpo monobloque que incluye el pilar, por lo tanto, con el fin de crear condiciones de igualdad para los implantes del Grupo Control, los implantes de titanio, recibieron pilares mecanizados SKY-EM00[®] (Bredent medical[®] GMBH & Co. KG, Senden, Germany) de las mismas dimensiones, que fueron atornillados al implante a 25Ncm (**Figuras 36 y 37**).

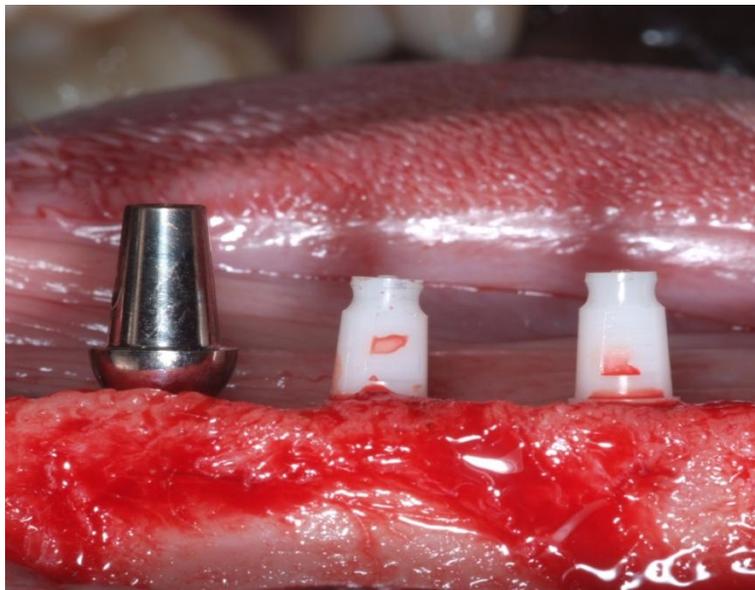


Figura 36. Visión lateral implante Titanio Blue SKY[®] con pilar mecanizado SKY-EM00[®] e implantes Zirconia monobloque White SKY[®] (Bredent medical[®] GMBH & Co. KG, Senden, Germany).

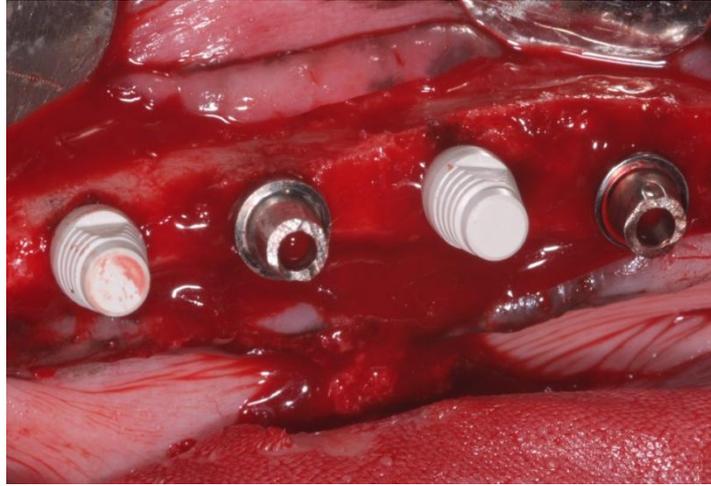


Figura 37. Visión oclusal implante Titanio Blue SKY® con pilar mecanizado SKY-EM00® e implantes zirconia monobloque White SKY® (Bredent medical® GMBH & Co. KG, Senden, Germany).

Se llevará a cabo una sutura mediante puntos simples para conseguir un cierre primario de la herida y que no se produzca la dehiscencia de la sutura (**Figura 38**).



Figura 38. Visión de la reposición del colgajo, sutura y estado de los implantes tras la sutura.

Tras la sutura, se llevará a cabo un control radiográfico inicial de los implantes (**Figuras 39 y 40**), así como un control de la estabilidad primaria inicial de los implantes mediante el sistema de medida Periotest® (**Figura 41**).

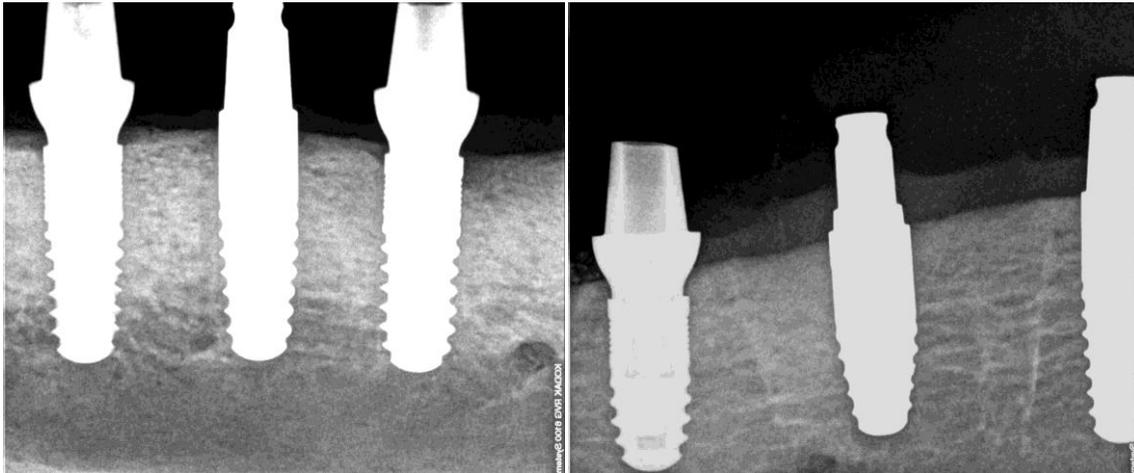


Figura 39. Radiografía postoperatoria tras la colocación de los implantes a un mes.

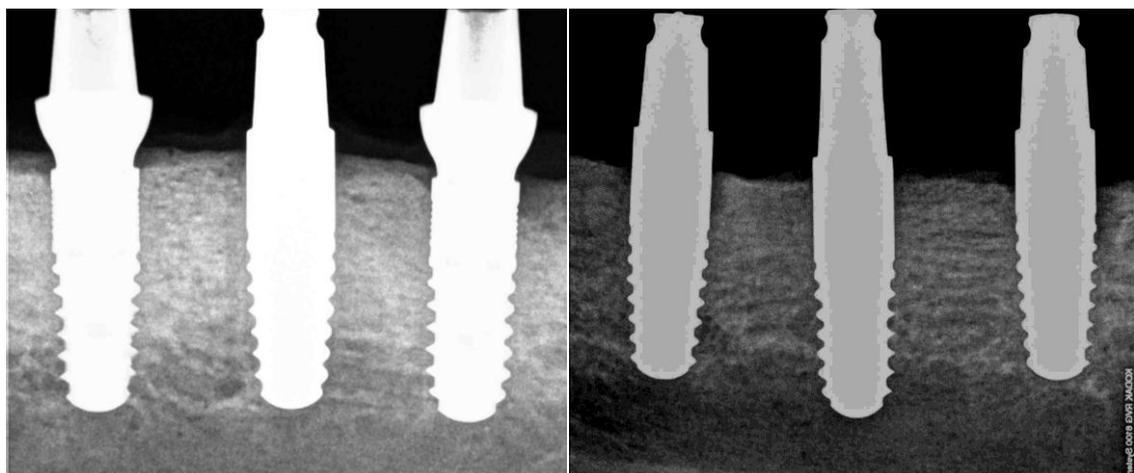


Figura 40. Radiografía postoperatoria tras la colocación de los implantes en perro 5.



Figura 41. Medición clínica de la estabilidad primaria inicial de los implantes mediante el sistema Periotest®

4.2.5.3 Tercera fase: Sacrificio y recogida de muestras

En la tercera fase de este estudio, se realizaron el registro de los valores de estabilidad primaria final y la extracción de las muestras para la realización de análisis histológico e histomorfométrico.

Se sacrificaron 3 animales por cada período de tiempo (4 y 12 semanas), mediante una perfusión de Pentotal sódico (Laboratorios Abbot, Chicago, IL, USA) a través de la arteria carótida con un fijador que contiene una mezcla del 5% de glutaraldehído y 4% de formaldehído.

El veterinario constatará la muerte del perro e inmediatamente se procederá a la disección de la mandíbula.

Se diseccionaron las mandíbulas de cada animal y cada zona de estudio se extrajo usando una fresa de diamante a alta velocidad. Las biopsias se procesaron siguiendo el método descrito por **Donath y Breuner, en 1982**.

4.2.6. Método de Preparación histológica

Las muestras fueron fijadas en formol y deshidratadas en una serie gradual de etanol se realizó un desengrasado y desecación con alcoholes de menor a mayor concentración mediante etanol al 50%, 70%, 80%, 90% por 15 minutos cada uno y desecación de la superficie con acetona a 30%, 50%, 70% y 90% por 15 minutos cada uno, posteriormente acetona al 100% durante 30 minutos y punto crítico.

Los implantes y el hueso circudante se incluyeron en metilmetacrilato (Technovit 7100®, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany).

Mediante el uso de un sistema de micro-corte de diamante (Exakt-Apparatebau, Norderstedt, Germany), se cortaron en sentido vestíbulo-lingual, en secciones de 100 μ m de espesor a lo largo del eje de cada implante.

Estas secciones se redujeron a 50 micras de espesor mediante técnicas de pulido con discos de papel de granulometría extrafina de grano de número 2000. Finalmente se obtuvieron tres secciones centrales por implante, unas para su análisis histológico y otras para análisis mediante microscopio electrónico de barrido (MEB) (**Figura 42**).

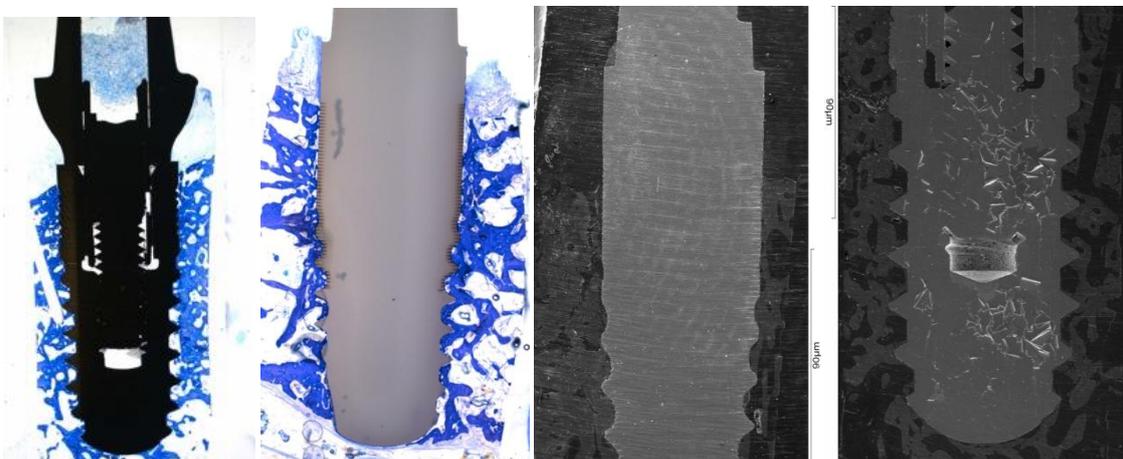


Figura 42. Imágenes histológicas y de MEB a x20 de los dos tipos de implantes del estudio.

4.2.7 Método de análisis de la estabilidad primaria inicial y secundaria de los implantes

Se realizó mediante el instrumento PerioTest[®], cuya punta se colocó perpendicular a los pilares en la cara vestibular de cada implante, a una distancia aproximada de 2mm y se realizaron tres mediciones, de las que se registró la media de las tres mediciones en cada uno de los implantes (**Figura 43**).



Figura 43. Toma de valores con Periotest® durante la cirugía.

4.2.8 Método para la cuantificación de elementos en los implantes de Titanio y Dióxido de Zirconio modificados, en la interfaz hueso-implante

Se realizó desecación de la superficie con acetona a 30%, 50%, 70% y 90% por 15 minutos en cada implante. Todas las muestras fueron recubiertas con una fina capa de carbono conductor en una unidad de Recubrimiento (SCD 004 Sputter-Coater con TOC 30 adjunto, Bal-Tec, Vaduz, Liechtenstein).

Sobre un disco de aluminio de 4cm de diámetro se montaron los cortes que incluían hueso e implante, se identificaron y fueron distribuidos en forma radial sobre cintas adhesivas en un número de 2 por disco.

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL-6100 (Jeol Ltd. Tokio, Japón) de la Universidad de Murcia para estudiar la topografía de la superficie (**Figuras de 44 a 60**).

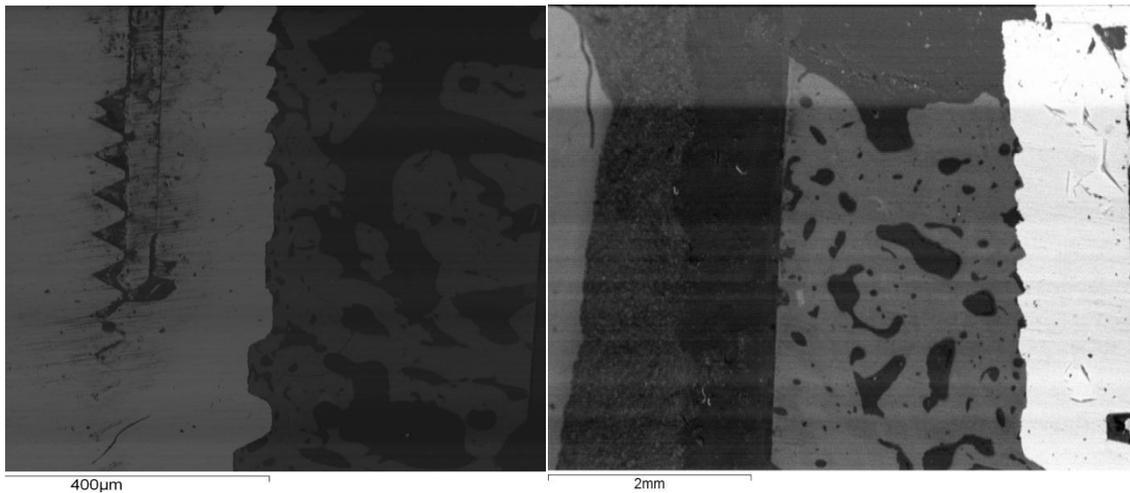


Figura 44. Imagen MEB X20 donde se observa el cuello de implantes de Titanio. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

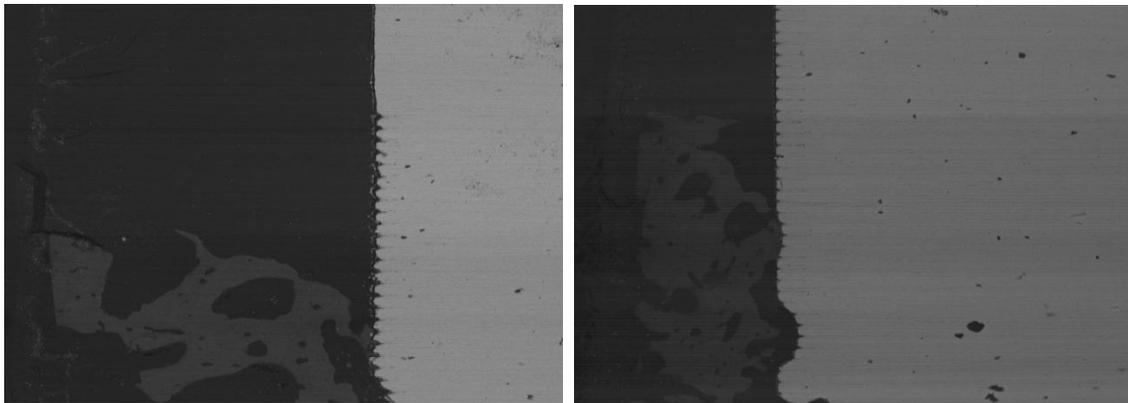


Figura 45. Imagen MEB X20 donde se observa el cuello de implantes de Zirconia con microsurcos. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

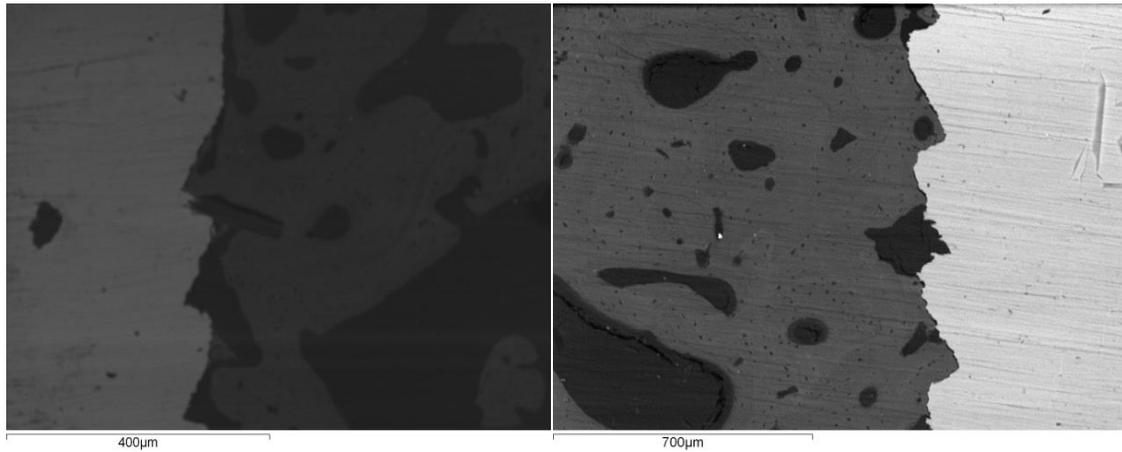


Figura 46. Imagen MEB X75 donde se observa el cuello de implantes de Titanio. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

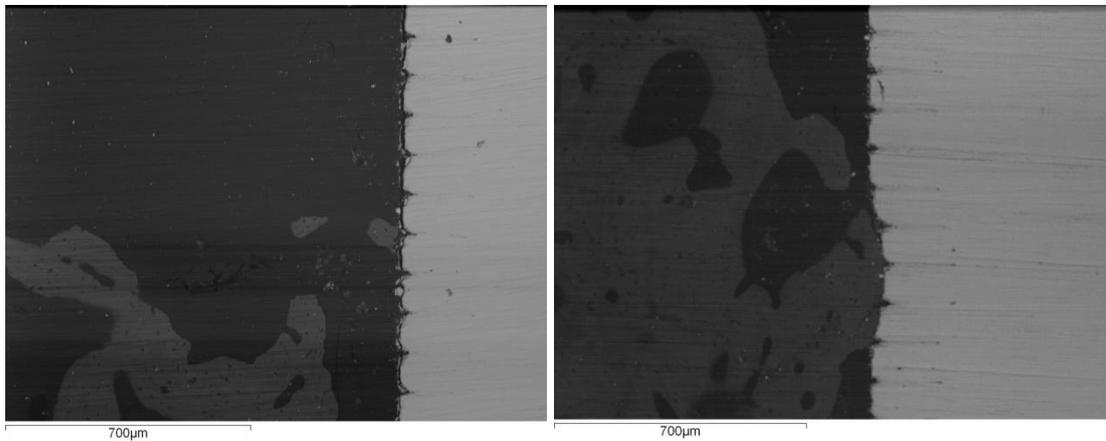


Figura 47. Imagen MEB X75 donde se observa el cuello de implantes de Zirconia con microsurcos. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

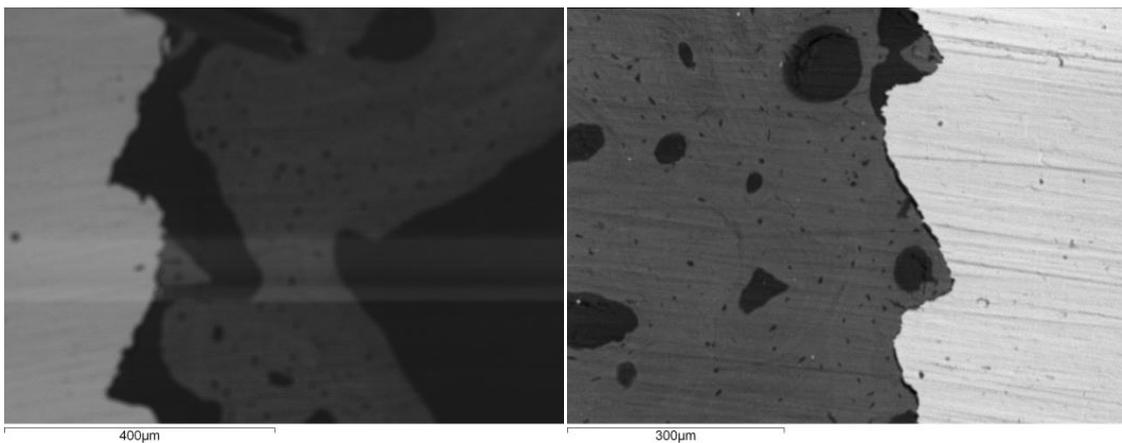


Figura 48. Imagen MEB X150 donde se observa el cuello de implantes de Titanio. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

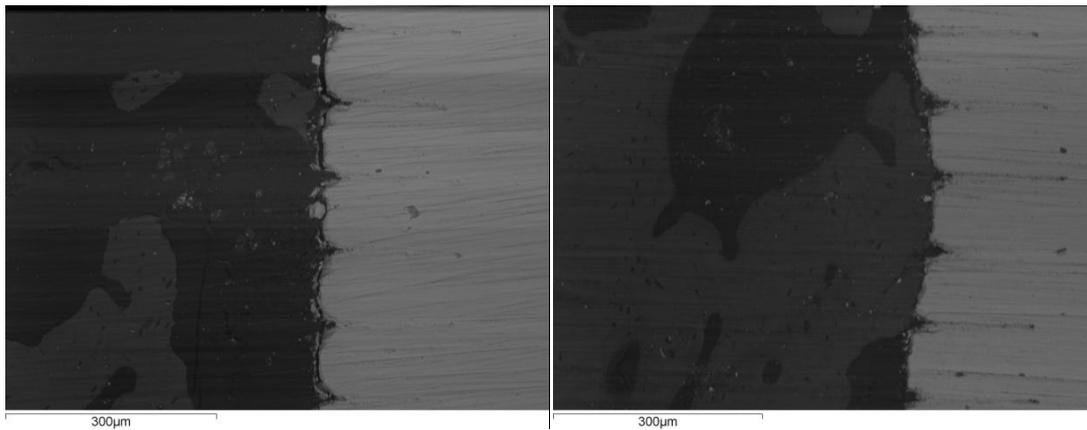


Figura 49. Imagen MEB X150 donde se observa el cuello de implantes de Zirconia con microsurcos. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

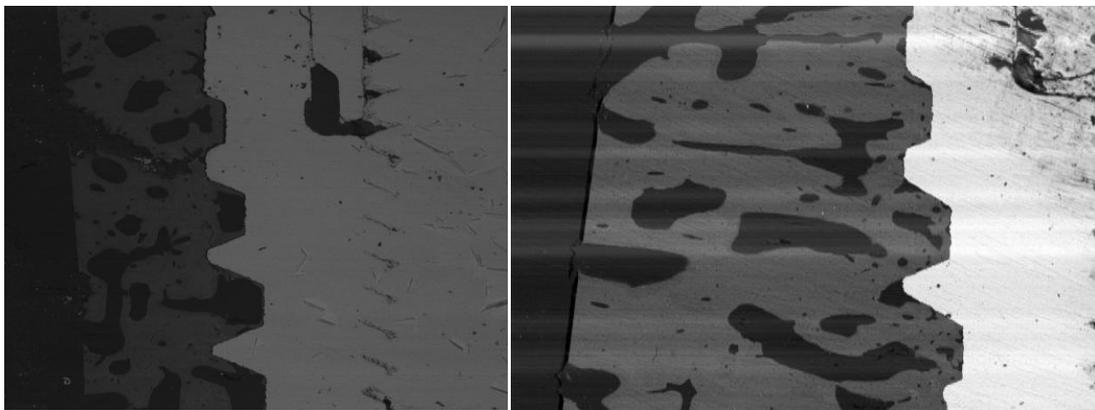


Figura 50. Imagen MEB X20 donde se observa el cuerpo de implantes de Titanio. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

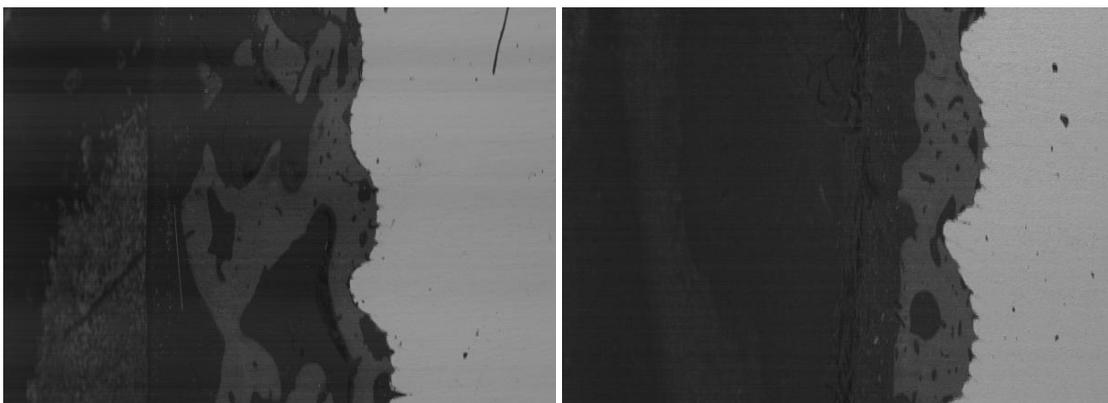


Figura 51. Imagen MEB X20 donde se observa el cuerpo de implantes de Zirconia con microsurcos. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

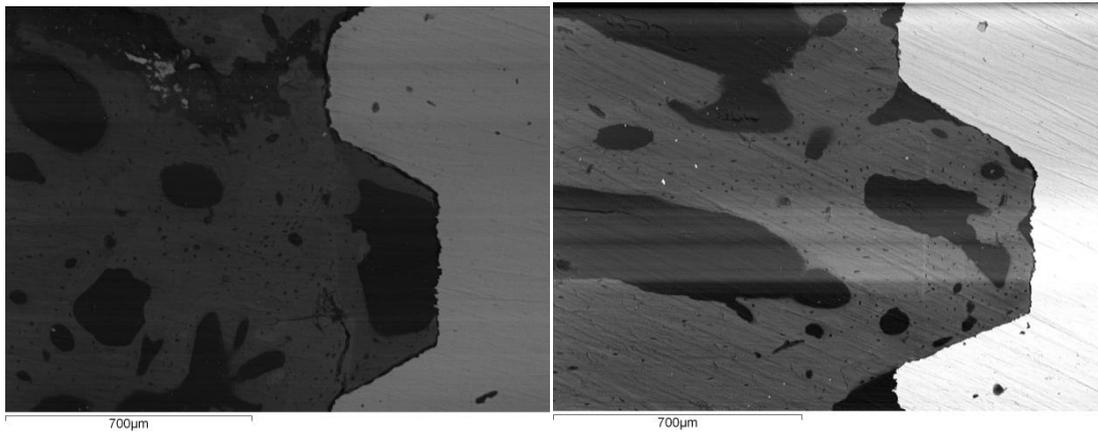


Figura 52. Imagen MEB X75 donde se observa el cuerpo de implantes de Titanio. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

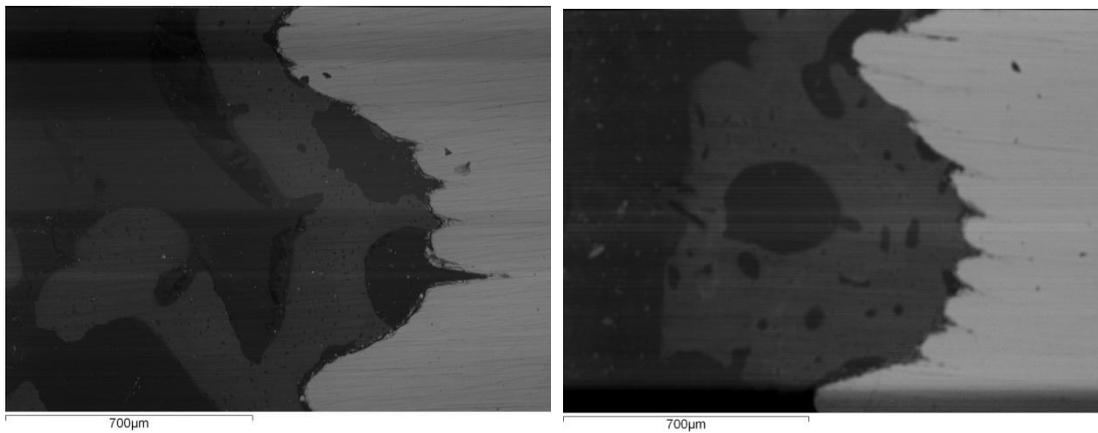


Figura 53. Imagen MEB X75 donde se observa el cuerpo de implantes de Zirconia con microsurcos. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

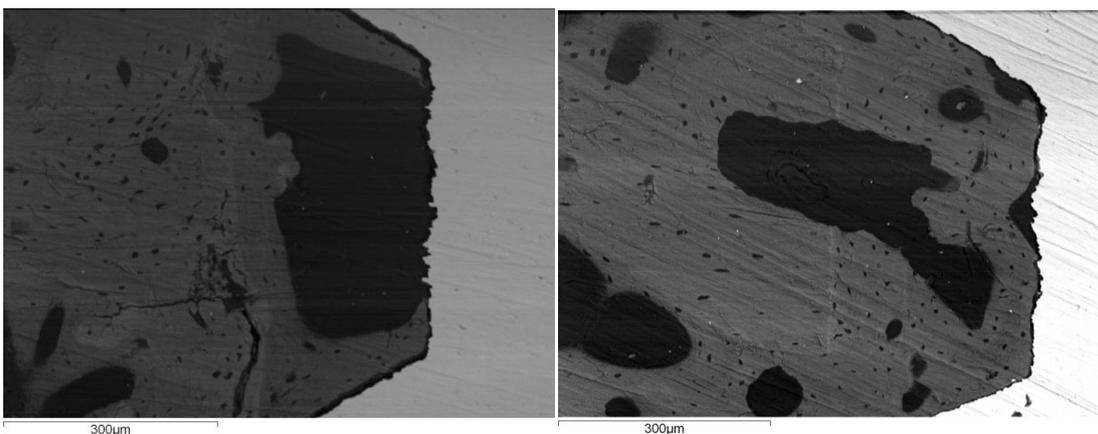


Figura 54. Imagen MEB X150 donde se observa el cuerpo de implantes de Titanio. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

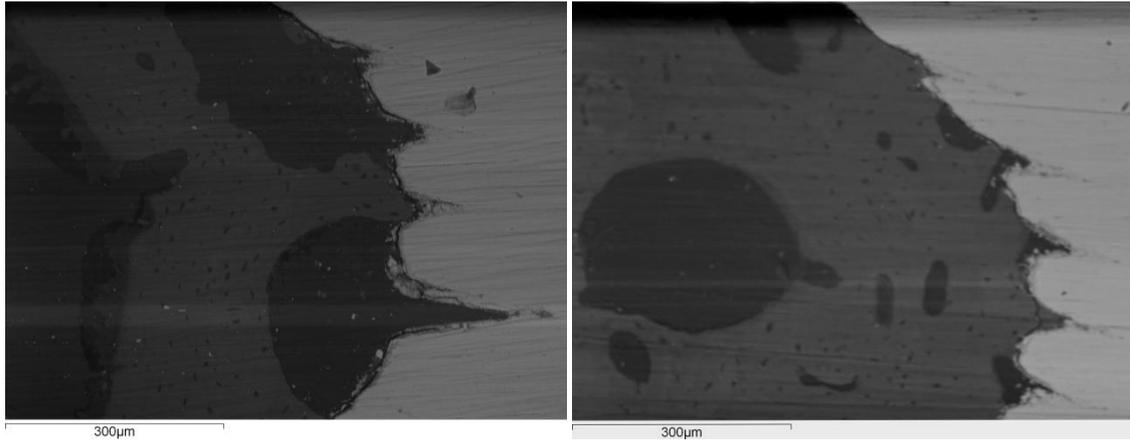


Figura 55. Imagen MEB X150 donde se observa el cuerpo de implantes de Zirconia con microsuros. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

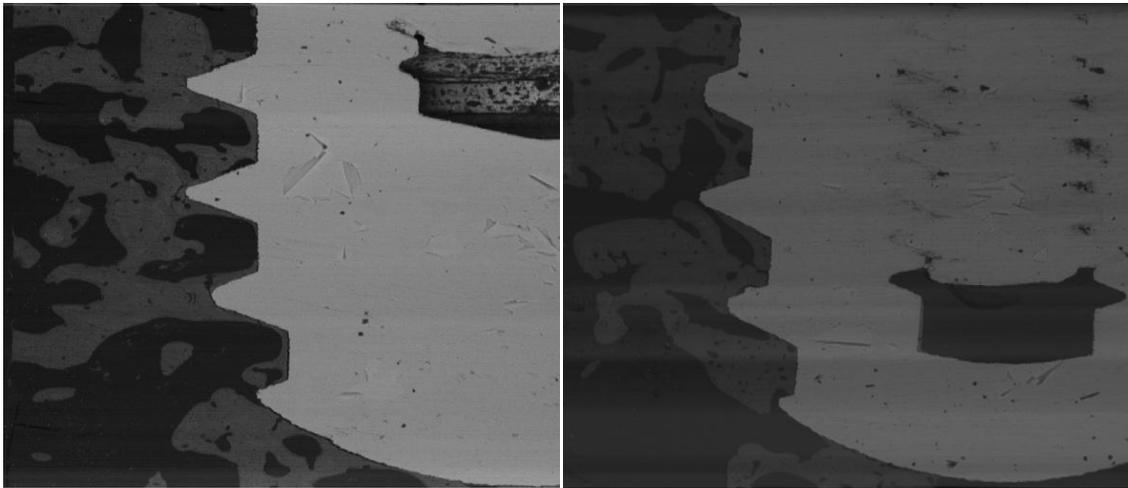


Figura 56. Imagen MEB X20 donde se observa el ápice de implantes de Titanio. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

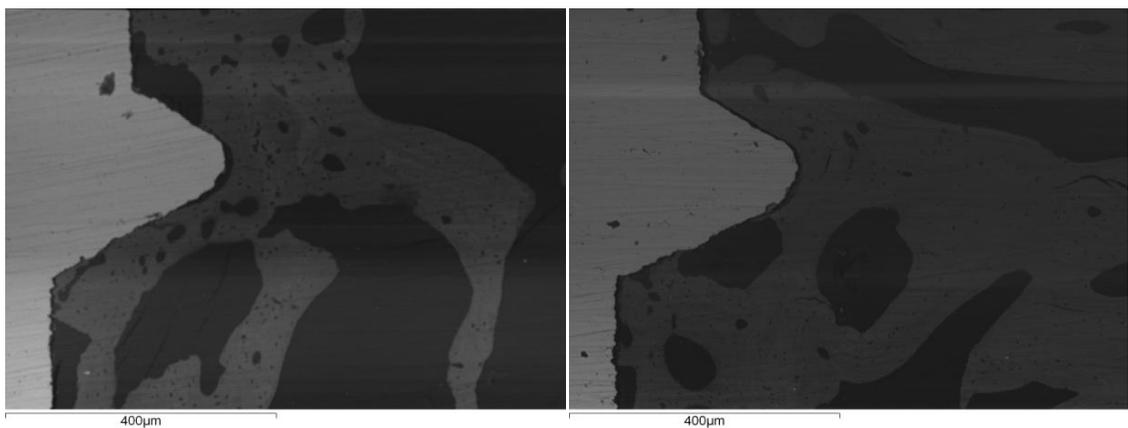


Figura 57. Imagen MEB X75 donde se observa el ápice de implantes de Titanio. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

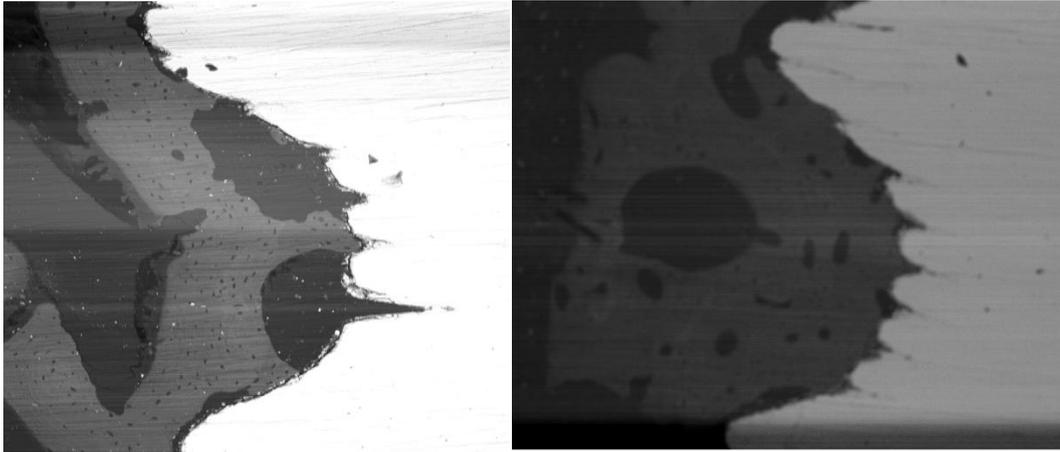


Figura 58. Imagen MEB X75 donde se observa el ápice de implantes de Zirconia con microsurcos. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

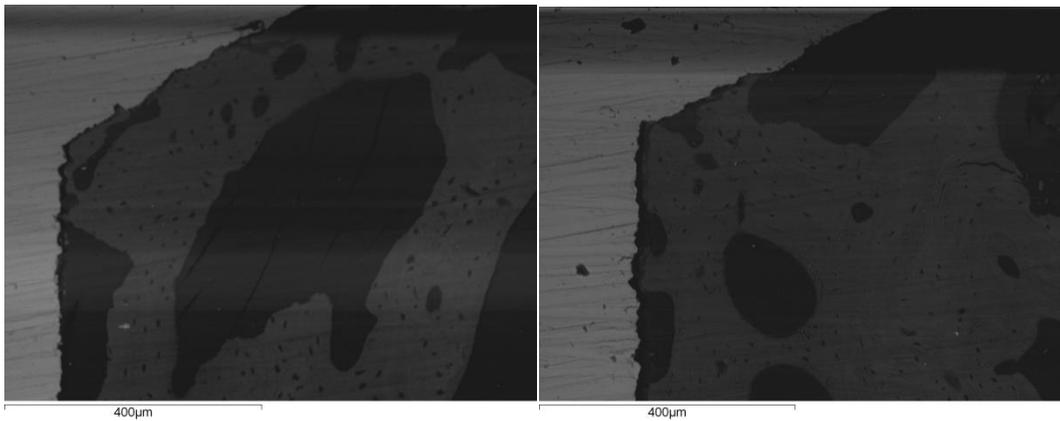


Figura 59. Imagen MEB X150 donde se observa el ápice de implantes de Titanio. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

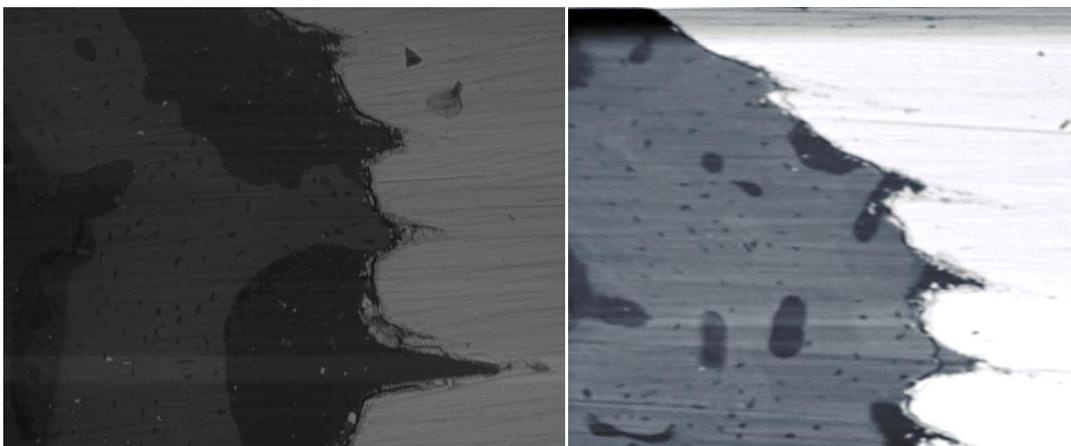


Figura 60. Imagen MEB X150 donde se observa el ápice de implantes de Zirconia con microsurcos. Izquierda a 1 mes de estudio, derecha a 3 meses de estudio.

El análisis de los elementos se llevará a cabo por Energía Dispersiva de Rayos X (EDX) usando un sistema Oxford INCA 300.

Se identificaron y se realizaron mediciones entre la segunda y tercera espira de cada implante a nivel de la interfase hueso-implante. Parámetros 15 kV, magnificación de 75X, en modo microanálisis (**Figuras 61 y 62**). Los resultados obtenidos los expresamos en porcentaje en peso de elementos presentes en la superficie del material.

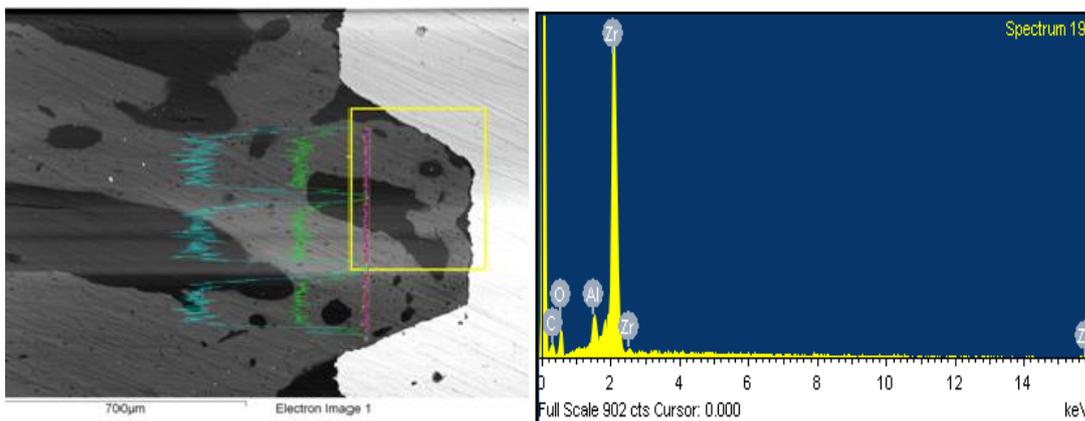


Figura 61. Imagen MEB de implante Titanio (control).Magnificación x75. Gráfico del espectro de elementos presentes representando con picos los topes máximos y mínimos así: Ti: Titanio, O: Oxígeno, Ca: Calcio, P: Fósforo.

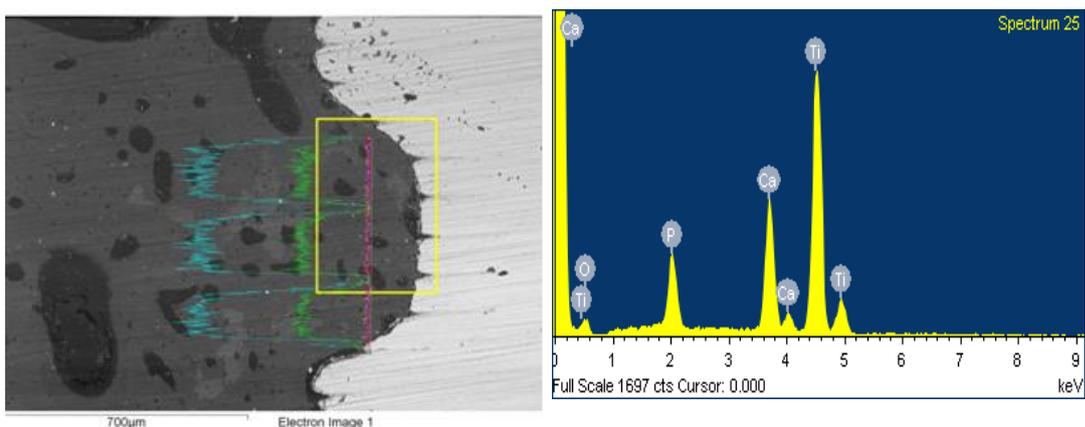


Figura 62. Imagen MEB de implante Titanio (control).Magnificación x75. Gráfico del espectro de elementos presentes representando con picos los topes máximos y mínimos así: Zr: Zirconio, O: Oxígeno, C: Carbono, Al: Aluminio.

4.2.9 Métodos de análisis cuantitativo del contacto hueso-implante

El contacto hueso-implante (BIC) para cada sección histológica se calculó mediante la cuantificación de la longitud de la superficie del implante en contacto con el tejido óseo en comparación con la longitud de la superficie del implante total, expresado como porcentaje.

Para esta evaluación, el porcentaje de contacto directo entre hueso mineralizado y superficie de Titanio/Zirconia fue determinado por intersección contando dentro de la zona de roscas. Los porcentajes de contacto-hueso-implante (BIC) fueron calculados alrededor de todo el perímetro del implante, desde el primer contacto-hueso-implante, es decir, la parte más coronal, evaluando el hueso mineralizado en contacto directo con la superficie del implante de manera lineal. Las muestras, una vez preparadas como hemos mencionado en uno de los apartados previos, fueron preparadas para su observación al microscopio óptico mediante una tinción de azul de toluidina.

EL análisis histomorfométrico se realizó con una cámara de vídeo (Sony 3CCD, Berlín, Alemania) con un aumento de 10x. Las imágenes fueron digitalizadas (Axiophot-System, Zeiss) y se fijaron y midieron los puntos de referencia (**Figura 63**).

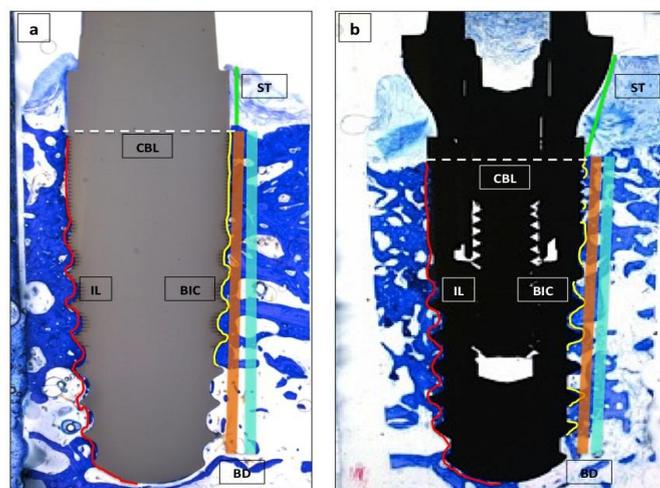


Figura 63. Imágenes microscopio óptico con parámetros de análisis: CBL:nivel hueso crestal; BIC: bone-implant contact; ST: altura de tejido blando; IL: longitud del implante.

4.2.10 Métodos de análisis cuantitativo de la reabsorción ósea crestal

Se llevó a cabo la medida de la altura de hueso crestal a través de las imágenes histológicas mediante una cámara de vídeo (Sony 3CCD, Berlín, Alemania) con un aumento de 10x. Las imágenes fueron digitalizadas (Axiophot-System, Zeiss) y se fijaron y midieron los puntos de referencia (**Figura 64**).



Figura 64. Imágenes histológicas implantes Ti y Zir con magnificación de x10. Parámetro de medida: NHC: nivel de hueso crestal.

El valor de altura de hueso crestal se obtuvo midiendo la distancia desde el hombro de cada implante hasta el primer contacto hueso-implante tanto en los implantes de Zirconia como en los implantes de titanio (control) en los dos periodos de tiempo, como se puede apreciar en la imagen anterior (**Figura 64**).

4.2.11 Métodos de análisis estadístico

Los cálculos se realizaron con el programa SPSS 15® (Chicago, Illinois , USA), con licencia de la Universidad de Murcia. Estableciendo un valor de $p < 0.05$.

Los métodos estadísticos utilizados fueron:

Estadística descriptiva: Media, mediana, desviación estándar y error estándar.

Test de ANOVA de una vía para comparar dos o más grupos de datos.

Post-Hoc test y Post-test de Bonferroni para la comparación de medias entre grupos.

5. RESULTADOS

5.1 Análisis estadístico

5.1.1 Análisis de la estabilidad primaria

5.1.1.1 Estabilidad primaria inicial

En el análisis de la estabilidad primaria inicial (**Tabla 1**), observamos que la media de los valores de Periotest® es inferior en el grupo de los implantes de Zirconia modificados (-6.167) que en el grupo de los implantes de Titanio (-5.250). También podemos observar, en esta tabla que recoge los datos del análisis de la estabilidad primaria inicial, que las desviaciones estándar para ambos grupos son similares (Zir: 0.7178; Ti: 0.866); sin embargo, vemos que el valor mínimo obtenido de todas las medidas de la estabilidad primaria inicial para ambos grupos se encuentra en el grupo de Zirconia (-7) y el valor máximo se encuentra en el grupo del Titanio (-4).

Grupo	N	Media	Desviación estándar	Error estándar de la media	Mediana	Mínimo	Máximo	95% intervalo de confianza Límite inferior	95% intervalo de confianza Límite superior
Zir Día 0	12	-6.167	0.7178	0.207	-6	-7	-5	-6.623	-5.711
Ti Día 0	12	-5.250	0.866	0.250	-5.5	-6	-4	-5.8	-4.7

Tabla 1. Valores de Periotest® (PTVs) en ambos grupos el día 0 (Inserción de los implantes).

5.1.1.2 Estabilidad secundaria en 1 y 3 meses

De las medias obtenidas en los distintos periodos para ambos grupos, podemos observar que el valor más alto se ha encontrado el día 0 en los implantes de Titanio (**Tabla 1**), con una media de PTVs de -5.250; por el contrario, el valor más bajo de la media lo encontramos en los implantes de Zirconia a 1 mes (**Tabla 2**), con una media de PTVs de -6.833. Si observamos las

Tablas 1,2 y 3, vemos como la media de los valores de Periotest® son siempre más altos en el grupo de los implantes de Titanio con respecto a los implantes de Zirconia.

Otro aspecto a destacar es que los valores de Periotest® en las mediciones realizadas a 1 mes son inferiores a las realizadas el día de la inserción de los implantes (**Tablas 1 y 2**). Por el contrario, al observar las medias de PTVs obtenidas el tercer mes (**Tabla 3**), vemos como aumentan o permanecen estables con respecto a las medias obtenidas en el primer mes (**Tabla 2**).

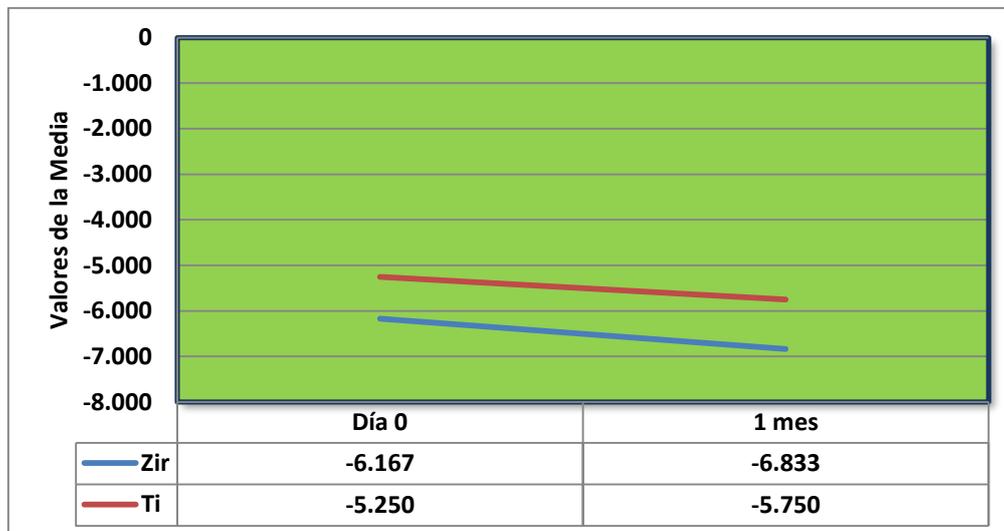
También podemos observar como las desviaciones estándar más grandes las encontramos en la mediciones realizadas a los tres meses para ambos grupos (Zir: 1.505; Ti: 1.422), como podemos observar en la **Tabla 3**.

Grupo	N	Media	Desviación estándar	Error estándar de la media	Mediana	Mínimo	Máximo	95% intervalo de confianza Límite inferior	95% intervalo de confianza Límite superior
Zir 1mes	12	-6.833	0.7177	0.2072	-7.000	-8.000	-6.000	-7.289	-6.377
Ti 1mes	12	-5.750	0.7538	0.2176	-6.000	-7.000	-5.000	-6.229	-5.271

Tabla 2. Valores de Periotest® en ambos grupos a 1 mes de la inserción de los implantes.

Grupo	N	Media	Desviación estándar	Error estándar de la media	Mediana	Mínimo	Máximo	95% intervalo de confianza Límite inferior	95% intervalo de confianza Límite superior
Zir 3mes	12	-6.583	1.505	0.4345	-7.000	-8.000	-3.000	-7.540	-5.627
Ti 3mes	12	-5.750	1.422	0.4106	-6.000	-7.000	-2.000	-6.654	-4.846

Tabla 3. Valores de Periotest® en ambos grupos a 3 meses de la inserción de los implantes.



Gráfica 1. Se observan los valores de la media de Periotest® el día 0 y a 1 mes en ambos grupos

En el gráfico anterior (**Gráfica 1**), podemos observar una representación en la que se muestran los datos anteriormente citados. Cabe destacar, como hemos mencionado anteriormente, que la media de los valores de Periotest® en el Titanio se mantienen por encima de los del óxido de Zirconio. También podemos observar como los valores de las medias disminuyen comparando la estabilidad primaria inicial con la estabilidad secundaria de los implantes a 1 mes.



Gáfica 2. Se observan los valores de la media de Periotest® el día 0 y a 1 mes en ambos grupos.

En el gráfico anterior (**Gráfica 2**). Podemos observar, como hemos mencionado anteriormente, que la media de los valores de Periotest® en el Titanio se mantienen por encima de los del óxido de Zirconio también en las medidas a los 3 meses. También podemos observar como los valores de las medias disminuyen comparando la estabilidad primaria inicial con la estabilidad secundaria de los implantes a 3 meses.

Sin embargo, si comparamos la **Gráfica 1 y la Gráfica 2**, vemos como las medias de los PTVs aumentan ligeramente en las medidas al tercer mes con respecto a las medidas al segundo mes.

5.1.1.3 Comparaciones múltiples de la estabilidad primaria inicial y secundaria. Test de Bonferroni

Tras el cálculo de las medias de los valores de Periotest® se procedió a la realización de la comparación de las medias obtenidas mediante la aplicación del test de comparaciones múltiples Bonferroni, como podemos observar en la **Tabla 4**.

Se compararon las medias entre ambos grupos en el día de la inserción de los implantes (estabilidad primaria inicial) y, a uno y tres meses (estabilidad secundaria) respectivamente. Estableciéndose las diferencias significativas si el valor de p era menor a 0.05 para lo cual el valor de t debía ser superior a 2.469.

Si observamos la **Tabla 4**, vemos que las para la diferencias de medias con respecto a la estabilidad primaria inicial (Día 0) entre ambos grupos, se obtiene un valor de $t = 1.992$. Por lo que no hay diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las medias de PTVs de ambos grupos (Titanio y Zirconio modificado con microsurcos). Aunque, como hemos comentado anteriormente, la media de PTVs en el grupo de implantes de Zirconia es ligeramente inferior, aunque no de manera significativa. Por tanto, ambos implantes se comportan de manera similar en cuanto a la estabilidad primaria inicial.

Con respecto a la estabilidad secundaria de los implantes, cuando comparamos las medias de PTVs en ambos grupos, vemos que tampoco se encuentran diferencias significativas ($p>0.05$), ni en las medias obtenidas a un mes ($t=2.354$), ni en las medias obtenidas a tres meses ($t=1.811$). Con lo que nuevamente, ambos tipos de implantes siguen comportándose de manera similar, sin diferencias significativas, en cuanto a su estabilidad secundaria.

Periodo	Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Valor de t	Valor de p	95% intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
Día 0	PTV	Zir	Ti	-0.9167	1.992	$p>0.05$	-2.053	0.2197
1 mes	PTV	Zir	Ti	-1.083	2.354	$p>0.05$	-2.220	0.05308
3 meses	PTV	Zir	Ti	-0.8333	1.811	$p>0.05$	-1.970	0.3031

Tabla 4. Prueba estadística Bonferroni para la variable Valores de Periotest®(PTVs). Nivel de significación $\alpha=0.05^*$.

5.1.2 Análisis de elementos mediante Espectrometría Dispersiva de Rayos X (EDX) en la interfaz hueso-implante

5.1.2.1 Estadística descriptiva

La mayor media de %C la encontramos en el grupo de implantes de Titanio a un mes (15.776%), por el contrario la menor media de %C la encontramos en el grupo de Titanio a tres meses (11.686%) (Tabla 5).

Si comparamos en la **Tabla 5**, el %C a uno y tres meses en ambos grupos, vemos que en el Titanio el %C disminuye de 15.776% a 11.686% respectivamente. Sin embargo, en el grupo de implantes de Zirconia, ocurre lo contrario, aumenta desde 12.529% a 13.485%.

	%C Ti 1mes	%C Ti 3meses	%C Zir 1mes	%C Zir 3 meses
N	12	12	12	12
Media	15.776	11.686	12.529	13.485
Desv. Estándar	0.3824	0.6862	0.5289	0.8032
Error estándar	0.1104	0.1981	0.1527	0.2319
Mediana	15.900	11.685	12.625	13.455
Mínimo	15.230	10.180	11.650	12.330
Máximo	16.450	12.870	13.430	14.520
Límite inferior 95% confianza	15.533	11.250	12.193	12.975
Límite superior 95% confianza	16.019	12.122	12.865	13.995

Tabla 5. Porcentaje de Carbono en los distintos grupos y periodos del estudio.

Si observamos la **Tabla 6**, vemos que la mayor media de porcentaje de Oxígeno (%O) la encontramos en el grupo de implantes de Titanio a tres meses (14.978%), por el contrario la menor media de %O la encontramos en el grupo de Titanio a un mes (12.277%).

Al comparar en dicha tabla, el porcentaje de O a uno y tres meses en ambos grupos, podemos observar que se produce un incremento en ambos grupos del porcentaje de Oxígeno, aunque el mayor incremento se produce en el grupo de implantes de Titanio (de 12.277% a un mes hasta un 14.978% a tres meses).

	%O Ti 1mes	%O Ti 3meses	%O Zir 1mes	%O Zir 3 meses
N	12	12	12	12
Media	12.277	14.978	12.347	12.508
Desv. Estándar	0.4546	0.4698	0.4574	0.3868
Error estándar	0.1312	0.1356	0.1320	0.1116
Mediana	12.385	14.935	12.540	12.670
Mínimo	11.610	13.920	11.520	11.820
Máximo	12.850	15.640	12.860	12.860
Límite inferior 95% confianza	11.988	14.680	12.056	12.263
Límite superior 95% confianza	12.566	15.277	12.637	12.754

Tabla 6. Porcentaje de Oxígeno en los distintos grupos y periodos del estudio.

En la **Tabla 6**, se representan los valores de porcentaje de Fósforo (%P) en los dos grupos de estudio para los dos periodos de tiempo, uno y tres meses. El mayor % de P lo encontramos en el grupo de Titanio a 3 meses (4.2525%), sin embargo es también en el grupo de Titanio, pero a un mes (3.768%), donde encontramos el menor porcentaje de P.

En ambos grupos se produce un aumento del porcentaje de P si comparamos dichos porcentajes a uno y tres meses (**Tabla 7**), sin embargo es en el grupo de Titanio donde se produce el mayor incremento (desde 3.768% hasta 4.2525%).

	%P Ti 1mes	%P Ti 3meses	%P Zir 1mes	%P Zir 3 meses
N	12	12	12	12
Media	3.768	4.2525	3.853	3.911
Desv. Estándar	0.1937	0.3709	0.4579	0.2994
Error estándar	0.05592	0.1071	0.1322	0.08643
Mediana	3.780	4.300	3.720	3.910
Mínimo	3.480	3.650	3.450	3.490
Máximo	4.030	4.770	4.810	4.350
Límite inferior 95% confianza	3.644	4.017	3.562	3.721
Límite superior 95% confianza	3.891	4.488	4.143	4.101

Tabla 7. Porcentaje de Fósforo en los distintos grupos y periodos del estudio.

En cuanto al porcentaje de Calcio, podemos observar que el mayor porcentaje de Calcio se da en el grupo de implantes de Titanio a 3 meses (**Tabla 8**), 17.007%. Por el contrario, el menor porcentaje de Calcio, lo observamos en el grupo de implantes de Zirconia (15.967%).

Otro aspecto a destacar es que en ambos grupo se produce un aumento del porcentaje de Calcio si observamos las medias de uno a tres meses (**Tabla 8**). Sin embargo, el aumento es levemente superior en el grupo de Titanio (desde 16.248% hasta 17.007%) en comparación con el grupo de Zirconia (desde 15.967% hasta 16.348%).

	%Ca Ti 1mes	%Ca Ti 3meses	%Ca Zir 1mes	%Ca Zir 3 meses
N	12	12	12	12
Media	16.248	17.007	15.967	16.348
Desv. Estándar	0.4426	0.4479	0.8780	1.093
Error estándar	0.1278	0.1293	0.2535	0.3156
Mediana	16.230	17.065	15.905	16.420
Mínimo	15.710	16.230	14.760	14.790
Máximo	16.870	17.660	17.270	17.580
Límite inferior 95% confianza	15.966	16.722	15.409	15.654
Límite superior 95% confianza	16.529	17.291	16.525	17.043

Tabla 8. Porcentaje de Calcio en los distintos grupos y periodos del estudio.

El porcentaje de Titanio en los implantes se sitúa entre un 51.93% y un 48.33% (Tabla 9). Del mismo modo, el porcentaje de Zirconia se encuentra en torno a un 50% (Tabla 10) para ambos periodos de tiempo.

	% Ti 1mes	% Ti 3meses
N	12	12
Media	51.933	48.327
Desv. Estándar	0.6276	0.4572
Error estándar	0.1812	0.1320
Mediana	51.680	48.320
Mínimo	50.910	47.540
Máximo	52.850	49.130
Límite inferior 95% confianza	51.534	48.036
Límite superior 95% confianza	52.331	48.617

Tabla 9. Porcentaje de Titanio en el grupo de los implantes de Titanio en los dos periodos del estudio.

	% Zir 1mes	% Zir 3meses
N	12	12
Media	50.839	49.336
Desv. Estándar	1.028	0.7124
Error estándar	0.2967	0.2056
Mediana	51.085	49.330
Mínimo	49.290	48.410
Máximo	52.320	50.320
Límite inferior 95% confianza	50.186	48.883
Límite superior 95% confianza	51.492	49.788

Tabla 10. Porcentaje de Zirconia en el grupo de los implantes de Zirconia en los dos periodos del estudio.

En cuanto al porcentaje de Ytrio, éste se encuentra en torno a un 3% de media para ambos periodos de tiempo (**Tabla 11**). El Hafnio se encuentra en un porcentaje menor que el Ytrio (**Tabla 12**), pero similar en ambos periodos de tiempo (1.5%).

	% Hf 1mes	% Hf 3meses
N	12	12
Media	1.500	1.483
Desv. Estándar	0.1348	0.1899
Error estándar	0.03892	0.05482
Mediana	1.500	1.500
Mínimo	1.300	1.200
Máximo	1.700	1.800
Límite inferior 95% confianza	1.414	1.363
Límite superior 95% confianza	1.586	1.604

Tabla 11. Porcentaje de Hafnio en el grupo de los implantes de Zirconia en los dos periodos del estudio.

	% Y 1mes	% Y 3meses
N	12	12
Media	2.966	2.928
Desv. Estándar	0.1992	0.1422
Error estándar	0.05752	0.04106
Mediana	3.010	2.945
Mínimo	2.630	2.720
Máximo	3.210	3.150
Límite inferior 95% confianza	2.839	2.838
Límite superior 95% confianza	3.092	3.019

Tabla 12. Porcentaje de Ytrio en el grupo de los implantes de Zirconia en los dos periodos del estudio.

5.1.2.2 Comparaciones múltiples del análisis de elementos químicos. Test de Bonferroni

Tras hacer el análisis descriptivo, se procedió a la realización de la comparación de medias entre los elementos comunes encontrados en ambos grupos, mediante la aplicación del test de comparaciones múltiples Bonferroni. Exceptuando los elementos Titanio, Zirconia, Hafnio e Ytrio por no encontrarse en ambos grupos.

En la realización del test se estableció que si el valor de t era superior a 2.763, entonces $p < 0.05$ y, por tanto las diferencias serían significativas.

En la **Tabla 13**, podemos observar la comparación de medias en los elementos Carbono y Oxígeno. Con respecto al porcentaje de Carbono, vemos que las diferencias entre ambos grupos son significativas ($p < 0.05$), tanto en la comparación entre ambos grupos a un mes, como a tres meses. Por tanto, podemos decir que en el grupo de Zirconia, el porcentaje de Carbono es significativamente menor a un mes con respecto al Titanio, pero significativamente mayor a tres meses.

Por el contrario, en el elemento Oxígeno, no hay diferencias significativas entre las medias de ambos grupos a un mes ($p > 0.05$), pero a tres meses en el grupo de Zirconia hay una media significativamente menor ($p < 0.05$) de Oxígeno (**Tabla 13**).

Periodo	Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Valor de t	Valor de p	95% intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
1 mes	%C	Ti	Zir	3.247	12.809*	P<0.05*	2.546	3.947
3 meses	%C	Ti	Zir	-1.799	7.098*	P<0.05*	-2.499	-1.099
1 mes	%O	Ti	Zir	-0.07000	0.3868	P>0.05	-0.5700	0.4300
3 meses	%O	Ti	Zir	2.470	13.648*	P<0.05*	1.970	2.970

Tabla 13. Prueba estadística Bonferroni para la variables %C y %O. Nivel de significación $\alpha=0.05^*$.

Para los elementos Fósforo y Calcio se realizó de nuevo el test de comparaciones múltiples Bonferroni, estableciendo que si el valor de t era superior a 2.321, entonces $p < 0.05$ y, por tanto las diferencias serían significativas.

Si analizamos las diferencias de medias para el elemento Fósforo entre ambos grupos (**Tabla 14**), vemos que las diferencias entre ambos grupos en el primer mes de estudio no son significativas ($P > 0.05$). Sin embargo, al comparar ambos grupos en el tercer mes de estudio, vemos que la media del elemento Fósforo es significativamente mayor ($p < 0.05$) en el grupo de Titanio con respecto al grupo de implantes de Zirconia.

En relación al elemento Calcio, vemos que en ambos periodos de estudio, las diferencias no son significativas ($P > 0.05$).

Periodo	Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Valor de t	Valor de p	95% intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
1 mes	%P	Ti	Zir	-0.08500	0.6046	$P > 0.05$	-0.4113	0.2413
3 meses	%P	Ti	Zir	0.3417	2.430*	$P < 0.05$ *	0.01539	0.6679
1 mes	%Ca	Ti	Zir	0.2808	0.8951	$P > 0.05$	-0.4473	1.009
3 meses	%Ca	Ti	Zir	0.6583	2.098	$P > 0.05$	-0.06975	1.386

Tabla 14. Prueba estadística Bonferroni para la variables %P y %Ca. Nivel de significación $\alpha = 0.05$ *.

5.1.3 Contacto hueso-implante (CHI)

5.1.3.1 Estadística descriptiva

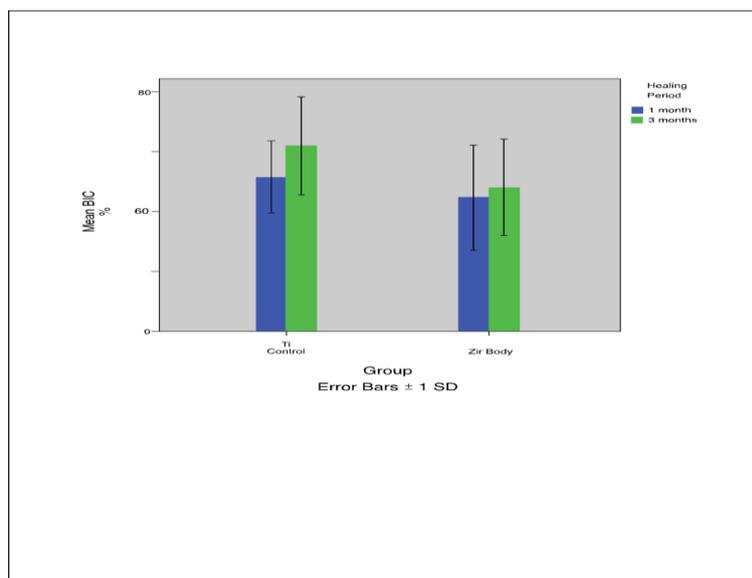
En cuanto a los valores de BIC en este estudio, vemos, tras el análisis histológico, una media de contacto hueso-implante en los implantes de Titanio de $51.36\% \pm 12,03\%$ a un mes de estudio, y una media de $61.73\% \pm 16,27\%$ a tres meses de estudio (**Tabla 15**).

En cuanto a los implantes de Zirconia modificados mediante láser de femtosegundo, vemos una media de $44.68\% \pm 17,66\%$ durante el primer mes; y una media de BIC de $47.94\% \pm 16,15\%$ durante los 3 meses de estudio (**Tabla 15**).

Grupo	Periodo de cicatrización	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
TI Contol	1 mes	12	32.73	67.21	51.3577	12.03358
TI Contol	3 meses	12	38.09	85.28	61.7288	16.27184
Zir Body	1 mes	12	16.94	76.45	44.6819	17.65768
Zir Body	3 meses	12	28.64	66.06	47.9423	16.15423

Tabla 15. Valores de % de BIC en los dos tipos de implantes del estudio (Ti y Zir.) y en los dos períodos de tiempo (un mes y tres meses).

Como podemos observar en la gráfica siguiente (**Gráfica 3**), estos valores aumentan en los dos grupos de implantes si los comparamos en el primer mes y en el tercer mes de estudio.



Gráfica 3. Se expresa la media y desviación estándar del % de BIC en cada grupo y periodo de tiempo.

En el Titanio, el porcentaje de BIC aumenta de 51.36% a 61.73% en el primer y tercer mes respectivamente. Del mismo modo, en el grupo de Zirconia también se produce un aumento desde 44.68% hasta un 47.94% (**Gráfica 3**).

5.1.3.2 ANOVA y Test de comparaciones múltiples Bonferroni y Post-Hoc para el contacto hueso-implante

Con respecto a la prueba ANOVA aplicada para la variable porcentaje de BIC, vemos en la **Tabla 16**, que, tanto para el grupo de implantes de Titanio como para el grupo de implantes de Zirconia modificados mediante láser de femtosegundo, no hay diferencias significativas ($p > 0.05$) en los dos períodos de tiempo del estudio (Ti $p = 0.09$; Zir $p = 0.749$).

GRUPO	SUMA DE LOS CUADRADOS	DF	LA MEDIDA DEL CUADRADO	F	SIGNIFICACIÓN
Ti (Control)	882.980	2	441.490	2.710	0.090
Zir Body	154.295	2	77.147	0.294	0.749

Tabla 16. ANOVA BIC %: ENTRE LOS GRUPOS. Nivel de significación $\alpha = 0.05^*$.

Tras la realización de la prueba estadística ANOVA, se procedió a la realización de las pruebas de comparación múltiple no paramétricas Bonferroni y Post-Hoc, estableciendo para ambas un nivel de significación de $\alpha = 0.05$ con el objetivo de comparar las diferencias de medias entre los dos grupos de estudio y los distintos periodos de tiempo.

Primeramente se comparó la variación en el porcentaje de BIC según el periodo de tiempo, mediante el test de comparaciones múltiples Bonferroni, en ambos grupos de manera independiente (**Tabla 17**).

Respecto al grupo de implantes de Zirconia, se obtuvo un nivel de significación de $p = 1$ al comparar este grupo en los dos períodos de tiempo (**Tabla 17**). Por tanto, la variación que se observa en este grupo desde un 44.68% a un mes hasta un 47.84% a tres meses en el BIC no es significativa, aunque es mayor a tres meses (consecuencia del proceso de oseointegración de dichos implantes).

Por otro lado, en el grupo de Titanio se obtuvo un nivel de significación de $p=0.357$ para el grupo de implantes de Titanio en relación al porcentaje de BIC al comparar este grupo a uno y tres meses de estudio (**Tabla 17**). De manera que el aumento que se produce en el BIC desde un 51.36% hasta un 61.73% no se puede considerar significativa, aunque, como en el grupo anterior, es mayor a los tres meses, coincidiendo con la evolución en el proceso de oseointegración.

Grupo	Variable dependiente	(I) Periodo de Cicatrización	(J) Periodo de Cicatrización	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Nivel de significación	95%-intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
Ti(Control)	BIC %	1 mes	3 meses	-10.371	6.381	0.357	-26.97	6.23
Zir Body	BIC %	1mes	3 meses	-3.260	8.754	1.000	-26.36	19.84

Tabla 17. Test de Bonferroni para la variable % de BIC. Nivel de significación $\alpha=0.05^*$.

Por otro lado, también se analizaron las variaciones en el BIC por periodo de tiempo entre ambos grupos mediante el Test de comparaciones múltiples Post-Hoc (**Tabla 18**).

Se observó que a un mes de estudio, aunque el grupo de implantes de Titanio tiene un porcentaje de BIC mayor con respecto al grupo de Zirconia (Ti: 51.36%; Zir: 44.68%), no hay diferencias significativas entre ambos grupos ($p=1$), por tanto ambos implantes se comportan de manera similar en las primeras fases de oseointegración (**Tabla 18**).

Del mismo modo, se pudo observar que, para el período de tiempo de 3 meses, aunque el Titanio sigue teniendo un mayor % de BIC con respecto al grupo de Zirconia (Ti: 61.73%; Zir: 47.94%), tampoco existían diferencias significativas ($p=0.678$) entre las medias de ambos grupos (**Tabla 18**).

Por tanto, en el tiempo de este estudio, tanto los implantes de Titanio como los implantes de Zirconia modificados mediante láser de femtosegundo, se oseointegran de manera similar sin que haya diferencias significativas para esta variable. Por tanto, clínicamente podemos afirmar que la realización de microsurcos en la parte intraósea de los implantes de Zirconia es equiparable a los tratamientos de superficie (grabado ácido y arenado) en los implantes de Titanio.

Periodo de cicatrización	Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Nivel de Significación	95% intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
1 mes	BIC %	TI Contol	Zir Body	6.676	8.451	1.000	-17.72	31.07
3 meses	BIC %	TI Contol	Zir Body	13.786	8.318	0.678	-10.56	38.13

Tabla 18. Test de Post-Hoc para la variable % de BIC. Nivel de significación $\alpha=0.05^*$.

5.1.4 Nivel de hueso crestral peri-implantario

5.1.4.1 Estadística descriptiva

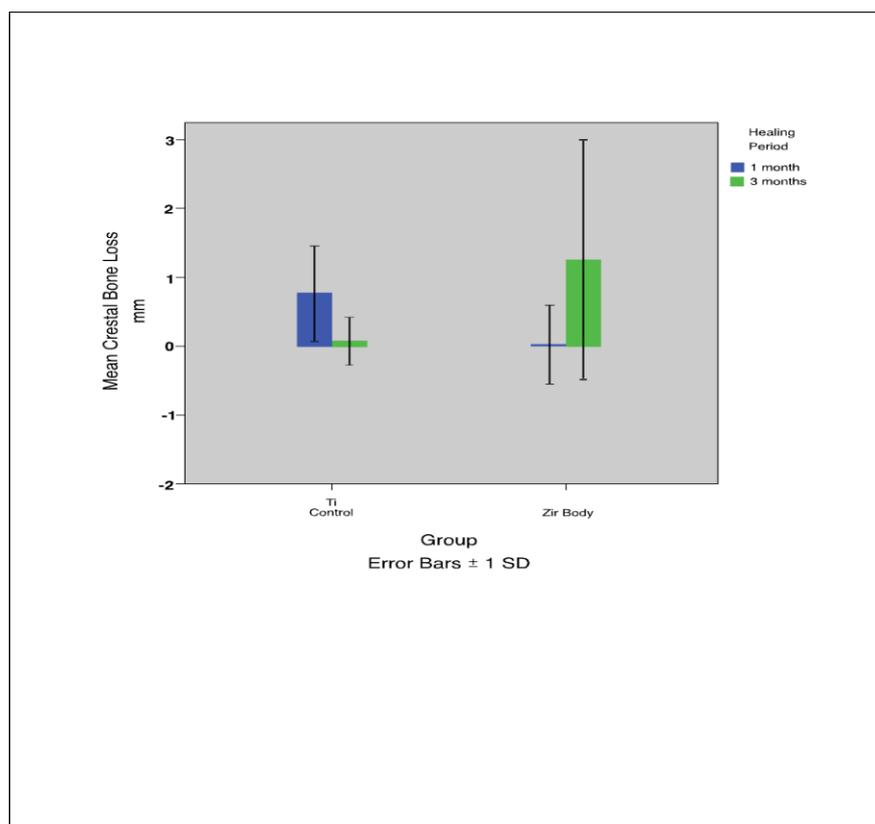
En cuanto a la variación de hueso crestral periimplantario, obtenida desde el cuello de los implantes hasta el primer contacto hueso implante (BIC), vemos los siguientes resultados, que pueden observarse en la **Tabla 19** a continuación.

Grupo	Periodo de cicatrización	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
TI_Contol	1 mes	12	-0.11	1.80	0.7693	0.69107
TI_Contol	3 meses	12	-0.34	0.59	0.0728	0.34128
Z-Body	1 mes	12	-0.67	1.02	0.0135	0.56662
Z-Body	3 meses	12	-0.78	3.50	1.2532	1.73168

Tabla 19. Valores de reabsorción de hueso crestral periimplantario.

Como se puede observar (**Tabla 19**), los valores de reabsorción crestal son más elevados durante el primer mes de estudio en el grupo de Titanio ($Ti: 0,77\text{mm} \pm 0.69\text{mm} > Ti: 0.07\text{mm} \pm 0.34\text{mm}$). En el grupo de implantes de Zirconia, parece que la reabsorción de hueso crestal es mayor al tercer mes que al primero ($Zir: 0.01\text{mm} \pm 0.57\text{mm} < Zir: 1.25\text{mm} \pm 1.73\text{mm}$), pero la desviación estándar al tercer mes es similar a la media obtenida en las mediciones.

También hemos de destacar que los valores de menor reabsorción ósea crestal, los obtenemos en el grupo de implantes de Zirconia a un mes ($Zir: 0.01\text{mm} \pm 0.57\text{mm}$). Sin embargo, también es en este grupo donde podemos observar la mayor pérdida ósea crestal coincidiendo con el tercer mes de estudio ($Zir: 1.25\text{mm} \pm 1.73\text{mm}$).



Gráfica 4. Se expresa la media y desviación estándar del % de Reabsorción crestal en cada grupo y periodo de tiempo.

En la **Gráfica 4**, podemos observar como en el grupo de los implantes de Titanio, hay una disminución de los valores de pérdida ósea crestral des 0.77mm el primer mes a 0.07mm el tercer mes. Sin embargo, en el grupo de los implantes de Zirconia se produce lo contrario, de una media de 0.01mm a un mes hasta 1.25mm el tercer mes.

5.1.4.2 ANOVA y Test de comparaciones múltiples Bonferroni para la variable pérdida de hueso crestral

Los datos obtenidos tras aplicar la prueba estadística ANOVA para la variable reabsorción de hueso crestral indican un nivel de significación de $p=0.024$ para el grupo implantes de Titanio. Mientras que para el grupo implantes de Zirconia modificados en toda la porción intraósea de los mismos, se alcanza un nivel de significación de $p= 0.133$ (**Tabla 20**).

Por lo tanto, estos datos muestran que en el grupo de implantes de Zirconio para ambos períodos de tiempo (uno y tres meses) no hay diferencias significativas, mientras que para el grupo de implantes de Titanio sí se encuentran diferencias significativas. Lo que indica un mejor comportamiento en el grupo de Zirconia.

GRUPO	SUMA DE CUADRADOS	DE DF	LA MEDIDA F	SIGNIFICACIÓN	
Ti (Control)	2,119	2	1,060	4,496	0,024*
Zir Body	5,278	2	2,639	2,262	0,133

Tabla 20. ANOVA hueso crestral perdido. Nivel de significación $\alpha=0.05^*$.

Tras el análisis ANOVA, se procedió a la realización del Test de comparaciones múltiples Bonferroni, estableciendo que si el valor de t era mayor de 2.605 entonces $p < 0.05$, valor para el cual las diferencias eran significativas.

Primeramente, se analizó la reabsorción de hueso crestral en ambos períodos de tiempo para cada grupo por separado (**Tabla 21**). Se obtuvo un nivel de significación de $p > 0.05$ para el grupo Titanio al comparar la reabsorción de hueso crestral en uno y tres meses de estudio (**Tabla 21**). Por tanto, no existen diferencias significativas ($t = 1.725$; $p > 0.05$) en la pérdida de hueso crestral en el grupo de implantes de Titanio si comparamos las medias obtenidas a uno (0.77mm) y tres meses (0.07mm). Sin embargo en el primer mes la pérdida ósea a nivel crestral es mayor.

En cuanto al grupo de implantes de Zirconia modificados mediante láser de femtosegundo, vemos que existen diferencias significativas en la pérdida de hueso crestral (**Tabla 21**) entre ambos períodos de tiempo ($t = 3.070$; $p < 0.05$). Y, sin embargo, en este grupo la pérdida ósea crestral es mayor en el tercer mes (1.25). Por tanto es el Titanio el que parece tener un mejor comportamiento clínico en cuanto a la reabsorción ósea crestral en relación al tiempo (**Tabla 21**).

Grupo	Variable dependiente	(I) Período de Cicatrización	(J) Período de Cicatrización	Diferencia de medias (I-J)	Valor de t	Valor de p	95%-intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
Ti	Hueso crestral perdido	1 mes	3 meses	0.6965	1.725	$p > 0.05$	-0.36	1.748
Zir Body	Hueso crestral perdido	1mes	3 meses	-1.240	3.070	$P < 0.05^*$	-2.29	-0.1879

Tabla 21. Prueba estadística Bonferroni para la variable Pérdida de hueso crestral en los distintos periodos de tiempo para cada grupo. Nivel de significación $\alpha = 0.05^*$.

Del mismo modo, se compararon las medias de reabsorción entre ambos grupos a un mes primeramente y, a tres meses, como se refleja en la **Tabla 22**. Si comparamos las medias obtenidas de pérdida ósea crestal a un mes entre el grupo Titanio (0.77mm) y el grupo Zirconia (0.01mm), vemos que el valor de $t = 1.872$, por lo que $p > 0.05$ y no hay diferencias significativas, aunque en el grupo Zirconia se pierde menos hueso crestal el primer mes, pero de manera no significativa (**Tabla 22**).

Por otro lado si, comparamos las diferencias de medias entre el grupo Titanio (0.07mm) y el grupo Zirconia (1.25mm), vemos que el valor de $t = 2.923$, por lo que $p < 0.05$. Y, por tanto la pérdida ósea crestal a tres meses es significativamente menor en el grupo de Titanio que en el de Zirconia (**Tabla 22**).

Periodo de cicatrización	Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Valor de t	Valor de p	95%-intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
1 mes	Pérdida de hueso crestal	TI Contol	Zir Body	0.7558	1.872	$p > 0.05$	-0.29	1.808
3 meses	Pérdida de hueso crestal	TI Contol	Zir Body	-1.180	2.923	$P < 0.05^*$	-2.23	-0.1286

Tabla 22. Prueba estadística Bonferroni para la variable Pérdida de hueso crestal entre grupos durante el mismo periodo de tiempo (1 ó 3 meses). Nivel de significación $\alpha = 0.05^*$.

6. DISCUSIÓN

6. Discusión

6.1 Estabilidad primaria

La oseointegración ocurre en dos niveles: primaria y secundaria. La oseointegración primaria está asociada con el compromiso mecánico de un implante y el hueso que le rodea tras la colocación del mismo, mientras que la remodelación ósea y la regeneración subsecuente están asociados con la oseointegración secundaria **(Javed F y Romanos GE 2010)**.

Por lo tanto es en la primera parte de la oseointegración donde la estabilidad primaria tiene más importancia y, es un requisito previo fundamental para el éxito de los implantes en el momento de la inserción y la posterior carga de los mismos. Una estabilidad primaria deficiente es una de las principales causas de fracaso del implante.

Algunos factores que pueden afectar a la estabilidad primaria de los implantes son su diseño y el tipo de superficie. Un implante con un diseño de roscas, como los utilizados en este estudio (tanto los implantes de Ti como los implantes de Zir), minimiza los micromovimientos del mismo durante su función manteniendo la estabilidad primaria del mismo, además aumenta el área superficial del implante, ofreciendo así un mayor compromiso mecánico del implante con el hueso que le rodea (oseointegración primaria) y favoreciendo un mayor porcentaje de contacto hueso-implante **(Hall J y cols. 2005)**.

Las características del tipo de superficie de los implantes también influyen en el proceso de oseointegración. Los estudios han demostrado que una superficie rugosa influye positivamente durante el proceso de oseointegración, promoviendo respuestas celulares favorables así como interacciones adecuadas con la superficie del implante. Una superficie de implante rugosa va a mejorar la estabilidad primaria de los implantes ya que va a aumentar el área de contacto con el hueso de alrededor y, por lo tanto, va a incrementar el

compromiso mecánico con el tejido óseo (**Davies JE 1998**). En concordancia con lo que dice el citado autor, en este estudio no encontramos diferencias significativas entre ambos implantes en cuanto a la estabilidad primaria de los mismo, ya que ambos poseen un tratamiento en su superficie que provoca microrrugosidades en las mismas.

En la actualidad existen dos métodos de medida de la estabilidad primaria (RFA y Periotest®). Sin embargo, **Payer y cols; en 2012**, optaron por utilizar el método de medida Periotest® debido a que en la actualidad la casi totalidad de los implantes de Zirconia son implantes monobloque, lo que imposibilita la separación del pilar protético del mismo implante. Y esto imposibilita la utilización del sistema RFA. Del mismo modo, en este estudio se ha utilizado el sistema de medida de estabilidad primaria Periotest®, ya que los implantes de Zirconia utilizados son implantes monobloque y éste, es el único sistema disponible en la actualidad capaz de realizar mediciones de estabilidad primaria en implantes de este tipo.

Puesto que los otros implantes de Titanio utilizados en este estudio son implantes cuyo pilar protésico es atornillado y no es un diseño monobloque, se decidió la colocación de sus pilares atornillados para favorecer las condiciones de igualdad entre ambos grupos y evitar así errores de medición.

Los valores medios de Periotest® obtenidos en nuestro estudio en los implantes de Titanio disminuyeron desde un valor medio de -5.25 el día de la cirugía, a un valor medio de -5.75 a los tres meses de la cirugía, sin que existan diferencias significativas en esta disminución. Valores más negativos, (posiblemente porque en el presente estudio no fueron cargados oclusalmente los implantes), a los obtenidos por **Moon SY y cols; en 2008**, en su estudio comparativo entre carga inmediata y carga temprana, en el que no encontraron diferencias significativas en ambos periodos de tiempo para los valores de Periotest® en los distintos grupos de estudio y

en el grupo control (implantes sin carga oclusal), situándose los valores de Periotest® entre -3.1 y -3.8 tras 16 semanas de estudio.

Por otro lado, **Noguerol B y cols; en 2006**, analizaron 1084 implantes Bränemark® en 316 pacientes durante 10 años con el objetivo de determinar la precisión del sistema Periotest® comparándolo con el análisis de la oseointegración mediante el uso de radiografías. Éstos llegaron a la conclusión que valores superiores a -2 en la primera cirugía pueden ser indicativos de una escasa estabilidad primaria y, por consiguiente, pueden ser de riesgo en la posterior oseointegración. Dato corroborado por el presente estudio en el que no se perdió ningún implante durante el proceso de oseointegración y en el que la media de los valores iniciales de Periotest® fue de -5.25 para los implantes de Titanio y de -6.17 para los implantes de Zirconia, todos más negativos que -2.

Payer M y cols; en 2012, en un estudio en 20 pacientes analizaron la estabilidad primaria, (como hemos dicho anteriormente, utilizando el sistema Periotest®), de implantes de Zirconia cargados de manera inmediata y obtuvieron valores negativos para todos los periodos de tiempo (desde el inicio hasta los 24 meses). Obteniendo los valores más bajos el día de la cirugía (-1.89 ± 1) y los más altos (-3.81 ± 1.7) a los 24 meses (tras 20 meses de carga oclusal), constatando una disminución progresiva de los valores de Periotest® en el tiempo. En nuestro estudio, aunque es otro modelo de estudio, también se observa una disminución progresiva de los valores de Periotest® en los implantes de dióxido de Zirconio coincidiendo con el periodo de oseointegración, desde una media de -6.17 el día de la cirugía hasta un valor medio de -6.58 a los tres meses de la cirugía para los implantes de Zirconia, y también en los implantes de Titanio (de -5.25 a 5.75).

Como podemos constatar, tanto en el presente estudio como en el trabajo realizado por **Payer M y cols. 2012**, citado anteriormente, los valores de estabilidad primaria inicial se sitúan por

debajo de -2 y en ambos estudios los implantes analizados tuvieron éxito en cuanto a su oseointegración. Por lo que coincidimos nuevamente con **Noguerol B y cols. 2006**, en que valores de Periotest® inferiores a -2 son indicativos de una adecuada estabilidad primaria y, por lo tanto, son susceptibles de obtener una adecuada oseointegración, independientemente de que el material de los implantes sea Titanio o Dióxido de Zirconio.

Otro aspecto a valorar del estudio anteriormente mencionado con respecto al nuestro es que los implantes en ambos estudios son White SKY® (Bredent medical® GMBH & Co. KG, Senden, Germany) sin embargo los valores de Periotest® en nuestro estudio son menores, lo que indica una mayor estabilidad primaria. Esto es debido al tipo de superficie, ya que en el estudio de **Payer M y cols; en 2012**, la superficie de los implantes no ha sido modificada, mientras que en nuestro estudio los implantes de Zirconia han sido modificados creando surcos a lo largo de toda la superficie endoósea de los implantes. De este modo se ha aumentado su rugosidad y, por lo tanto, se ha aumentado la superficie de contacto con el hueso de alrededor y, en consecuencia, se ha aumentado la estabilidad primaria.

6.2 Contacto hueso-implante (CHI)

Dubruille JH y cols; en 1999, evaluaron la calidad en la interfase hueso implante (BIC) de distintos tipos de implantes colocados en un modelo animal en perros sin carga oclusal. Insertaron 6 implantes de Zirconia parcialmente estabilizados (Y-TZP), 6 implantes de alúmina y 6 implantes de Titanio. Los dejaron sumergidos durante 10 meses, no encontrando diferencias significativas en el análisis macroscópico, radiográfico y microscópico de los mismos. Para evaluar la oseointegración, estos autores analizaron el BIC crevical, central y apical de cada grupo de implantes. Obteniendo una media de BIC total para cada grupo de: 64.6%±12.7% en los implantes de Zirconia; de 68%±13.9% en los implantes de Alúmina; y de 54%±12.9% en los implantes de Titanio.

Estos valores son superiores con respecto a los del presente estudio en el grupo de Zirconia (47.94% a tres meses), sin embargo nuestro periodo de estudio, (3 meses), es inferior al de **Dubruille JH y cols. 1999**, que es a 10 meses. Por otro lado en el grupo de Titanio, los valores de BIC en este estudio (61.73%) son mayores a los obtenidos por **Dubruille JH y cols. 1999**. También debemos destacar, si comparamos ambos estudios, que en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas entre los grupo Titanio y Zirconia, coincidiendo con **Dubruille JH y cols. 1999**.

Anteriormente, **Akagawa Y y cols; en 1993**, estudiaron la oseointegración de implantes de Zirconia parcialmente estabilizados(Y-TZP) cargados y sin cargar oclusalmente en un modelo experimental en perros Beagle. La superficie de estos implantes mecanizados fue limpiada previamente a su inserción mediante ultrasonidos, y posteriormente fueron secados y pulidos. Dos perros recibieron implantes sin cargar, mientras que otros dos perros recibieron una estructura metálica 1 semana posterior a la inserción de los implantes. Tras 3 meses de cicatrización, estos autores, evaluaron el porcentaje de BIC, no encontrando diferencias significativas entre ambos grupos (81.9%±11.9± en implantes no cargados; 69.8%±14.2% en implantes cargados oclusalmente). En contraposición con estos resultados, en este estudio no encontramos un porcentaje de BIC tan elevado a los tres meses de estudio (47.94%). Esta diferencia puede ser debida a que estos autores no midieron la totalidad de la longitud de los implantes.

En otro estudio posterior, **Scarano A y cols; en 2003**, analizaron la respuesta ósea de 20 implantes de Zirconia (Y-TZP) insertados en la tibia de 5 conejos durante un período de cicatrización de 4 semanas. Todos los implantes en este estudio fueron pasivados mediante distintos tipos de limpieza (agitación en agua destilada, limpieza con alcohol, ultrasonidos,etc.). Según estos autores, todos los implantes se oseointegraron y no fueron

encontrados signos de inflamación o movilidad. Tras el período de estudio, al analizar las muestras obtenidas, encontraron un porcentaje de BIC de $68.4\pm 2.4\%$. Por lo que los autores concluyeron que los implantes de Zirconia parcialmente estabilizados (Y-TZP) son altamente biocompatibles y osteoinductivos.

En el presente estudio tampoco se encontraron signos de movilidad y se integraron la totalidad de los implantes de Zirconia modificados, sin embargo el valor de BIC fue inferior al mes de estudio (44.68%).

Stadlinger B y cols; en un estudio más reciente (**2010**), compararon la oseointegración en implantes de Zirconia vs. Implantes de Titanio en un modelo experimental en “minipigs” sin carga oclusal. Para ello, insertaron implantes de Zirconia con dos protocolos de cicatrización (sumergidos y sin sumergir), e implantes de Titanio, todos sumergidos. Tras un período de cicatrización de 4 semanas, analizaron el contacto hueso-implante (BIC) y encontraron que no había diferencias significativas en la oseointegración, y por tanto en el BIC, entre los dos tipos de implantes (53% de BIC en implantes de Titanio; 53% de BIC en implantes de Zirconia no sumergidos; y 48% de BIC en implantes de Zirconia sumergidos). De la misma manera, en este estudio no se encontraron diferencias significativas entre el grupo de implantes de Titanio y el grupo de implantes de Zirconia.

Por otro lado, **Abrahamsson I y Berglundh T, en 2006**, analizaron la reacción ósea en implantes de Titanio, cuyo diseño modificaron, en un modelo animal en perros con carga oclusal. Para ello, utilizaron implantes de Titanio en dos grupos, unos con el cuello pulido, y otros, con un diseño de microrroscas en el cuello. Tras 3 meses de cicatrización, se colocaron los pilares protésicos y, tras otros 3 meses se colocaron prótesis parciales fijas. Diez meses tras la inserción de los implantes, los animales fueron sacrificados, analizándose el contacto hueso-implante (BIC) en dos zonas (en todo el implante y en la zona del cuello). La diferencia en el

porcentaje de BIC a lo largo de todo el implante no fue significativa entre ambos grupos (83.95%±6.21% en implantes de cuello pulido; y 82.96±2.73% en implantes con diseño de microrroscas en el cuello). Por otro lado, sí fue significativa la diferencia en porcentaje de BIC entre los dos grupos en la porción del cuello (72.77%±9.30% en implantes de cuello pulido; y 81.76%±7.77% en implantes con microrroscas en el cuello). Por lo tanto, tras estos resultados, los autores concluyeron que la configuración con microrroscas en el cuello de los implantes mejora las condiciones de oseointegración.

Equiparando los resultados anteriormente citados a los datos de este estudio, vemos que la configuración de microsurcos realizados por el láser de femtosegundo en los implantes de Zirconia puede ser un factor a tener en cuenta para incrementar la oseointegración de éstos a nivel del cuello, ya que los implantes de Titanio Blue-SKY® poseen microsurcos en el cuello y no se encontraron diferencias significativas en la oseointegración entre ambos grupos.

Siguiendo con la modificación del diseño de los implantes para mejorar la oseointegración, **Kohal RJ y cols; en 2004**, investigaron la oseointegración de implantes de Zirconia (Y-TZP) en comparación con implantes de Titanio, cargados oclusalmente ambos grupos, en un modelo experimental en monos. Las superficies de ambos grupos de implantes fueron tratadas mediante una abrasión aérea mediante Al₂O₃, y además, los implantes de Titanio recibieron un tratamiento adicional consistente en un grabado ácido de la superficie. Seis meses tras la inserción quirúrgica de los implantes, se procedió a colocar los pilares protéticos en ambos tipos de implantes y; tras 5 meses de función, los especímenes fueron sacrificados. Tras el análisis de la interfase de contacto hueso-implante (BIC), los autores no encontraron diferencias significativas entre ambos grupos (72.9±14% de BIC en los implantes de Titanio; 67.4±17% de BIC en los implantes de Zirconia. Por tanto, los autores concluyeron que, dentro de las limitaciones del estudio, los implantes Y-TZP se oseointegran en la misma medida que

los implantes de titanio con el mismo tratamiento de superficie. Aspecto corroborado por este estudio, en el que los implantes de Zirconia fueron modificados mediante láser de femtosegundo en la totalidad y fueron comparados con implantes de Titanio con tratamiento de superficie mediante grabado ácido y arenado. No encontrando diferencias significativas en el contacto hueso-implante entre ambos grupos con superficie microrrugosa.

En otro estudio en la misma línea, **Sennerby L y cols; en 2005**, investigaron histológicamente y biomecánicamente la respuesta ósea de implantes de Zirconia parcialmente estabilizados (Y-TZP), divididos en dos grupos(Zr-A y Zr-B), con dos sustancias(A y B), no especificadas con el fin de crear microporos en la superficie de los implantes. Y los compararon con implantes de Zirconia mecanizados sin modificaciones en la superficie, y con implantes de Titanio cuya superficie fue tratada mediante grabado ácido y arenado. Para ello utilizaron un modelo experimental en conejos, insertando 2 implantes en las tibias y otros 2 implantes en el fémur de los mismos. Tras un período de cicatrización de 6 semanas, encontraron mayor porcentaje de BIC en fémur en los implantes tratados con respecto a los implantes de Zirconia sin tratar (60% de BIC en los implantes Zr-A; 70% de BIC en los implantes Zr-B; y 46% de BIC en los implantes de Zirconia sin tratar); y estos porcentajes también fueron mayores comparándolos con los implantes de Titanio (68% de BIC). Aunque los autores refieren que estas diferencias no fueron significativas entre los grupos. Por otro lado, también analizaron las tres mejores roscas en cuanto al contacto hueso-implante en las tibias de los conejos. Y aquí, encontraron que sí existían diferencias significativas entre los implantes de Zirconia no tratados y los implantes de Zirconia tratados con la sustancia denominada A (Zr sin tratar: 19% < Zr-A: 31%). Otro aspecto a destacar de este estudio es que, cualitativamente, los autores encontraron signos de osteogénesis de contacto y formación ósea directamente en la superficie de los implantes

únicamente en los implantes de Zirconia cuya superficie había sido modificada y en los implantes de Titanio.

Coincidiendo con estos autores, las diferencias encontradas en este estudio entre los implantes de Titanio y los implantes de Zirconia modificados no fueron significativas, aunque a diferencia del estudio anterior, fueron mayores los porcentajes de BIC en el grupo de implantes de Titanio.

Depprich R y cols; en 2008, estudiaron también la oseointegración de los implantes de Zirconia parcialmente estabilizados (Y-TZP) en comparación con implantes de Titanio tras un tratamiento de la superficie de ambos tipos de implantes mediante grabado ácido de la misma. Analizaron el BIC en toda la porción del implante a 1,4 y 12 semanas en un modelo experimental animal en tibias de “minipigs”. Encontrando, a 4 semanas de estudio, un porcentaje de BIC de $45.3\% \pm 15.7\%$ en los implantes de Zirconia; y de $47.7 \pm 9.1\%$ en los de Titanio. Y un porcentaje de BIC de $71.4\% \pm 17.8\%$ en Zirconia; y de $82.9\% \pm 10.7\%$ en los de Titanio a 12 semanas de estudio. Tras analizar estos datos, no encontraron diferencias significativas entre ambos grupos. Por lo que llegaron a la conclusión de que, los implantes de Zirconia con superficie modificada son susceptibles de obtener una oseointegración comparable a la que se obtiene en los implantes de Titanio con la misma modificación en su superficie. Estos datos a un mes, son similares a los que se presentan en este estudio (Zir: 44.68%; Ti: 51.36%). Y del mismo modo, tampoco encontramos diferencias significativas entre ambos grupos en el presente estudio.

Por último, **Koch FP y cols; en 2010**, en la misma línea, evaluaron la oseointegración de implantes de Titanio en comparación con implantes de Zirconia (Y-TZP) monobloque en un modelo animal en perros. Para ello, utilizaron implantes de Zirconia sin modificación en su superficie, implantes de Zirconia con recubrimiento de Calcio, implantes de Titanio e implantes

artificiales experimentales. Tras 4 meses, analizaron el BIC de estos grupos de implantes en su porción apical. No encontrando diferencias significativas entre los grupos (Zir sin tratar: $59.24\% \pm 7.45\%$; Zir tratado: $58.34\% \pm 13.92\%$; Titanio: $41.22\% \pm 10.11\%$). Tras analizar los resultados, los autores concluyeron que, dentro de los límites del estudio, los implantes de Zirconia parcialmente estabilizados (Y-TZP) son capaces de establecer tasas de BIC similares a las que se obtienen en los implantes de Titanio con las mismas modificaciones de superficie y rugosidad, de la misma manera que en este estudio.

Por último, son **Andreiotelli M y cols; en 2009**, y **Wenz HJ y cols; en 2008**, en sus revisiones bibliográficas sistemáticas, los que llegan a la conclusión de que los porcentajes de BIC obtenidos en implantes de Zirconia parcialmente estabilizados (Y-TZP) se encuentran en torno al 60% en la literatura existente en la actualidad.

Tras el estudio de los datos del presente estudio, coincidimos con los autores anteriormente citados en que no hay diferencias significativas, tanto a un mes de estudio ($p=1$) como a tres meses de estudio ($p=0.678$), en el porcentaje de contacto hueso-implante entre los implantes de Titanio Blue-SKY® (Bredent medical® GMBH & Co. KG, Senden, Germany) y los implantes de Dióxido de Zirconio parcialmente estabilizados (Y-TZP) White-SKY® modificados mediante láser de femtosegundo en la totalidad de la porción intraósea de los mismos.

Además de esto, nuestra media de porcentaje de contacto-hueso implante es similar con respecto a las medias referidas por los autores anteriores. Tanto a un mes de estudio, en el que encontramos un porcentaje de BIC de $51.36\% \pm 12.03\%$ en los implantes de Titanio Blue-SKY® (Bredent medical® GMBH & Co. KG, Senden, Germany), y un porcentaje de $44.68\% \pm 17.66\%$ en los implantes White-SKY® (Bredent medical® GMBH & Co. KG, Senden, Germany) cuya superficie ha sido modificada; como a 3 meses de estudio, período en el que encontramos un porcentaje de BIC de $61.73\% \pm 16.27\%$ en los implantes de Titanio Blue-SKY®

(Bredent medical® GMBH & Co. KG, Senden, Germany) y un porcentaje de $47.94\pm 16,15\%$ en los implantes de Zirconia White-SKY® (Bredent medical® GMBH & Co. KG, Senden, Germany).

6.3 Pérdida ósea periimplantaria

Albrektsson T y cols; en 1986, sugirieron los siguientes criterios de éxito de los implantes dentales a largo plazo en relación a los cambios en el nivel de hueso marginal: los cambios o la reabsorción del hueso marginal en los implantes durante el primer año tras la colocación de los mismos no debe superar el rango entre 1 y 1.5 mm; y en los posteriores años la pérdida ósea debe ser inferior a 0.2mm. Según esto, todos los implantes dentro de este estudio cumplirían los criterios de éxito en relación a los cambios en el nivel de hueso marginal, puesto que la mayor media de reabsorción ósea a nivel del hueso crestral fue encontrada en el grupo de implantes de Zirconia a tres meses (1.25mm) y, la menor media en el grupo de implantes de Zirconia a un mes de estudio (0.01mm). Ambos por debajo del máximo sugerido por **Albrektsson y cols. 1986**.

En otro estudio realizado por **Nickenig HJ y cols; en 2009**, se analizaron, durante 2 años, dos tipos de diseño para el cuello en los implantes de Titanio, un grupo de implantes con cuello pulido y otro grupo con microrroscas en el cuello. Estos autores realizaron un seguimiento radiográfico en cuatro periodos de tiempo: el día de la cirugía, tras la oseointegración de los implantes, a los 6 meses (tras la carga funcional de los implantes), y a los 2 años de la cirugía; obteniendo unos valores significativamente inferiores en el grupo de implantes con microrroscas (0.1mm. durante el periodo de oseointegración, 0.4mm. a los 6 meses y 0.5mm a los 2 años), en comparación con el grupo de implantes de cuello pulido. Valores similares a los obtenidos en grupo de implantes de Titanio en este estudio, 0.77mm en el primer mes y 0.07mm en el tercer mes. Sin embargo, la media de reabsorción crestral obtenida en el grupo de Zirconia al tercer mes es mayor (1.25mm).

Hansson S, en 1999, utilizaron un modelo matemático en 3D y el análisis de simetría axial de los elementos finitos para determinar la superficie rugosa ideal. Estableciendo la hipótesis, al igual que en el trabajo anteriormente citado, de que la rugosidad de la superficie o los elementos de retención, tales como la realización de microrroscas en el cuello del implante, aumentan la resistencia del hueso marginal a la pérdida de hueso mediante la mejora de la fuerza de enclavamiento entre la superficie del implante y el hueso crestral. Coincidiendo con el estudio mencionado, los valores en los distintos grupos de este estudio se sitúan por debajo de 1.5mm de pérdida ósea crestral, valores dentro de los considerados de éxito (**Albrektsson y cols. 1986**).

Akagawa Y y cols; en 1998, estudiaron la oseointegración de implantes de Zirconia parcialmente estabilizados (Y-TZP) sometidos a diferentes protocolos de carga oclusal en un modelo experimental animal en monos durante 24 meses. Los implantes fueron sometidos a 3 protocolos distintos de carga oclusal (implantes que soportaban prótesis individuales, implantes con prótesis parciales fijas e implantes con prótesis dento e implantosoportadas). Entre los parámetros analizados en el estudio, se evaluó la reabsorción ósea periimplantaria mediante radiografías periapicales a 12 y 24 meses de estudio. En el grupo estudiado a 12 meses, se observó una pérdida ósea desde 1.6 a 2.3 mm. Datos superiores a los obtenidos en nuestro estudio en el grupo de implantes de Zirconia, en el que se obtuvieron unos valores de 0.01mm durante el primer mes y de 1.25mm durante el tercer mes. Aunque estos resultados no fueron relacionados estadísticamente con respecto a los períodos de estudio o el tipo de soporte oclusal que recibieron los implantes.

Cannizzaro G y cols; en 2010, evaluaron si la provisionalización unitaria inmediata no oclusal de implantes de Zirconia parcialmente estabilizados (Y-TZP) puede reducir fallos tempranos en comparación con los protocolos de carga oclusal inmediata. Para realizar este estudio,

utilizaron 40 pacientes a los que se dividió en dos grupos y se les colocó una prótesis provisional, el mismo día de la cirugía, con o sin contacto oclusal según el grupo al que perteneciesen. A los 4-5 meses se procedió a la colocación de las prótesis definitivas. Entre los criterios de éxito evaluados en este estudio, se midieron los niveles de hueso marginal periimplantarios de manera radiográfica mediante la técnica de paralelismo. Tras un año de carga oclusal de los implantes, los pacientes del grupo no sometido a carga inmediata perdieron una media de hueso periimplantario de 0.7mm; en comparación con los que sí fueron sometidos a carga inmediata, que perdieron 0.9mm, durante el primer año. Tras analizar los resultados, los autores concluyeron que las diferencias entre ambos grupos no fueron estadísticamente significativas.

Por otro lado, si tenemos en cuenta que la tasa de remodelación ósea trabecular en perros se sitúa en torno al 100% por año en perros, mientras que en humanos se sitúa entre un 5 y un 15% por año (**Pearce AI y cols. 2007**), podemos afirmar que los resultados de este estudio (en el que a los tres meses se había perdido una media de hueso crestal de 1.25mm en los implantes de Zirconia), son comparables a los datos obtenidos por los autores previamente mencionados.

Payer M y cols; en 2012, evaluaron también el resultado de la provisionalización inmediata en implantes de Zirconia parcialmente estabilizados (Y-TZP) en un estudio clínico en pacientes durante 24 meses. Para ello colocaron, el mismo día de la cirugía, prótesis provisionales con contacto oclusal y, pasados 4 meses de la cirugía, se procedió a la colocación de las prótesis definitivas. Entre los parámetros evaluados, midieron la pérdida ósea crestal alrededor de los implantes mediante radiografías. Tras las mediciones, obtuvieron una media estadísticamente significativa ($p < 0.001$) de pérdida ósea de 1.01mm. durante el primer año, y una media no

significativa ($p > 0.05$) de 1.29mm. durante los 24 meses tras la inserción de los implantes. En todo caso, datos ligeramente superiores a los obtenidos en el presente estudio.

Gahlert M y cols; en 2010, analizaron la oseointegración de implantes de Zirconia sometidos a grabado mediante ácido fluorhídrico en su superficie e implantes de Titanio estándar SLA en un modelo animal en cerdos. Los animales fueron sacrificados a las 4, 8 y 12 semanas. Evaluaron la pérdida ósea que se produjo a nivel del hueso crestal en ambos tipos de implantes. Encontrando que en el 80% de los implantes de Titanio había una reabsorción de 3 o más espiras a las 4 semanas de estudio mientras que, en el 25% de los implantes de Zirconia sometidos a grabado ácido no había signos de reabsorción radiográficamente. Estos autores concluyeron que esta diferencia en el grado de reabsorción podía ser debida, o bien, por el Gap producido entre el implante y las cubiertas PEEK que favorece el microambiente séptico; o bien, por la diferente composición química, diferente humectabilidad o las cargas superficiales distintas entre ambos tipos de implantes. Por este motivo, concluyeron que son necesarios más estudios para investigar la influencia de estos factores en la aposición ósea. Aunque, por otro lado, también reconocen una afinidad significativamente menor de los implantes de Zirconia por la placa bacteriana en comparación con los implantes de Titanio.

7. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias significativas en la estabilidad primaria inicial y secundaria entre los implantes de Zirconia modificados mediante láser de femtosegundo y los implantes de Titanio.

No hemos encontrado diferencias significativas en el porcentaje de Calcio entre los implantes de Zirconia y Titanio a tres meses de estudio. Sin embargo, los porcentajes de Carbono, Oxígeno y Fósforo son significativamente mayores en el grupo de implantes de Titanio a tres meses de estudio.

El contacto hueso-implante entre los grupos de implantes de Zirconia y los implantes de Titanio no mostraron diferencias significativas. Por tanto, el tratamiento de superficie para la realización de microsurcos mediante la utilización de láser de femtosegundo, mejora la oseointegración de los implantes de Zirconia en comparación con los implantes de Titanio.

En la reabsorción de hueso crestral entre el grupo de implantes de Titanio y el grupo de implantes de Zirconia modificados por láser de femtosegundo a un mes de estudio, no se encontraron diferencias significativas, sin embargo, a tres meses de estudio, la reabsorción de hueso crestral fue mayor en los implantes de Zirconia.

8. BIBLIOGRAFÍA

Abrahamsson I, Berglundh T. Tissue characteristics at microthreaded implants: an experimental study in dogs. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2006; 8:107-13.

Akagawa Y, Hosokawa R, Sato Y, Kamayama K. Comparison between freestanding and tooth-connected partially stabilized zirconia implants after two years function in monkeys: a clinical and histologic study. *J Prosthet Dent.* 1998; 80:551-558.

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

Albrektsson T, Sennerby L, Wennerberg A. State of the art of oral implants. *Periodontol* 2000. 2008; 47:15-26.

Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1986; 1:11-25.

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

Al-Radha AS, Dymock D, Younes C, O'Sullivan D. Surface properties of titanium and zirconia dental implant materials and their effect on bacterial adhesion. *J Dent.* 2012; 40:146-153.

Andreiotelli M, Kohal RJ. Fracture strength of zirconia implants after artificial aging. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2009; 11:158-66.

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

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

Behneke A, Behneke N, d'Hoedt B. A 5-year longitudinal study of the clinical effectiveness of ITI solid-screw implants in the treatment of mandibular edentulism. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002; 17:799-810.

Berge TI, Grønningsaeter AG. Survival of single crystal sapphire implants supporting mandibular overdentures. *Clin Oral Implants Res.* 2000; 11:154-162.

Branemark PI. Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T, editors. Introduction to osseointegration. In: *Tissueintegration prosthesis. Osseointegration in clinical dentistry.* Chicago: Quintessence.1985; 11-76.

Buser D, Mericske-Stern R, Dula K, Lang NP. Clinical experience with one-stage, non-submerged dental implants. *Adv Den Res.* 1999; 13:153-161.

Calvo-Guirado JL, Ortiz-Ruiz AJ, Negri B, López-Marí L, Rodríguez-Barba C, Schlottig F. Histological and histomorphometric evaluation of immediate implant placement on a dog model with a new implant surface treatment. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21:308–315.

Caneva M, Salata LA, de Souza SS, Bressan E, Botticelli D, Lang NP. Hard tissue formation adjacent to implants of various size and configuration immediately placed into extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21:885-890.

Cannizzaro G, Torchio C, Felice P, Leone M, Esposito M. Immediate occlusal versus non-occlusal loading of single zirconia implants. A multicentre pragmatic randomized clinical trial. *Eur J Oral Implantol.* 2010; 3:111-120.

Carr, A.B., Gerard, D.A. & Larsen, P.E. Histomorphometric analysis of implant anchorage for 3 types of dental implants following 6 months of healing in baboon jaws. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2000; 15: 785–791.

Cho HW, Dong JK, Jin TH, Oh SC, Lee HH, Lee JW. A study on the fracture strength of implant-supported restorations using milled ceramic abutments and all-ceramic crowns. *Int J Prosthodont*. 2002; 15:9-13.

Christel PS. Zirconia: the second generation of ceramics for total hip replacement. *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst* 1989;49:170-177.

Chung DM, Oh TJ, Lee J, Misch CE, Wang HL. Factors affecting late implant bone loss: a retrospective analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007 ; 22:117-126.

Cochran DL, Buser D, ten Bruggenkate CM, Weingart D, Taylor TM, Bernard JP, Peters F, Simpson JP. The use of reduced healing times on ITI implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: early results from clinical trials on ITI SLA implants. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13:144-153.

Cordioli G, Majzoub Z, Piattelli A, Scarano A. Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: an experimental study in the rabbit tibia. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15:668-674.

Covacci V, Bruzzese N, Maccauro G, Andreassi C, Ricci GA, Piconi C, et al. In vitro evaluation of the mutagenic and carcinogenic power of high purity zirconia ceramic. *Biomaterials* 1999;20:371-376.

Daniel C, Full J, Gonzalez L, Lupulescu C, Manz J, Merli A, et al. Deciphering the reaction dynamics underlying optimal control laser fields. *Science*. 2003; 299:536-539.

Davies JE. Immediate loading: the role of the implant surface on biological stabilization. *Journal of implant and reconstructive dentistry* 2010; 2:10-17.

Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *International Journal of Prosthodontics* 1998; 11:391–401.

Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ.* 2003;67:932-49.

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

De Pauw GA, Dermaut LR, Johansson CB, Martens G. A histomorphometric analysis of heavily loaded and non-loaded implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002; 17:405-412.

Depprich R, Zipprich H, Ommerborn M, Naujoks C, Wiesmann HP, Kiattavorncharoen S, et al. Osseointegration of zirconia implants compared with titanium: an in vivo study. *Head Face Med* 2008; 4:30.

Deville S, Chevalier J, Gremillard L. Influence of surface finish and residual stresses on the ageing sensitivity of biomedical grade zirconia. *Biomaterials* 2006; 27:2186-2192.

Dierens M, Vandeweghe S, Kisch J, Nilner K, De Bruyn H. Long-term follow-up of turned single implants placed in periodontally healthy patients after 16-22 years: radiographic and peri-implant outcome. *Clin Oral Implants Res.* 2012; 23:197-204.

Dilek O, Tezulas E, Dincel M. Required minimum primary stability and torque values for immediate loading of mini dental implants: an experimental study in nonviable bovine femoral bone. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology.* 2008; 105:20-27.

Diniz, M.G., Soares, G.A., Coelho, M.J. & Fernandes, M.H. Surface topography modulates the osteo- genesis in human bone marrow cell cultures grown on titanium samples prepared by a combination of me- chanical and acid treatments. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* 2002; 13: 421–432.

Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol.* 1982;11:318-326.

Dubruille JH, Viguier E, Le Naour G, Dubruille MT, Auriol M, Le Charpentier Y. Evaluation of combination of titanium, zirconia, and alumina implants with 2 bone fillers in the dog. *Int J Oral Maxillofacial Implants.* 1999; 14:271-277.

Egusa H, Ko N, Shimazu T, Yatani H. Suspected association of an allergic reaction with titanium dental implants: a clinical report. *J Prosthet Dent* 2008;100:344-347.

Ellingsen JE, Thomsen P, Lyngstadaas S. Advances in dental implant materials and tissue regeneration. *Periodontology* 2000. 2006; 41:136–156.

Franchi M, Orsini E, Trire A, Quaranta M, Martini D, Piccari GG, Ruggeri A, Ottani V. Osteogenesis and morphology of the peri-implant bone facing dental implants. *ScientificWorldJournal.* 2004; 14:1083-1095.

Gaggi A, Schultes G, Muller WD, Karcher H. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces--a comparative study. *Biomaterials.* 2000; 21:1067-1073.

Gahlert M, Röhling S, Wieland M, Eichhorn S, Küchenhoff H, Kniha H. A comparison study of the osseointegration of zirconia and titanium dental implants. A biomechanical evaluation in the maxilla of pigs. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2010; 12:297-305.

Hall J, Miranda-Burgos P, Sennerby L. Estimulation of direct bone growth at oxidized titanium implants by macroscopic grooves: an in vivo study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2005; 7:76-82.

Hansson S. The implant neck: smooth or provided with retention elements. A biomechanical approach. *Clin Oral Implants Res.* 1999; 10:394-405.

Heuer AH. Transformation toughening in ZrO₂ containing ceramics. *Journal of the American Society.* 1986; 70:689-698.

Hisbergues M, Vendeville S, Vendeville P. Zirconia: Established facts and perspectives for a biomaterial in dental implantology. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009; 88:519-529.

Hobkirk JA, Wiskott HW; Working Group 1. Ceramics in implant dentistry (Working Group 1). *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20:55-57.

Hoffman O, Angelov N, Gallez F, Jung RE, Weber FE. The zirconia implant-bone interface: a preliminary histologic evaluation in rabbits. *Int J Oral Maxillofac implants.* 2008;23:691-695.

Huang HM, Chiu CL, Yeh CY, Lin CT, Lin LH, Lee SY. Early detection of implant healing process using resonance frequency analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2003; 14:437-443.

Ivanoff CJ, Sennerby L, Johansson C, Rangert B, Lekholm U. Influence of implant diameters on the integration of screw implants. An experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 26:141-148.

Jacobs R, Pittayapat P, van Steenberghe D, De Mars G, Gijbels F, Van Der Donck A, et al. A split-mouth comparative study up to 16 years of two screw-shaped titanium implant systems. *J Clin Periodontol.* 2010; 37:1119-1127.

Javed F, Al-Hezaimi K, Almas K, Romanos GE. Is Titanium Sensitivity Associated with Allergic Reactions in Patients with Dental Implants? A Systematic Review. *Clin Implant Dent Relat Res* 2011. doi: 10.1111/j.1708-8208.2010.00330.x.

Javed F, Romanos GE. The role of primary stability for successful immediate loading of dental implants. A literature review. *J Dent.* 2010; 38:612-620.

Jimbo R, Xue Y, Hayashi M, Schwartz-Filho HO, Andersson M, Mustafa K, Wennerberg A. Genetic responses to nanostructured calcium-phosphate-coated implants. *J Dent Res.* 2011;90:1422-7.

Kan JY, Rungcharassaeng K, Lozada JL, Zimmerman G. Facial gingival tissue stability following immediate placement and provisionalization of maxillary anterior single implants: a 2- to 8-year follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2011; 26:179-187.

Kim NS, Vang MS, Yang HS, Park SW, Park HO, Lim HP. Comparison of stability in titanium implants with different surface topographies in dogs. *J Adv Prosthodont.* 2009; 1:47-55.

Koch FP, Weng D, Krämer S, Biesterfeld S, Jahn-Eimermacher A, Wagner W. Osseointegration of one-piece zirconia implants compared with a titanium implant of identical design: a histomorphometric study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21:350-366.

Kohal RJ, Finke HC, Klaus G. Stability of prototype two-piece zirconia and titanium implants after artificial aging: an in vitro pilot study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2009 Dec;11:323-329.

Kohal RJ, Klaus G. A zirconia implant-crown system: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2004; 24:147-153.

Kohal RJ, Weng D, Bächle M, Strub JR. Loaded custom-made zirconia and titanium implants show similar osseointegration: an animal experiment. *J Periodontol.* 2004; 75:1262-1268.

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

Lang NP, Jepsen S; Working Group 4. Implant surfaces and design(Working Group 4). *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20:228-31.

Lee DW, Choi YS, Park KH, Kim CS, Moon IS. Effect of microthread on the maintenance of marginal bone level: a 3-year prospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2007; 18:465-70.

Malo P, de Araujo Nobre M, Lopes A, Moss SM, Molina GJ. A longitudinal study of the survival of All-on-4 implants in the mandible with up to 10 years of follow-up. *J Am Dent Assoc.* 2011; 142:310-320.

Manicone PF, Rossi Iommetti P, Raffaelli L. An overview of zirconia ceramics: basic properties and clinical applications. *J Dent* 2007; 35:819-826.

Moon SY, Kim SG, Lim SC, Ong JL. Histologic and histomorphometric evaluation of early and immediately loaded implants in the dog mandible. *J Biomed Mater Res A.* 2008; 86:1122-1127.

Moreno P, Méndez A, García I, Arias I, Conejero E, Roso L. Micromecanizado de materiales cerámicos mediante láser de femtosegundo. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio* 2005; 44:9-12.

Mourou G, Strickland D. Compression of amplified chirped optical pulses. *Optics Communications* 1985; 55: 447-449.

Muller K, Valentine-Thon E. Hypersensitivity to titanium: clinical and laboratory evidence. *Neuro Endocrinol Lett.* 2006; 27:31-35.

Mustafa K, Wennerberg A, Wroblewski J, Hultenby K, Lopez BS, Arvidson K. Determining optimal surface roughness of TiO(2) blasted titanium implant material for attachment, proliferation and differentiation of cells derived from human mandibular alveolar bone. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12:515-25.

Nedir R, Bischof M, Szmukler-Moncler S, Bernard JP, Samson J. Predicting osseointegration by means of implant primary stability. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15:520-28.

Nickenig HJ, Wichmann M, Schlegel KA, Nkenke E, Eitner S. Radiographic evaluation of marginal bone levels adjacent to parallel-screw cylinder machined-neck implants and rough-surfaced microthreaded implants using digitized panoramic radiographs. *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20:550-4.

Nisapakultorn K, Suphanantachat S, Silkosessak O, Rattanamongkolgul S. Factors affecting soft tissue level around anterior maxillary single-tooth implants. *Clin Oral Implants Res.* 2010; 21:662-670.

Nkenke E, Lehner B, Weinzierl K, Thams U, Neugebauer J, Steveling H, Radespiel-Tröger M, Neukam FW. Bone contact, growth, and density around immediately loaded implants in the mandible of mini pigs. *Clin. Oral Impl. Res.* 2003; 14:312–321.

Noguerol B, Muñoz R, Mesa F, de Dios Luna J, O'Valle F. Early implant failure. Prognostic capacity of Periotest: retrospective study of a large sample. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17:459-464.

Oh JS, Kim SG, Lim SC, Ong JL. A comparative study of two noninvasive techniques to evaluate implant stability: Periotest and Osstell Mentor. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 107:513-518.

Oliva J, Oliva X, Oliva JD. Five-year success rate of 831 consecutively placed Zirconia dental implants in humans: a comparison of three different rough surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010; 25:336-344.

Orsini E, Salgarello S, Bubalo M, Lazic Z, Trire A, Martini D, Franchi M, Ruggeri A. Histomorphometric evaluation of implant design as a key factor in peri-implant bone response: a preliminary study in a dog model. *Minerva Stomatol.* 2009; 58:263-275.

Orsini E, Salgarello S, Martini D, Bacchelli B, Quaranta M, Pisoni L, Bellei E, Joechler M, Ottani V. Early Healing Events around Titanium Implant Devices with Different Surface Microtopography: A Pilot Study in an In Vivo Rabbit Model. *ScientificWorldJournal.* 2012;2012:349842.

Palmquist A, Omar OM, Esposito M, Lausmaa J, Thomsen P. Titanium oral implants: surface characteristics, interface biology and clinical outcome. *J R Soc Interface.* 2010;7:515-527.

Park EK, Lee YE, Choi JY, Oh SH, Shin HI, Kim KH, Kim SY, Kim S. Cellular biocompatibility and stimulatory effects of calcium metaphosphate on osteoblastic differentiation of human bone marrow-derived stromal cells. *Biomaterials.* 2004;25:3403-3411.

Pak HS, Yeo IS, Yang JH. A histomorphometric study of dental implants with different surface characteristics. *J Adv Prosthodont.* 2010; 2:142-147.

Payer M, Arnetzl V, Kirmeier R, Koller M, Arnetzl G, Jakse N. Immediate provisional restoration of single-piece zirconia implants: a prospective case series - results after 24 months of clinical function. *Clin Oral Implants Res.* 2012. doi: 10.1111/j.1600-0501.2012.02425.x.

Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater.* 2007; 13:1-10.

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

Perren SM. Evolution of the internal fixation of long bone fractures. The scientific basis of biological interface fixation: choosing a new balance between stability and biology. *Journal of Bone and Joint Surgery.* 2002;84:1093–1110.

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

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

Pieri F, Aldini NN, Fini M, Corinaldesi G. Immediate occlusal loading of immediately placed implants supporting fixed restorations in completely edentulous arches: a 1-year prospective pilot study. *J Periodontol.* 2009; 80:411-21.

Quan R, Yang D, Wu X, Wang H, Miao X, Li W. In vitro and in vivo biocompatibility of graded hydroxyapatite-zirconia composite bioceramic. *J Mater Sci Mater Med* 2008; 19:183-187.

Romanos GE, Testori T, Degidi M, Piattelli A. Histologic and histomorphometric findings from retrieved, immediately occlusally loaded implants in humans. *Journal of Periodontology.* 2005; 76:1823–1832.

Sammons RL, Lumbikanonda N, Gross M, Cantzler P. Comparison of osteoblast spreading on microstructured dental implant surfaces and cell behaviour in an explant model of

osseointegration. A scanning electron microscopic study. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16:657-666.

Sanz M, Cecchinato D, Ferrus J, Pjetursson EB, Lang NP, Lindhe J. A prospective, randomized-controlled clinical trial to evaluate bone preservation using implants with different geometry placed into extraction sockets in the maxilla. *Clin Oral Implants Res*. 2010; 21:13-21.

Scarano A, Di Carlo F, Quaranta M, Piattelli A. Bone response to zirconia ceramic implants: an experimental study in rabbits. *J Oral Implantol*. 2003;29:8-12.

Scarano A, Piattelli M, Caputi S, Favero GA, Piattelli A. Bacterial adhesion on commercially pure titanium and zirconium oxide disks: an in vivo human study. *J Periodontol* 2004 ; 75:292-296.

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

Sicilia A, Cuesta S, Coma G, Arregui I, Guisasola C, Ruiz E, et al. Titanium allergy in dental implant patients: a clinical study on 1500 consecutive patients. *Clin Oral Implants Res*. 2008; 19:823-835.

Siddiqi A, Payne AG, De Silva RK, Duncan WJ. Titanium allergy: could it affect dental implant integration? *Clin Oral Implants Res*. 2011; 22:673-680.

Sjöström M, Lundgren S, Nilson H, Sennerby L. Monitoring of implant stability in grafted bone using resonance frequency analysis. A clinical study from implant placement to 6 months of loading. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2005; 34:45–51.

Stadlinger B, Hennig M, Eckelt U, Kuhlisch E, Mai R. Comparison of zirconia and titanium implants after a short healing period. A pilot study in minipigs. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2010;39:585-92.

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

Stuart BC, Feit MD, Herman S, Rubenchik AM, Shore BW, Perry MD. Nanosecond-to-femtosecond laser-induced breakdown in dielectrics. *Phys Rev B Condens Matter* 1996;53:1749-1761.

Stuart BC, Feit MD, Rubenchik AM, Shore BW, Perry MD. Laser-induced damage in dielectrics with nanosecond to subpicosecond pulses. *Phys Rev Lett* 1995;74:2248-2251.

Sul YT, Kang BS, Johansson C, Um HS, Park CJ, Albrektsson T. The roles of surface chemistry and topography in the strength and rate of osseointegration of titanium implants in bone. *J Biomed Mater Res A* 2009; 89:942-950.

ter Brugge PJ, Wolke JG, Jansen JA. Effect of calcium phosphate coating crystallinity and implant surface roughness on differentiation of rat bone marrow cells. *J Biomed Mater Res* 2002; 60:70-78.

Terheyden H, Lang NP, Bierbaum S, Stadlinger B. Osseointegration -communication of cells. *Clin Oral Implants Res.* 2011. doi:10.1111/j.1600-0501.2011.02327.x.

Trisi P, Lazzara R, Rao W, Rebaudi A. Bone-implant contact and bone quality: evaluation of expected and actual bone contact on machined and osseotite implant surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2002; 22:535-545.

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

Vanzillotta PS, Sader MS, Bastos IN, Soares Gde A. Improvement of in vitro titanium bioactivity by three different surface treatments. *Dent Mater.* 2006; 22:275-282.

Verdugo F, Simonian K, Nowzari H. Periodontal biotype influence on the volume maintenance of onlay grafts. *J Periodontol.* 2009; 80:816-823.

Vorobyev AY, Guo C. Femtosecond laser nanostructuring of metals. *Opt Express* 2006; 14:2164-2169.

Wennerberg A, Albrektsson T. On implant surfaces: a review of current knowledge and opinions. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2010; 25:63-74.

Wennerberg, A., Albrektsson, T., Johansson, C. & Andersson, B. Experimental study of turned and grit-blasted screw-shaped implants with special emphasis on effects of blasting material and surface topography. *Biomaterials.* 1996; 17: 15–21.

Wenz HJ, Bartsch J, Wolfart S, Kern M. Osseointegration and clinical success of zirconia dental implants: a systematic review. *Int J Prosthodont* 2008; 21:27-36.

Yoon HG, Heo SJ, Koak JY, Kim SK, Lee SY. Effect of bone quality and implant surgical technique on implant stability quotient (ISQ) value. *J Adv Prosthodont.* 2011; 3:10-15.

Yun HJ, Park JC, Yun JH, Jung UW, Kim CS, Choi SH, Cho KS. A short-term clinical study of marginal bone level change around microthreaded and platform-switched implants. *J Periodontal Implant Sci.* 2011; 41:211-217.

Zix J, Hug S, Kessler-Liechti G, Mericske-Stern R. Measurement of dental implant stability by resonance frequency analysis and damping capacity assessment: comparison of both techniques in a clinical trial. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants.* 2008; 23:525–530.

Zhao G, Schwartz Z, Wieland M, Rupp F, Geis-Gerstorfer J, Cochran DL, Boyan BD. High surface energy enhances cell response to titanium substrate microstructure. *J Biomed Mater Res A* 2005;74: 49-58.



UNIVERSIDAD
DE MURCIA
COMISIÓN DE BIOÉTICA

INFORME DE LA COMISIÓN DE BIOÉTICA
DE LA
UNIVERSIDAD DE MURCIA

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

CERTIFICA:

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

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

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

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

Fdo.: Juan María Vázquez Rojas

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

“Mechanical, histological and histomorfométrico evaluation of Zirconia modified by femtosecond laser implants versus Titanium implants. Experimental study at American Fox Hound at three months”.

BACKGROUND

Despite of extended use around world and demonstrated long success of Titanium implants, **(Albrektsson T y cols. 2008; Dierens M y cols. 2011; Malo P y cols. 2011; Jacobs R y cols.2010)**, there are at the literature reviewed some disadvantages with respect to them, both to short and long period of time. These disadvantages are Titanium sensibility or the possibility of producing allergic reactions **(Javed F y cols. 2011; Siddiqi A y cols. 2011; Sicilia A y cols. 2008)**, gingival retraction or gingival translucency at thin biotypes that may exhibit the grey color of Titanium implants at aesthetics zones of maxilla **(Kan JY y cols. 2011; Nisapakultorn K y cols. 2010; Verdugo F y cols. 2009)**.

For these reasons, it is been sugested the use of Yttria stabilized polycrystalline tetragonal zirconia (Y-TZP) implants as an alternative to Titanium implants. Zirconia implants also have some properties like, excellent bone response, minimum inflammation response adjacent to their surface, biocompatibility, excellent optical and aesthetic properties, less bacterial adherence to its surface, high fracture and compression resistance **(Sennerby L y cols. 2005; Depprich R y cols. 2008; Manicone PF y cols. 2007; Hisbergues M y cols. 2009; Kohal RJ y cols. 2004; Quan R y cols. 2008; Scarano A y cols. 2004; Deville S y cols. 2006; Andreiotelli M y cols. 2009)**.

Superficials properties of Zirconium dioxide doesn't allow to realize quimical and physical surface's treatments with the same results than Titanium implants, because of Ziconium resistance to quimical treatments, especially to acid etched (usually treatment of Titanium surfaces) **(Al-Hamdan K y cols. 2011)**.

Commercial Zirconium implant systems are treated by superficial sandblasted. Physical techniques of microtexturing that are applied to Titanium implants actually causes random geometries and superficial roughness values at micrometric and nanometric levels, and these treatments are not clean processes (**Sammons RL y cols. 2005**). Another disadvantage of these microtexturing techniques is the difficulty on its reproducibility because we cannot control the final result of the process (**ter Brugge PJ y cols. 2002**); and sometimes it's necessary to use conductive materials and special vacuum conditions.

One promising technique, with respect to surfaces treatment, in which we can obtain a precise control of texture we want at complex surface cases is microtexturing by laser (**Delgado-Ruiz RA y cols. 2011**).

From the first laser at the 60's to nowadays, this technology has evolved so quickly. At the last years, one of the development line has been the production of high intensity pulse source, particularly sources that produces extremely short pulses, below than picoseconds. These pulse laser, amplified to obtain energies of millijoule (mJ) and conveniently focalized to material surface, allows surface ablation with extreme precision and reproducibility, which produce collateral hurts at the adjacent material slighter than any other thermal source, chemical or mechanical process. The more important advantages of this laser applied to Zirconia, that were described by **Vorobyev AY y cols. 2006**, are:

- It is a clean process
- Produces minimal thermal hurt on the material surface.
- It can be applied on every surface.
- It is not necessary any special environment.
- It is obtained precision and geometry quality
- It is reproducible

OBJETIVES

The aims of this study were:

1. Quantifying the strength of the integration and the mechanical strength of implants modified laser Zirconia and Titanium implants by Periotest[®] to one and three months.
2. Quantifying elemental composition of modified Zirconia and Titanium implants at bone to implant contact to one and three months.
3. To measure and compare bone to implant contact (BIC) at White SKY[®] sandblasted zirconia implants (Bredent medical[®] GMBH & Co. KG, Senden, Germany) treated with femtosecond laser and Blue-sky[®] implants (Bredent medical[®] GMBH & Co. KG, Senden, Germany) by histological and histomorphometric analysis using scanning electron microscope to one and three months of study on American Foux Hound.
4. To measure and compare crestal bone loss at White SKY[®] sandblasted zirconia implants (Bredent medical[®] GMBH & Co. KG, Senden, Germany) treated with femtosecond laser and Blue-sky[®] implants (Bredent medical[®] GMBH & Co. KG, Senden, Germany) by histological analysis to 4 and 12 weeks of study on American Foux Hound.

MATHERIAL AND METHODS

Six American Fox Hound of one year of age, each weighing 14-15 kg were used in the experiment. The Ethics Committee for Animal Research at the University of Murcia, Spain, approved the study protocol at 12th May 2010. All the animals followed the Royal Decree (RD)1201/2005 of 10 October, on protection of animals used for experimental and other scientific purposes and LAW 32/2007 of 7 November, for the care given to animals on his farm, transport, testing and sacrifice. Furthermore, the proyect followed 2010/63/UE DIRECTIVE OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 September 2010 on protection of animals used for scientific purposes. The animals were fed a daily pellet diet. Clinical examination determined that the dogs were in good general health.

Surgical procedure

The animals were pre-anesthetized with acepromazine 0.2–1.5%mg/kg 10 min before administrating butorphanol (0.2mg/kg) and medetomidine (7 mg/kg). The mixture was injected intramuscularly in the femoral quadriceps. An intravenous catheter was inserted in the cephalic vein and propofol was infused at a slow, constant rate of 0.4mg/kg/min. Local infiltrative anesthesia was administered at the surgical sites. These procedures were carried out under the supervision of a veterinary surgeon. Bilateral mandibular tooth extractions (P₂, P₃, P₄ and M₁) were performed. The teeth were sectioned in a buccolingual direction at the bifurcation using a tungsten carbide bur; the roots were individually extracted using a periosteal elevator and forceps, without damaging the bony walls. Wound closure was carried out using single non-resorbable sutures (3-0 TB-15. Lorca Marín Ref. 55346).

During the first week after surgery, the animals received antibiotics and analgesics: Amoxicillin (500mg, twice daily) and Ibuprofen 600mg (three times a day) via the systemic route. Sutures were removed after two weeks. The dogs were fed a soft diet for 14 days after the sutures were removed.

Implants were placed after a two-month healing period. After crestal incision, a full thickness flap was reflected and each site was prepared following the protocol recommended by the implant manufacturer (Bredent medical® GMBH & Co. KG, Senden, Germany), preparing a bed of 4mm diameter and 10mm length. Each mandible received four cylindrical screw implants, all with the same dimensions at the intraosseous portion.

After the suture was carried out, an initial radiographic of implants as well as a control initial primary stability of the implants by the measurement system Periotest®, was taken.

The secondary stability of implant was taken the same day of animal's sacrifice before it.

Implants

48 implants of 4mm diameter and 10mm length were used, randomly divided into two groups: **Control** twenty-four titanium Blue-sky® implants (Bredent medical® GMBH & Co. KG, Senden, Germany); **Group A** twenty-four White SKY® sandblasted zirconia implants (Bredent medical® GMBH & Co. KG, Senden, Germany) treated with femtosecond laser pulses to create 30µm wide, 70µm pitch length microgrooves over the entire intraosseous surface.

Histological preparation

Three animals were sacrificed for each time period by an infusion of sodium pentothal (Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA) through the carotid artery with a fixative containing a mixture of 5% glutaraldehyde and 4% formaldehyd. The veterinarians confirmed the dog's death and immediately proceed to the dissection of the mandible.

Jaws were dissected from each animal and each study area was extracted using a diamond bur at high speed.

The samples were fixed in formalin and dehydrated in a graded series of ethanol. It was performed degreasing and drying with alcohols from low to high concentration by 50% ethanol, 70%, 80%, 90% for 15 min each and drying of the surface with acetone at 30%, 50%, 70% and 90% for 15 minutes each, then 100% acetone for 30 minutes.

Half of the implants and bone around of each were included in methylmethacrylate (Technovit 7100®, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany) of scanning electron microscope (SEM) analysis.

Using a micro-cut diamond (Exakt-Apparatebau, Norderstedt, Germany), we cut into vestibulo-lingual direction, 100µm-thick sections along the axis of each implant.

These sections were reduced to 50 microns thick using polishing techniques with extrafine paper discs with a grain granulometry number 2000.

The other half of implants and bone around were stained with toluidine blue by Dr. Daniel Rothamel for their histological analysis.

STATISTICAL ANALYSIS

Calculations were performed using SPSS 15[®] (Chicago, Illinois, USA), licensed from the University of Murcia, setting a value of $p < 0.05$. The statistical methods used were: Descriptive statistics: Mean, median, standard deviation and standard error.

Test-way ANOVA to compare two or more groups of data.

Post-hoc and Bonferroni tests to compare means between groups.

RESULTS

Initial Primary and Secondary implant stability

At primary stability analysis, we observe that the mean of Periotest[®] values is lower at modified Zirconia implants (-6.167) than Titanium implants (-5.250).

If we observe the means of both periods of time for both groups, we can observe that the highest value (-5.250) was found at day 0 at Titanium group, on the contrary, we found the lowest (-6.833) value at modified Zirconia group at one month.

Other aspect to mark, is that the PTVs are lower at one month than the day 0. On the contrary, PTVs at three months increase or didn't have variation if we compare it with the first month.

The mean differences between groups at initial primary stability were no significant ($p > 0.05$). The same occurs at secondary stability at one and three months. Therefore, both Titanium and modified Zirconia implants behave with no differences with respect to initial primary and secondary implant stability.

Elemental analysis

We observe that the mean differences at Carbon element between groups was significant ($p < 0.05$) as one month as three months. So, we can say that the percentage of Carbon element at Zirconia group (12.529%) is significantly lower at one month in comparison to Titanium group (15.776), but significantly higher at three months.

On the contrary, at Oxygen element, there was no significant differences between groups at one month ($p > 0.05$), although Oxygen is higher at Zirconium group (12.347). But at three months, the mean percentage of Oxygen is significantly higher ($p < 0.05$) at Zirconia group.

If we analyze the mean differences for Phosphorum element between both groups, we see that the differences at one month (Ti: 3.768; Zir: 3.853) are no significant ($p > 0.05$). However, at three months, the percentage of Phosphorum was significantly higher ($p < 0.005$) at Titanium group (Ti: 4.25; Zir: 3.91).

In relation to Calcium, we saw that at both period of time, the mean differences between groups were no significant ($p > 0.05$). Although, the higher percentages of Calcium were found at Titanium group at one and three months.

Bone to implant contact (BIC)

In relation to BIC values in this study, we saw, after examination, a mean of bone-implant contact for Titanium implants of $51.36\% \pm 12.03\%$ at one month of study, and an average of $61.73\% \pm 16.27\%$ at three months of study.

At Zirconia implants modified by femtosecond laser, we saw an average of $44.68\% \pm 17.66\%$ during the first month and an average of $47.94\% \pm \text{BIC of } 16.15\%$ during the 3 month study.

As we can see these values increase in the two study groups implants when compared with the first month until the third month of the study. Indicating an adequate osseointegration of them during the process of osseointegration.

With respect to the ANOVA applied to the variable percentage of BIC, we saw that there was no statistically significant differences ($p > 0.05$) between the titanium implant group and the group of implants Zirconia modified by femtosecond laser.

Comparing both groups Post-Hoc test showed that one month of study, for the dependent variable percentage of BIC, were no significant differences between groups ($p = 1$). The same for the time period of 3 months, there were no significant differences ($p = 0.678$) between the mean percentage of BIC in both groups.

Comparing both groups, at Bonferroni test we saw that the differences between means in the variable percentage of BIC in both groups were not significant when comparing those averages to one and three months of study, since in both groups, the significance level was greater than α ($p = 0.357$ and $p = 1$).

Crestal bone loss

The mean values of crestal bone loss were higher at the first month compared with the third month at both groups; in the group of titanium implant the mean of crestal bone was $0.77\text{mm} \pm 0.69\text{mm}$ moreover, at Y-TZP group the mean was smaller than titanium group, $0.013\text{mm} \pm 0.57\text{mm}$.

On the other hand, the mean values of crestal bone loss at third month were smaller. Titanium group values were smaller than Y-TZP group, the mean value of crestal bone loss for this group was $0.07\text{mm} \pm 0.34\text{mm}$. In contrast, the mean value for Y-TZP at third month was higher, $1.25\text{mm} \pm 1.73\text{mm}$.

After applying the test of normality ANOVA for each group, we observed a significance level of $p=0.024$ for Titanium group and a significance level of $p=0.133$ for modified Zirconium group.

If we compare the mean of crestal bone loss at one month between Titanium group (0.77mm) and Zirconia group (0.01mm), there was no significant differences, although at modified Zirconia implants we obtain less crestal bone loss. On the other hand, if we compare both groups, Titanium (0.07mm) and Zirconium (1.25mm), at three months, crestal bone loss was significantly lower at Titanium implants.

CONCLUSIONS

There were no significant differences at initial primary and secondary implant stability between modified by femtosecond Zirconium implants and Titanium implants.

We have not found significant differences at Calcium percentage between Zirconia and Titanium implants at three months of study. Although, Carbon, Oxygen and Phosphorum percentages, were significantly higher at Titanium implants at three months of study.

Bone to implant contact between Zirconia and Titanium implants did not show significant differences. So, surface treatment to making microgrooves by using femtosecond laser, increase osseointegration at Zirconia implants compared with Titanium implants.

At bone crestal loss between Titanium implants and modified by femtosecond Zirconium implants were no significant differences at one month. Although, at three months of study, crestal bone loss was higher at Zirconia implants.