



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**Estudio Experimental Comparativo de
Materiales Implantológicos Estimulando la
Oseointegración con Láser Terapéutico Vs.
Ozonoterapia**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A (N)

Alvaro Villegas Cisneros

Carlos Alberto Pérez Gómez

Director Mtro. Juan Manuel Takane Torres

Dictaminadores C.D. Carlos León Velasco

Mtro. Isaac Obed Pérez Martínez



Los Reyes Iztacala, Edo de México 17 de enero de 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Estudio Experimental Comparativo de Materiales Implantológicos Estimulando la Oseointegración con Láser Terapéutico Vs. Ozonoterapia.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
Facultad de Estudios Superiores Iztacala
Carrera de Cirujano Dentista

DIRECTOR: **CMF Juan Manuel Takane Torres**
Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM
Universidad de Cuautitlán Izcalli UCI

ASESORES: **CD Carlos León Velasco**
Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM

Mtro. Isaac Obed Pérez Martínez
Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados IPN

AUTORES: Alvaro Villegas Cisneros
Carlos Alberto Pérez Gómez

**Memoria de Tesis de Licenciatura para optar al Título de
Cirujano Dentista con Mención Honorífica.**

México, 17 de Enero de 2012

*Existe al menos un rincón del universo que con toda
seguridad puedes mejorar, y eres tú mismo.*

Aldous Huxley

-

AGRADECIMIENTOS

A *DIOS*; el hombre encuentra a Dios detrás de cada puerta que la ciencia logra abrir. Gracias por permitirme seguir escribiendo estos capítulos de mi vida.

A *MI FAMILIA Y AMIGOS*; ambos merecen estar en las mismas líneas de mis dedicatorias y aprecio pues los amigos son la familia que Dios nos permitió escoger.

La mitad de mis días los pasamos en casa y la otra mitad en mi otra casa, pero ahora hablare de la primera mitad del día: mamá pues a diario me llevo tus bendiciones al salir de casa, padre te agradezco tus sabios consejos para enfrentar los desafíos de la vida principalmente esos son los que me han desarrollado en una sociedad de competencia, hermanos Aarón y Adrian cada escena que he vivido a su lado es de suma motivación para seguir adelante. Tías Carmen, Tere, Martha Vega. Primos: Jorge, América, Jocelyn, Omar, Ariel. A todos ustedes está dedicado este esfuerzo.

C.D. Mauricio Espinoza Ruiz, especialmente quiero decir que tú fuiste quien me inspiro y finalmente me oriento hacia el maravilloso universo de la Odontología, no solo eres mi dentista sino el amigo que ayudaba en mi comprensión de la carrera. Gracias por enseñarme a hacer las cosas cada vez mejor.

Carlos, Horacio, Mauricio mis amigos de toda la carrera a lado de ustedes viví experiencias que alimentaban fuertemente el espíritu, estamos creciendo juntos y es bueno saber que vamos hacia un mismo horizonte.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL; la otra mitad del día la paso en mi otra casa, que afortunadamente es la máxima casa de estudios y ya es una década de pertenecer orgullosamente a la mejor institución académica de Iberoamérica y una de las mejores del mundo.

Porque la universidad es eso, un universo de pensamientos que aprenden a convivir, así pues, en este viaje conocí a mis maestros de piel dorada y sangre azul.

CMF Juan Manuel Takane Torres, Académico de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala y coordinador de la licenciatura en Odontología de Universidad de Cuautitlán Izcalli, por su amistad y valiosa dedicación para que este proyecto de tesis saliera adelante.

C.D. Carlos León Velasco, Jefe de sección académica de la clínica odontológica Cuautitlán y académico de la misma por la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por sus consejos y colaboración en la aplicación de laserterapia, por su paciencia, interés e incondicional soporte en la elaboración de esta tesis y de toda mi vida profesional.

M.C. Isaac Obed Pérez Martínez, por sus ánimos y su dedicación a este trabajo. Fue el primer contacto que tuve con la investigación y es una fortuna que usted nos impartiera nuestras primeras clases orientadas hacia la investigación.

UBIPRO; M.C Rafael Emiliano **Quintanar** Zúñiga, por su entusiasmo, vitalidad y por sus horas invertidas valorando las imágenes de microscopía electrónica.

UNIDAD DE MORFOFISIOLOGÍA Y FUNCIÓN; Dr. Rodolfo Cárdenas Reygadas, por su disposición a fomentar la correcta investigación, sugerencias y propuestas para que prosperara este proyecto.

LABORATORIO DE MICROSCOPIA; Mtro. Héctor Barrera Escorcía, por las facilidades y adiestramiento en el uso de los microscopios de nuestra Facultad.

A la Especialista en Medicina y Patología Bucal, Dra. Nancy Monroy Pérez. Por su colaboración en el procesamiento y lectura de las muestras histopatológicas.

MVZ. Lucio Nuñez Ayala, por su ayuda y consejo en el cuidado de los animales. Ese tiempo invertido fue vital para la realización de este trabajo.

A LA UNIVERSIDAD DE CUAUTILÁN IZCALLI; por permitirnos realizar algunas actividades dentro de sus instalaciones abriendo el vínculo entre universitarios.

AL INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGIA; Debo reconocerlo ya que gracias a esta excelente institución he podido seguir adelante cumpliendo mis metas que he trazado.

Dr. Valentín Lozano Zavaleta, su temple como ser humano llena de alivio toda vez que con ayuda de su profesionalismo puedo cumplir esta etapa.

Dr. Liberio Santana Cruz. Su humanidad es una inspiración en mi formación personal y académica.

Todos quienes integran el cuerpo de enfermería, personal administrativo y de intendencia, reitero mis agradecimientos pues su intervención es imprescindible para la presentación de mi examen profesional.

...Cada paso en este sendero es por ustedes

Alvaro.

AGRADECIMIENTOS

Dedico este esfuerzo con el cual culmino mis estudios universitarios, a mis padres y hermanas, los cuales siempre estuvieron junto a mi apoyándome y ayudándome desde el inicio, es decir desde que era niño hasta ahora que me he convertido en hombre y logre la culminación de esta etapa en mis estudios. Gracias por todo el amor que me han dado toda la vida.

Así mismo quiero agradecer a todas las personas que de una u otra manera me ayudaron al desarrollo de este proyecto, ya que sin ellas no hubiera sido posible la realización del mismo; también me gustaría agradecer a todos los profesores que fomentaron mi educación, y definitivamente a mis amigos que hicieron más grata mi vida universitaria.

Por último quiero agradecer a la Universidad Nacional Autónoma de México, por haber sido mi casa todos estos años y sobre todo por haberme dado la formación necesaria para salir a enfrentarme al mundo real.

Carlos Alberto.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS

I. RESUMEN

II. ABSTRACT

III. INTRODUCCION

La oseointegración en la Implantología: panorama histórico

IV. OBJETIVOS

V. JUSTIFICACION

VI. MARCO TEORICO

1. TEJIDO ÓSEO

2. CONSTITUYENTES DEL TEJIDO ÓSEO

2.1 La matriz ósea

2.1.1 la matriz orgánica

2.1.1.1 Colágeno

2.1.1.2 Osteocalcina

2.1.2 la matriz inorgánica

2.2 Las Células Óseas

2.2.1 Osteoblastos

2.2.2 Osteoclastos

2.2.3 Osteocitos

3. BASES EN LA CICATRIZACIÓN ÓSEA

3.1 Fisiología y Reparación ósea

3.2 Tipos de cicatrización ósea de los implantes

3.2.1 Fibrointegración

3.2.2 Oseointegración

3.3 Tipos de Hueso en Implantología

4. BIOMATERIALES, BIOCOMPATIBILIDAD: DEFINICIONES Y REQUISITOS

- 4.1 Requisitos para el uso de un material como biomaterial
- 4.2 Definición de la Biocompatibilidad
- 4.3 Evaluación de la Biocompatibilidad

5. IMPLANTES DENTALES. MORFOLOGÍA, SUPERFICIES Y BIOMATERIALES

- 5.1 El titanio en la implantología dental
 - 5.1.1 Biocompatibilidad
 - 5.1.2 Propiedades mecánicas
 - 5.1.3 Resistencia a la corrosión

- 5.2 Morfología y Superficies
 - 5.2.1 Clasificación de las superficies

- 5.3 Zirconio
- 5.4 Nitinol
- 5.5 Nitruro de Titanio
- 5.6 Oro

6. OSTEointegración

- 6.1 Fundamentos
- 6.2 Desarrollo de la interfase hueso-implante
- 6.3 Mecanismo de oseointegración
- 6.4 Fases de la oseointegración
- 6.5 Requisitos de la oseointegración
- 6.6 Evaluación de la oseointegración
 - 6.4.1 Valoración Clínica
 - 6.4.2 In Vitro: Estudio de cortes histológicos

7. IMAGENOLÓGÍA EN IMPLANTOLOGÍA

- 7.1 Radiología intraoral y ortopantomografía
 - 7.1.1 Principios Básicos
- 7.2 Tomografía Axial Computarizada
 - 7.2.1 Principios Básicos

8. LÁSER

8.1 Tipos de láser

8.1.1 Láser de Alta Potencia

8.1.2 Láser de Baja Potencia

8.2 Clasificación de laser

8.3 Dosimetría

8.4 Efectos biológicos de laserterapia sobre las células

8.5 Formas de aplicación

8.6 Contraindicaciones

9. OZONO

9.1 Mecanismo de Acción

9.2 Propiedades del Ozono

9.3 Modo de Administración

9.4 Dosimetría

9.5 Contraindicaciones

VII. HIPÓTESIS

VIII. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

IX. MATERIAL Y MÉTODO

X. VARIABLES

XI. CONSIDERACIONES ÉTICAS

XII. RESULTADOS

XIII. DISCUSIÓN

XIV. CONCLUSIONES

XV. ANEXOS

XVI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

I.

RESUMEN

La Implantología ha evolucionado rápidamente en los últimos años y el empleo de biomateriales implantológicos en la recuperación de tejidos es cada vez más frecuente. Los defectos óseos resultantes de infecciones, traumatismos o resecciones oncológicas, o simplemente la pérdida de un órgano dentario van a producir severos problemas funcionales y/o estéticos, que van a precisar de un tratamiento complejo. Por esta razón, es necesario conocer el proceso de reparación y la reacción producida entre los tejidos huéspedes y los biomateriales a nivel histológico, ya que ello contribuirá al éxito, en el largo plazo, de los tratamientos rehabilitadores. Últimamente, las aportaciones al terreno de la implantología se han debatido entre técnicas que favorecen a la oseointegración, pasando por un sin fin de biomateriales. Clínicamente, se ha podido observar la efectividad de diferentes materiales implantológicos, pero cuando han sido analizados histológicamente, han demostrado algunas variaciones que, muchas veces, las hacen inaceptables para la terapia odontológica. **Objetivo.** El objetivo de este estudio fue comparar la formación de hueso nuevo tras la implantación de 5 biomateriales al estimular la reparación periimplantaria con terapia laser y ozono. **Material y método.** Nosotros empleamos implantes simulados mediante filamentos de una medida estándar de distintos biomateriales implantológicos (Ti, Zr, Au, NiTi, TiN) para comparar su oseointegración entre

ellos en dos grupos in vivo sometidos alternadamente a terapias auxiliares de la reparación tisular periimplantaria (Laser y Ozono). Se utilizaron 2 conejos adultos macho raza New Zeland, en las que se implantaron 5 biomateriales distintos en la epífisis proximal de la tibia derecha por cada biomodelo. Se formaron 2 grupos por cada tibia ya implantada, un grupo A el cual fue sometido a terapia laser de baja potencia y un grupo B en el cual se utilizo ozonoterapia. Los animales fueron sacrificados a los 90 días de la cirugía, realizándose un análisis radiológico, bioquímico, histológico e histomorfométrico. **Resultados.** La evaluación histomorfométrica sugirió que el Conejo sometido a Laser de baja potencia tenía más contacto hueso implante que el conejo sometido a Ozonoterapia. Los marcadores bioquímicos de la remodelación ósea, fueron más altos en el grupo irradiado, cuando se comparó con los valores del grupo de implantes Ozonizados ($P=0.05$ y $P=0.05$), respectivamente, sugiriendo que el proceso de maduración ósea fue más rápido en la tibia del conejo irradiado. Los implantes de Titanio grado V lograron los mayores porcentajes de contacto hueso-Implante en los diferentes grupos independientemente de la terapia de bioestimulación a la que fueron sometidos. **Conclusiones.** El Láser de Baja Potencia tiene un efecto favorable sobre la cicatrización periimplantaria al mejorar la interfaz de crecimiento óseo en el implante

Palabras Clave: *Oseointegración, Implantes, Titanio, Zirconio, Oro, Níquel Titanio, Nitruro de Titanio, Laserterapia, Ozonoterapia, Tejido periimplantario*

II.

ABSTRACT

The implantology has evolved rapidly in recent years and the use of implant biomaterials in tissue recovery is becoming more common. bone defects resulting from infection, trauma or neoplasm, or simply the loss of a tooth body will produce severe functional problems and / or aesthetic, which will require complex treatment. For this reason, it is necessary to know the repair process and the reaction between host tissues and biomaterials at the histological level, as it would contribute to success in the long term, rehabilitative treatment. Recently, contributions to the field of implant techniques have been discussed between favoring the osseointegration, through endless biomaterials. Clinically, it has been able to observe the effectiveness of different implant materials, but when they have been analyzed histologically, has shown some variations that often make them unacceptable for dental treatment. **Objective.** The aim of this study was to compare new bone formation after implantation of biomaterials May 1 after stimulating the repair periimplant laser therapy and ozone. **Material and methods.** We use simulated implants by filaments of a different pattern as biomaterials implant (Ti, Zr, Au, Ni-Ti, TiN) to compare the osseointegration between them into two groups alternately subjected to in vivo therapy aids tissue repair periimplant (Laser and Ozone) . Using 2 adult male rabbits race New Zealand, which were implanted 5 different biomaterials in the proximal epiphysis of the right tibia. There were 2 groups for each tibia and implanted, a group A which was subjected to low-power laser therapy and

group B in which use ozone therapy. The animals were sacrificed at 90 days of surgery in radiological analysis, biochemical, histological and histomorphometric analysis. **Results.** The histomorphometric evaluation suggested that the rabbit subjected to low-power Laser had more bone-implant contact than the rabbit subjected to ozone therapy. The biochemical markers of bone remodeling were higher in the irradiated group, when compared with the values of the Group of Ozonized implants ($P = 0.05$ and $P = 0.05$), respectively, suggesting that the process of bone maturation was fastest in the irradiated rabbit tibia. Implants of titanium grade V achieved the higher percentages of contact bone - implant in the various groups irrespective of therapy of biostimulation to which they were subjected. **Conclusions.** Low power laser has a favourable on periimplantaria healing effect to improve the interface of bone growth of implants.

Keywords: *Osseointegration, Implant, Titanium, Zirconium, Gold, Nickel Titanium, Titanium Nitride, Laser, ozone therapy, peri-implant tissue*

III.

INTRODUCCIÓN

La oseointegración en la Implantología: panorama histórico

Es apasionante y de suma importancia revisar los antecedentes que ha de llevar la presente investigación; La Implantología hoy en día es una práctica con base científica que se ha construido a lo largo de las memorias de la historia, esta disciplina ha surgido con el fin de cubrir la necesidad de sustituir el funcionamiento de algún órgano.

Se ha descrito desde épocas muy antiguas la existencia de sucesos íntimamente relacionados con la Implantología, sería imposible soslayar los inverosímiles acontecimientos ocurridos en la arcaica África, teniendo como principal evento el hallazgo de un cráneo femenino en la región de Faid Suard Argelia, el cual daba muestra de la colocación de la primera implantación necrópsica en la historia de la humanidad (*Figura 1*); este implante sería utilizado para remplazar o sustituir al segundo premolar superior derecho a partir de una falange de un dedo introducido en el alveolo de dicho diente, todo esto hace unos 9000 años durante el neolítico.



FIGURA 1. Vista del cráneo de Faid Soudard, obsérvese la lesión ósea encima del 2° premolar, producida por una infección que provocó la pérdida de la pieza. Sustituido por un implante de hueso procedente de la falange de un dedo.

En América no fue la excepción, una de las más grandes culturas como es la Maya, tuvo protagonismo en la aportación de acontecimientos a lo que la Implantología refiere; En una región llamada *La Playa de los muertos* en Honduras se descubrieron pequeños porciones de concha incrustados en los incisivos mandibulares, teniendo como relevancia que fueron colocados “*in vivo*”; esto aproximadamente en el año 400 o 600 D.C. (Figura 2)



FIGURA 2. La cultura maya fue pionera en odontología implantológica, obsérvese las conchas incrustadas en zonas de incisivos

Así bien la prehistoria cumple la vital explicación de nuestro presente, teniendo una importante relevancia como gestora de los hechos que ahora tanto nos apasionan, teniendo así el compromiso de revelar o colaborar con los sucesos que han de marcar nuestro futuro.

Continuamente, en la edad media en el siglo X, existieron evidencias de escritos que reconocían la pérdida de un órgano dental y de cómo era tarea fundamental dar solución al problema; aun más sorprendente, narran los escritos un procedimiento de cómo se ha de realizar lo que actualmente se conoce como implante. (Figura 3)



FIGURA 3. Reposición y ligadura de los dientes en el Al Tasrif de Abulcasis (izquierda). Durante el siglo X, el cirujano cordobés Abulcasis recomienda esta técnica en su obra quirúrgica Al Tasrif. (derecha)

En los siglos XVII Y XVIII se siguen produciendo diversos intentos y estudios en busca de la colocación de implantes dentarios, teniendo como lugar principal Francia, siendo así influencia en toda Europa y América del norte principalmente; se empezaron a realizar prácticas y reimplantación

dentaria a partir de extracciones a plebeyos que más tarde se colocarían en nobles; en el siglo XIX y XX, existe un marcado retroceso en la práctica de la implantación dental, teniendo como principal móvil cuestiones relacionadas con la moral y los procesos higiénicos; esto se debió a la creencia de que no era correcto la explotación de un órgano de una persona de clase baja para implantarlo a una persona de una clase mejor acomodada, así como la pronunciada transmisión de enfermedades, respectivamente. (Figura 4)



FIGURA 4. Pintura de Rowlandson titulada "Transplanting of teeth" donde se representa y critica la inmoralidad de esta técnica que mutilaba a los pobres para remediar a los ricos.

Una vez más notamos como han de ir ocurriendo sucesos que vigorizan los estudios experimentales y teóricos que Irán forjando el avance más complejo del que ahora formamos parte. (Figura 5)

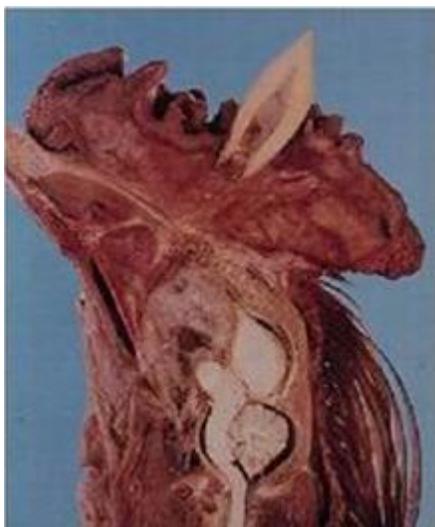


FIGURA 5. En Inglaterra, un gran valedor de la trasplatación fue el destacado cirujano John Hunter, que llegó a injertar un diente en la cresta de un gallo para demostrar la viabilidad de los mismos.

Con el paso de los procesos históricos notamos el avance de nuevas formas y teorías más completas y complejas en las manos de diversos investigadores como Emile Magitot, Maggiolo, E.J. Greenfield, siendo este último considerado como el científico que documentó en 1915 las bases de la odontología moderna, haciendo referencia a las normas sanitarias de limpieza y esterilidad, y dándole una clara introducción a conceptos relevantes y actuales como lo son la asociación de el implante y las estructuras óseas, así como la importancia de la inmovilidad y la influencia de fuerzas físicas en el implante entre otras. (Figura 6, 7, 8)

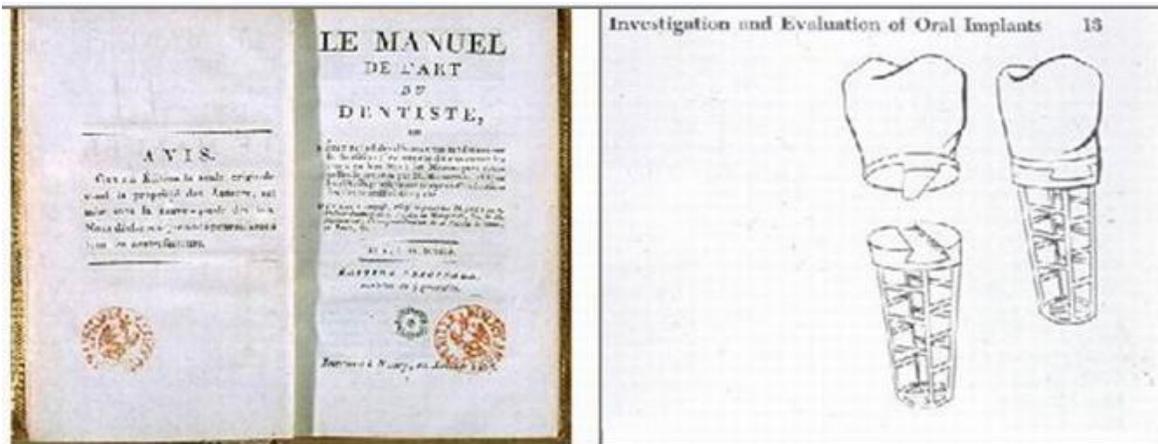


FIGURA 6 y 7. El “Manuel...” de Jourdaion y Maggiolo donde se presenta el primer implante metálico endoóseo (izquierda). Implante en Cesta de Iridio- platino endoóseo de Greenfield.

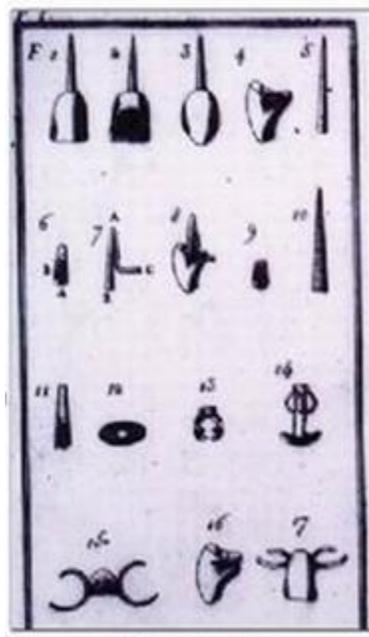


FIGURA 8. Lámina del “Manuel...” de Jourdaion y Maggiolo donde se presenta los distintos tipos de diseños y aditamentos en implantes.

Ahora bien la historia de la Implantología moderna comienza aproximadamente en el año 1940 con el implante tipo tornillo introducido por Formigini. Este fue fabricado en materiales como cromo cobalto, el diseño en tamaño y en biomaterial tenía muchas desventajas, entre las cuales era que al recibir fuerzas laterales este se fracturaba; Sin embargo

los estudios, observaciones y sobre todo las prácticas no paraban, teniendo a su cargo múltiples personalidades estudiando los fenómenos acontecidos durante los siguientes años.

Los años seguirían siendo fructíferos para el desarrollo de nuevas teorías, materiales e investigación de la Implantología, existiendo importantes aportaciones en Italia y España principalmente; Sería imposible mencionar a todos los personajes históricos que con sus aportaciones nos dieron el privilegio de llegar a este punto de la línea de investigación. Así bien daremos un salto a lo que es el principal representante o considerado “padre de la Implantología moderna”: Per Ingvar Branemark.

El suceso comienza en el año de 1952 a partir de una investigación que se desarrollaría en conejos, esta se basaba en estudios microscópicos de la médula ósea en el hueso peroné y tibia, la investigación trataba de promover una mejor recuperación para los traumatismos óseos; Parte importante de dicho estudio fue el introducir una cámara óptica de titanio; esta cámara consistía en un tubo roscado hueco con varillas de cristal a ambos extremos, la cual se introdujo en el hueso del conejo, pero grande fue la sorpresa, ya que cuando se deseaba retirar la cámara óptica del la estructura ósea del conejo, fue prácticamente imposible separarla, debido a que el titanio se había adherido al hueso y tejido circundante teniendo una mineralización compleja entre estas dos estructuras formando una coherencia entre ambos elementos. A partir de este grandioso acontecimiento se empezó a utilizar el concepto de oseointegración de titanio y era indudable la influencia mayor que tendría en el área odontológica; Se empezaron a realizar investigaciones durante los siguientes 13 años en animales y con diversos materiales; finalmente se optó por titanio como simulador de implante en zonas edéntulas, lo cual

tuvo gran éxito, siendo así surgió la idea de crear raíces de titanio que se fijarían al hueso y se tendría la creación de un implante ahora aplicado en pacientes.

En 1965 Branemark publica sus trabajos que demuestran que puede lograrse la oseointegración y a partir de allí, la implantología tuvo un avance exponencial. Esto se utilizó en el revolucionario sistema de implantes dentales aprobados por la Universidad de Goteborg con gran cantidad de pacientes aprobados.

En la década subsecuente se celebra en Harvard una conferencia donde se muestran los experimentos de los suecos de Goteborg, presidido por P I Branemark y T Albrektsson.

Branemark presenta en Toronto, Canadá, un implante dental de titanio con forma de tornillo y su proceso de oseointegración, proceso avalado con pruebas clínicas por más de 10 años.

De esta manera la línea de investigación basada en oseointegración tomaría un camino firme y es en la década de los ochentas, cuando Adell presenta los resultados de sus investigaciones clínicas de casi 300 implantes colocados en 370 pacientes, La mayoría de ellos con procesos exitosos.

En la misma época Schroder desarrolla el concepto de anquilosis funcional, que es lo mismo que la oseointegración. Con un equipo de investigadores en Suiza, desarrolló un sistema de implantes dentales denominado ITI Bonafit.; Por esto, tanto Branemark en Suecia como Schroder en Suiza, paralelamente desarrollan la principal contribución a la implantología hasta nuestros días.

Así bien van surgiendo aportaciones y estudios importantes en cascada; a mediados de la década de los 60' Shahaus desarrolla el implante dental cerámico roscado, Linkow mostraría al mundo el implante dental Ventplant con tornillo autoroscable, posterior a estos aparecería el implante endoóseo en extensión realizado en titanio y resistente a la corrosión, que sería conocido con el nombre de implante laminar.

Sería la década de los 70' en la que Roberts y Roberts presenten el implante endoóseo ramus blade (lamina de Ramus); este implante de lamina estaba hecho de acero inoxidable quirúrgico 136, y se colocaba de forma que se anclara entre las placas corticales de la rama mandibular. Un año más tarde Salomo diseña el implante dental de esfera; formado por un vástago cilíndrico y una esfera. Hacia mediados de esta época Grenoble coloca implantes dentales de carbono de vítreo.

Durante la misma época en la Universidad de Alemania se desarrollan los implantes Intra Móvil Zylinder, con implantes cilíndricos sin rosca pero con tratamiento de superficie a base de plasma de titanio y con una punta rompiefuerzas en la base del implante.

En el comienzo de la década de 1980, Calcitek Corporation desarrolla la calcitita, que es una hidroxiapatita cerámica policristalina. Luego distintos investigadores desarrollan implantes dentales de titanio recubiertos de hidroxiapatita.

Con el transcurrir de las décadas, principalmente la de los 90's ya la implantología se ha difundido como una nueva disciplina quirúrgica dentro de la odontología del área médica desde entonces el tratamiento con implantes dentales donde hay dientes faltantes es un procedimiento muy común. Se han perfeccionado tanto las técnicas de colocación de implantes dentales como los implantes en sí mismos. Otros procedimientos

también colaboran en la recuperación dental. Como es la regeneración ósea, la ortodoncia al servicio de la Implantología, la manipulación de tejidos blandos, mejorando el éxito en la colocación de implantes dentales y su mantenimiento.

CONCLUSIONES

Hoy en día la implantología es una ciencia con base en antecedentes históricos que han permitido la difusión a casi todos los estratos sociales y en casi todos los países del mundo.

Desde las experiencias del Profesor Branemark, demostrando la oseointegración del titanio, la implantología se volvió una ciencia exacta, siendo predecible y posibilitando su generalización. Sobre esta base, los estudios posteriores, permitieron contar con diferentes modelos, formas, tamaños de implantes dentales, distintos tipos de tratamiento de superficie, distintas posibilidades de prótesis, etc.

Hoy se cuenta con gran cantidad de marcas que ofrecen no solo distintos tipos de implantes dentales, sino que destinan una parte de sus ingresos a nuevas investigaciones, siempre en beneficio de un avance en este proceso de rehabilitar, ante la ausencia de un órgano; he aquí nuestro interés por seguir proliferando el conocimiento, que indudablemente es minúsculo en comparación con la inmensidad que está por descubrirse.

IV.

OBJETIVOS

1. Precisar si algún biomaterial genera mayor actividad osteoblástica en una superficie respecto de otra.
2. Comparar la formación de hueso nuevo y su oseointegración tras la implantación de distintos biomateriales.
3. Valorar radiológicamente cantidad y calidad ósea sobre la superficie del biomaterial.
4. Determinar si el tiempo de oseointegración y reparación tisular para un grupo de implantes varía respecto de otro, si son bioestimulados con láser y/o ozonoterapia.
5. Evaluar mediante análisis histológico, el porcentaje de contacto Hueso-Implante de cada biomaterial.
6. Identificar, mediante el MEB, el biomaterial que presente el mayor porcentaje de contacto hueso-implante.

V.

JUSTIFICACIÓN

En la última década el área de la rehabilitación a través de la cirugía implantológica ante aquellos casos de pérdida de un órgano se ha desarrollado enormemente, debido al gran número de implantes osteointegrados colocados en los últimos años y la amplia gama de biomateriales; así pues, La Implantología actual ofrece resultados altamente predictibles y por este motivo, es uno de los más grandes avances científico-tecnológicos de aplicación clínica en nuestros tiempos, de manera que, los pacientes usuarios de prótesis han pasado a tener a su alcance una posibilidad real para solucionar sus problemas funcionales, estéticos y sociales.

Esto ha motivado a los fabricantes a intentar diseñar el implante que consiga una adaptación con el hueso semejante a la natural, intentando evitar en los posibles fenómenos adversos, tales como la reabsorción ósea que se produce alrededor de los implantes osteointegrados. Para ello se llevan a cabo distintas líneas de investigación. Algunos tratan de desarrollar nuevos biomateriales, otros modifican la estructura de superficie de los implantes, otros mejorar la técnica de colocación.

En este punto se plantean algunas preguntas, ¿cuál es el inconveniente en la Implantología, entre tantas ventajas? La respuesta es el factor "tiempo".

¿Cuál es el biomaterial implantológico óptimo que mejora la oseointegración?, ¿qué terapia bioestimulante acelera la reparación del tejido periimplantario en menor tiempo?

El factor tiempo es el objetivo de la mayor parte de la investigación desarrollada en Implantología. Disminuir el tiempo necesario para conseguir la oseointegración (contacto directo entre hueso vivo y ordenado), sin detrimento del porcentaje de éxito que se consigue actualmente, y colocar al paciente la prótesis implantosoportada con la mínima demora es uno de los aspectos prioritarios.

Por este motivo, la introducción de tecnologías (laser, ozono, etc.) que coadyuven la estimulación de la biología ósea y diferenciación tisular, y las modificaciones del comportamiento del implante respecto al hueso, a través del desarrollo de biomateriales, representan las dos grandes líneas de investigación.

El desarrollo tecnológico en biomedicina es muy prometedor y suponemos que serán una realidad próximamente a nuestro alcance. Las mejoras en los biomateriales implantológicos de los implantes ya son una realidad.

El implantólogo se ve acosado por la información de implantes, que permiten acelerar el tiempo que el metabolismo óseo necesita para lograr el porcentaje mínimo de contacto hueso-implante. Lo cierto es que los trabajos que aportan evidencias sobre el resultado exitoso de los biomateriales implantológicos son, en su mayoría clínicos y muchos de estos carecen de evidencia científica pues dichos estudios son promovidos por los fabricantes. El interés de esta tesis está en poder valorar *in vivo*, que

es lo que está ocurriendo en la zona de contacto hueso-implante según los diferentes tipos de biomateriales que interactúan con él y si existe algún hecho constatable que fundamente este comportamiento.

¿Es cierto que diferentes tipos de biomateriales del implante estimulan la formación ósea y consiguen porcentajes de oseointegración mayores en menos tiempo?, ¿la aplicación de laser y ozono mejorara la calidad y cantidad periimplantaria en la interfase hueso-implante?, ¿Cuál de estas tecnologías estará mejor indicada en la respuesta tisular?

El papel de las propiedades de la superficie (química y estructural) para la interacción entre los tejidos y biomateriales todavía no entiende. Es ampliamente aceptado que las propiedades de superficies desempeñan un papel importante en la interacción entre materiales implantados y tejido²⁹⁶⁻²⁹⁸. Sin embargo, las propiedades específicas de cada biomaterial son de importancia son desconocidas. Las investigaciones encaminadas a encontrar las correlaciones entre las diferentes propiedades de la superficie y las respuestas biológicas en los diferentes los sistemas biológicos es necesaria para comprender y eventualmente, para el controlar, las interacciones del complejo hueso-implante.

Uno de los problemas que surgen al revisar la bibliografía, y que son de nuestra atención reside en que los implantes osteointegrados presentan todavía un numero de complicaciones iniciales y tardías que precisan investigación. Tradicionalmente el Ti fue considerado como un metal perfectamente biocompatible debido a su película de óxido "bioinerte" de la superficie. Sin embargo, en la última década, la actitud hacia Ti y sus aleaciones ha cambiado. Varios informes han advertido que Ti disuelto en el cuerpo humano puede inducir la liberación de potencial de citocinas

osteolíticas (provocando la disolución del hueso) implicando en el aflojamiento del implante.

Para despejar estas incógnitas "in vivo" utilizaremos implantes simulados con los biomateriales más comunes en cirugía implantológica del área médica, y más destacados en los reportes científicos de las últimas décadas. En el presente trabajo, hemos elegido estudiar la respuesta del hueso a 5 metales diferentes, a saber, Titanio (Ti), Níquel- Titanio (NiTi), Nitruro de Titanio (TiN), Zirconio (Zr) y Oro (Au) y compararemos su comportamiento.

La motivación para la elección de estos materiales fueron que: (i) el Titanio y sus aleaciones, tales como el Níquel-Titanio, y recientemente el Nitruro de Titanio son materiales conocidos en Implantología que se han utilizado ampliamente con éxito en varias aplicaciones biomédicas ²⁹⁹⁻³⁰¹. Por lo tanto, el Titanio es un material de referencia valiosa para este tipo de estudio; (ii) el Níquel-Titanio tiene poco tiempo de ser introducido en el campo implantológico sin embargo su uso se ha expandido en diversos campos clínicos debido a sus propiedades que caracterizan este biomaterial: su memoria de forma y superelasticidad. En este sentido estudios *in vitro* demuestran que el NiTi no induce ningún tipo de efecto citotóxico, con resultados similares al Ti puro en la mayoría de los casos ¹³¹⁻¹³⁶. (iii) el Nitruro de Titanio, no se trata de una aleación propiamente dicha sino en la mejora de las propiedades del titanio a base de la nitrurización del mismo de tal forma que, posee una resistencia al desgaste muy superior a las aleaciones de titanio, a la vez que mejora también las propiedades de resistencia a la corrosión. (iv) del Zirconio no se usa ampliamente como un material clínico, sin embargo hay evidencia que demuestra ventajas frente al titanio como la disminución de procesos

inflamatorios, y además, está químicamente tiene varias propiedades en común con titanio.

Por ejemplo, ambos son metales de transición y normalmente están cubiertos por una delgada superficie de óxidos, químicamente estables. Sin embargo, la mayoría de las propiedades físicas y químicas, tales como las tasas de oxidación, estructuras cristalinas, propiedades de transporte, interacciones con el medio acuoso. etc., de los dos metales o sus óxidos difieren cuantitativamente³⁰².

Por ello es de interés para investigar si estas diferentes propiedades influyen en la respuesta biológica; (v) el oro es claramente diferente de los otros dos metales. Es un metal noble que no forma óxidos superficiales (excepto bajo condiciones extremas).

Por lo tanto, expone a una superficie metálica real hacia el entorno biológico, a diferencia de titanio y de circonio que exponen a los óxidos (por ejemplo de cerámica) las superficies²⁹⁶.

Las superficies de los cinco materiales tienen en común que son químicamente muy estables y altamente resistentes a la corrosión en la mayoría de los entornos³⁰², y los productos liberados de los implantes probablemente no tengan influencia en la respuesta biológica.

Así pues, Con este trabajo pretendemos comparar 5 biomateriales implantológicos que, de acuerdo a la literatura se han desempeñado clínicamente igual y en algunos reportes mejor que el titanio grado 5 sobre el tejido óseo periimplantario y su efecto en la oseointegración. Elegimos la tibia de un conejo (New Zealand) adulto, como biomodelo para valorarlo.

Después de revisar la literatura científica respecto a los métodos de valoración de la oseointegración, pensamos que el análisis debe llevarse a cabo desde el punto de vista clínico, mediante un seguimiento radiográfico como es de rutina; bioquímico de expresión de la fosfatasa alcalina, osteocalcina, calcio; Estos análisis serán de gran utilidad, ya que nos permite evaluar la "actividad ósea *in vivo*" e *in vitro* mediante un estudio longitudinal y observar la respuesta que se obtiene según el tipo de biomaterial implantado.

Vamos a dar importancia al uso de la histometría para evaluar la respuesta celular observando entonces el porcentaje de contacto óseo a nivel lineal o perimetral. Por supuesto que también ha de ser importante la valoración cualitativa tras la observación microscópica, valorando parámetros tales como densidad y tipo de células inflamatorias y orientación de las fibras de colágeno del tejido conjuntivo. Como investigación complementaria compararemos el desempeño de la terapia laser y de ozono aplicadas sobre el proceso de oseointegración y remodelación periimplantaria a fin de lograr una estimulación tisular.

Adicionalmente en nuestro caso, el sacrificio del animal de experimentación (en el momento en que en la zona intervenida muestra una actividad ósea parecida a la del inicio del experimento), permite cuantificar el porcentaje de oseointegración, mediante el estudio de las imágenes obtenidas con el microscopio electrónico de barrido (MEB) y correlacionarlo con los análisis bioquímicos y el tipo de biomaterial.

VI.

MARCO TEÓRICO

1

EL TEJIDO OSEO

El hueso es un tejido conectivo especializado que juntamente con el cartílago forma el sistema esquelético. Tiene tres funciones principales: mecánica (soporta el cuerpo y es zona de unión de la musculatura); protectora (de los órganos vitales y la médula ósea); y metabólica (como reserva de iones, especialmente calcio y fosfato)(1).

Desde un punto de vista anatómico, en el esqueleto se pueden distinguir dos tipos de hueso: los huesos planos (como los huesos craneales, la escápula, la mandíbula, el ilion, etc.) y los huesos largos (como la tibia, el fémur, el húmero, etc.).

A nivel microscópico, el hueso largo está formado por tres partes diferenciadas (*Figura 9*): dos extremos anchos (epífisis), en el medio un tubo más o menos cilíndrico (diáfisis) y la zona intermedia entre estas dos partes (metáfisis) que es la que se encuentra en continuo desarrollo. La epífisis y la metáfisis se originan a partir de dos centros de osificación independientes y durante el crecimiento están separadas por una capa de cartílago llamada cartílago epifisario o plataforma de crecimiento que realiza el proceso de calcificación.

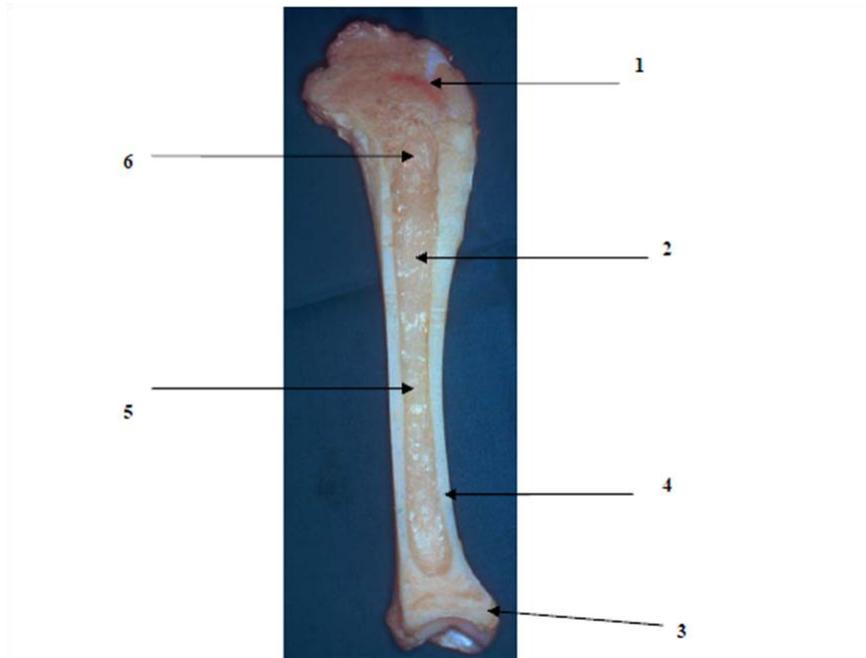


FIGURA 9. Sección longitudinal de una tibia: 1) epífisis proximal 2) diáfisis 3) epífisis distal 4) hueso cortical 5) canal medular 6) médula ósea.

En el análisis histológico del esqueleto de un individuo adulto (*Figura 10*) se observa que está formado por hueso cortical o compacto que es el principal responsable de la integridad mecánica (80% del volumen total del hueso) y por hueso trabecular o esponjoso que es el responsable fundamental de las demandas metabólicas (20% del volumen total del hueso). El hueso cortical constituye la mayor parte de la diáfisis de los huesos largos así como de la parte externa de todos los huesos del cuerpo. Tiene una estructura de láminas o anillos concéntricos alrededor de canales centrales llamados canales de Havers que se extienden longitudinalmente. Los canales de Havers están conectados entre sí por otros canales llamados canales de Volkmann que perforan el periostio. Ambos canales son utilizados por los vasos sanguíneos, linfáticos y nervios para extenderse por el hueso. Entre las láminas concéntricas de matriz mineralizada hay pequeños orificios o lagunas donde se encuentran los osteocitos. Estas células intercambian nutrientes con el líquido intersticial a través de una serie de canalículos por donde se extienden prolongaciones

celulares citoplasmáticas. Los canalículos están conectados entre sí y, eventualmente a los canales de Havers. El canal de Havers junto con las láminas concéntricas que lo rodean, las lagunas, los canalículos y los osteocitos recibe el nombre de osteona o sistema de Havers. Las restantes láminas entre osteona se llaman láminas intersticiales.

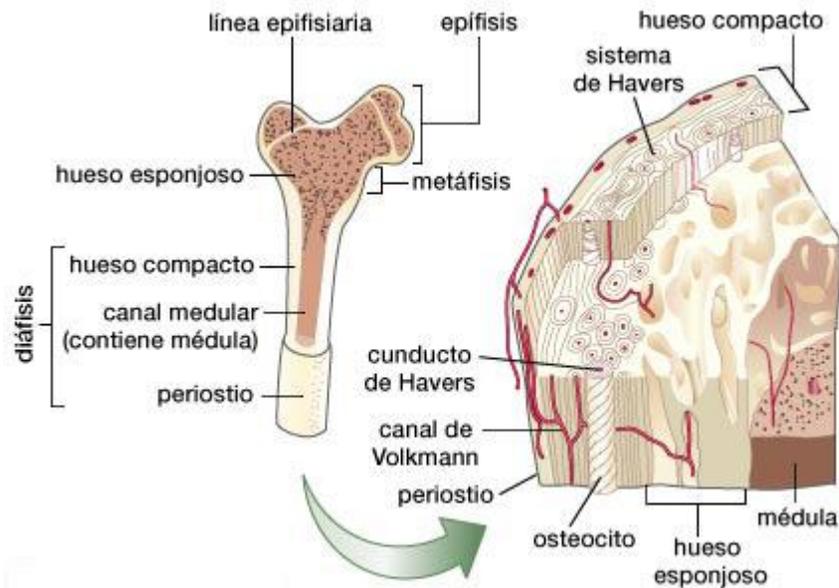


FIGURA 10. Esquema morfológico de la estructura ósea.

A diferencia del hueso compacto, el hueso trabecular no contiene osteonas, sino que las láminas intersticiales están dispuestas de forma irregular formando unos tabiques o placas llamadas trabéculas. Estos tabiques forman una estructura esponjosa dejando huecos que están llenos de la médula ósea roja. Dentro de las trabéculas están los osteocitos que yacen en sus lagunas con canalículos que irradian desde las mismas. En este caso, los vasos sanguíneos penetran directamente en el hueso esponjoso y permiten el intercambio de nutrientes con los osteocitos. El hueso esponjoso es el principal constituyente de las epífisis de los huesos largos y del interior de la mayor parte de los huesos planos. En la superficie de las trabéculas se encuentran dos tipos celulares encargados del

mantenimiento del tejido óseo. Por un lado tenemos los osteoblastos (precursores de los osteocitos) que son las células encargadas de la síntesis y deposición de la matriz ósea y su posterior mineralización y por otro lado los osteoclastos que son los encargados de la destrucción de las superficies óseas para la posterior reposición de matriz nueva.

2

CONSTITUYENTES DEL TEJIDO ÓSEO

2.1 LA MATRIZ ÓSEA

La matriz del tejido óseo tiene la peculiaridad de que se encuentra mineralizada. Esta matriz es metabólicamente activa y se halla formada por una fase mineral y una fase orgánica (un 65% material cristalino inorgánico y un 35% matriz orgánica). La fase orgánica está formada por fibras de colágeno tipo 1 orientadas en una dirección preferencial (90% de la proteína total), por proteínas no estructurales de menor tamaño (osteocalcina, osteonectina, fosfoproteínas, sialoproteínas, factores de crecimiento, proteínas séricas, etc.), y por glicosaminoglicanos y lípidos. La fase mineral está formada por iones de fosfato cálcico depositados en forma de cristales de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) entre las fibras de colágeno⁽¹⁾.

La matriz ósea es la responsable de las propiedades biomecánicas del hueso. Las fibras de colágeno proporcionan flexibilidad y resistencia a la tensión mientras que las sales minerales confieren dureza, rigidez y resistencia a la compresión.

2.1.1 La matriz orgánica

2.1.1.1 Colágeno

El colágeno tipo 1 es la molécula que forma la estructura básica de la red de fibras de la matriz ósea. Se trata de una molécula formada por dos cadenas $\alpha 1$ estructuralmente iguales pero genéticamente distintas y una cadena $\alpha 2$ (2). El colágeno tipo 1 es sintetizado por los osteoblastos, odontoblastos y fibroblastos (3) y es secretado como procolágeno que es la molécula precursora caracterizada por la presencia de extensiones peptídicas amino y carboxiterminales. Antes de que las moléculas de colágeno se unan para formar la triple hélice, las dos regiones terminales sufren una reacción proteolítica provocando su liberación (4).

2.1.1.2 Osteocalcina

La osteocalcina, también llamada *bone Gla-protein* (BGP) es una pequeña proteína de 49 aminoácidos, específica del tejido óseo y la dentina, que constituye el 20% de las proteínas no colágenas presentes en la matriz ósea. Se caracteriza por la presencia de un aminoácido derivado de una modificación postraducciona, vitamina K dependiente, del ácido glutámico (gla). La biosíntesis de la osteocalcina es dependiente de la vitamina K y es estimulada por la presencia de vitamina D. En presencia de concentraciones fisiológicas de calcio, los residuos gla proporcionan un cambio conformacional a la molécula que promueve la unión de la osteocalcina con la hidroxapatita favoreciéndose la formación ósea y su posterior mineralización (5).

La osteocalcina sintetizada se queda mayoritariamente incorporada a la matriz ósea debido a su capacidad de unión al calcio y a la hidroxapatita, pero una fracción de esta es liberada a la sangre siendo su determinación bioquímica un buen indicador de índice de formación ósea (6).

2.1.2 La matriz inorgánica

La matriz ósea contiene abundantes sales minerales depositadas en forma de cristales de hidroxiapatita o fosfato tricálcico $[Ca_3(PO_4)_2(OH)_2]$ y algo de carbonato cálcico. Todas estas sales se depositan en una redícula formada por las fibras de colágeno. El proceso por el cual estas sales se depositan y cristalizan en la redícula se denomina mineralización. La formación de los cristales de hidroxiapatita está regulada por los osteoblastos.

Al inicio de la mineralización los cristales de sales minerales son depositado entre la matriz de colágeno. Cuando el hueso va madurando los cristales minerales incrementan en tamaño hasta formar la estructura totalmente rígida que constituye el hueso mineralizado.

2.2 LAS CÉLULAS ÓSEAS

En el hueso existen principalmente dos tipos celulares; los osteoblastos y los osteoclastos. Existe un tercer tipo celular que deriva de la diferenciación terminal de los osteoblastos, llamados osteocitos (*Figura 11A y 11B*). Las células óseas aunque constituyen menos del 2% del volumen total del hueso, protagonizan el desarrollo y remodelado del esqueleto a través de la actividad que llevan a cabo (1).

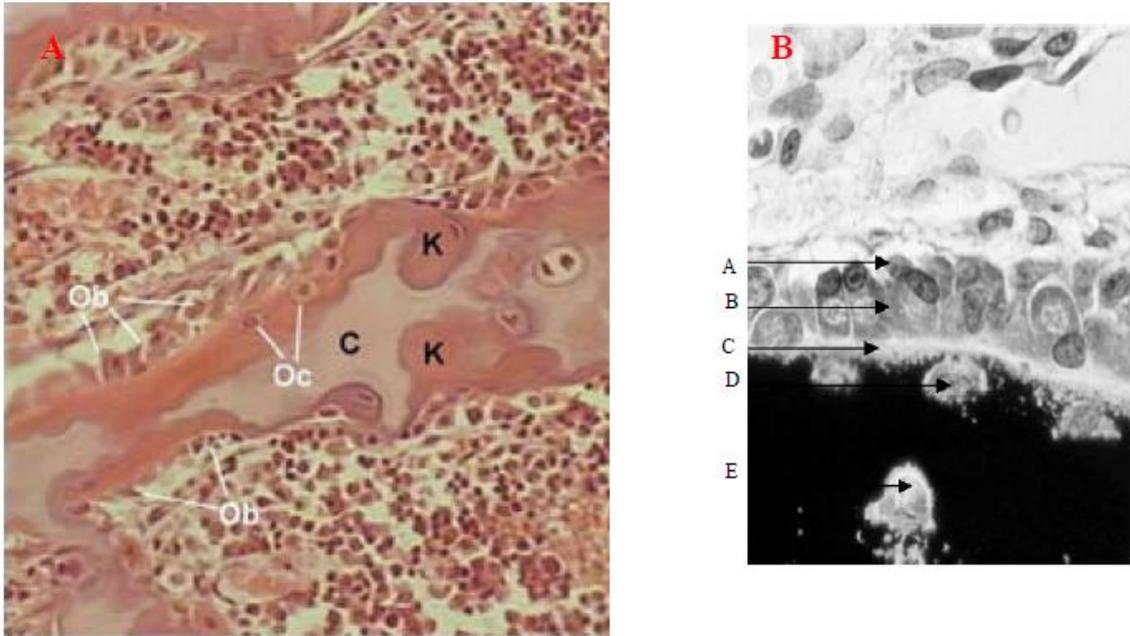


FIGURA 11 a. Imagen de microscopía óptica de un corte transversal de hueso trabecular donde se observan los tipos celulares que lo forman. Ob: Osteoblastos, Oc: Osteoclastos. **11b.** Imagen de microscopía óptica de un corte longitudinal de hueso donde se observan los diferentes estadios de diferenciación osteoblástica *in vivo* de forma secuencial. A: pre-osteoblastos, B: osteoblastos, C: osteoide, D: pre-osteoclastos, E: osteoclastos

2.2.1 Osteoblastos:

Los osteoblastos son las células responsables de la formación ósea y del mantenimiento de la arquitectura esquelética. Su función principal es la síntesis y deposición de las proteínas de la matriz del hueso (osteoide). Son células cuboidales con núcleos redondos y citoplasma basófilo que normalmente se encuentran en las superficies óseas (periostio y endostio) formando una única monocapa adherente (23)[Marks y col., 2002]. Bajo el microscopio electrónico los osteoblastos activos presentan las características de una célula secretora con un prominente complejo de Golgi y una gran cantidad de cisternas de retículo endoplasmático rugoso. Son células polarizadas que presentan el núcleo celular en posición distal respecto la superficie celular, poseen regiones especializadas de la membrana plasmática modificada para el tráfico y la secreción vesicular y para establecer uniones con los osteoblastos adyacentes (23) [Prêle y col.,

2003]. La membrana plasmática se caracteriza también por ser rica en fosfatasa alcalina y por poseer receptores para la hormona paratiroidea (PTH), esteroideos, estrógenos y 1.25-dihidroxitamina D3 (vitamina D) (7). Están separados de la matriz ósea mineralizada por una fina capa de matriz no mineralizada.

Los osteoblastos regulan la diferenciación y actividad de los osteoclastos. De esta manera, los osteoblastos, juntamente con los osteoclastos, juegan un papel importante en el recambio óseo y en la homeostasis del calcio.

Los osteoblastos derivan de células progenitoras de origen mesenquimal (MSC) localizadas a la superficie del periostio y en el estroma de la médula ósea (23) [Aubin y col., 2002]. Las células mesenquimales progenitoras o MSC tienen la posibilidad de diferenciarse a mioblastos, fibroblastos, adipocitos, condrocitos u osteoblastos en función de los factores de crecimiento o diferenciación que intervengan(8) (Figura 12).

Los osteoblastos son células especializadas que no están diferenciadas terminalmente. Durante el proceso de formación ósea los osteoblastos pueden quedar embebidos en la matriz ósea donde se diferencian hacia un estadio maduro dando lugar a los osteocitos(23) [Marks y col., 2002]. Otro posible destino de las células del linaje de los osteoblastos es convertirse en células de revestimiento (células del endostio o “*living cells*”) las cuales a través de la secreción de factores locales parecen desarrollar un importante papel en el control del remodelado óseo(9). Por último, algunos osteoblastos activan su mecanismo apoptótico antes de quedarse embebidos en la matriz ósea (23) [Jilka y col, 1999].

La proliferación y diferenciación de los osteoblastos se produce bajo la influencia de un gran número de factores de transcripción, factores de

crecimiento y hormonas (23) [Aubin y col., 2002]. El factor de transcripción Cbfa1/Runx-2 es específico de osteoblasto y es imprescindible para la diferenciación de los osteoblastos actuando en las fases tempranas. Otro factor de transcripción implicado en de la diferenciación osteoblástica es Osterix. Se trata de un factor de transcripción específico de osteoblastos que actúa en la etapa más tardía de la diferenciación siendo también imprescindible para que esta tenga lugar(10) (Figura 12).

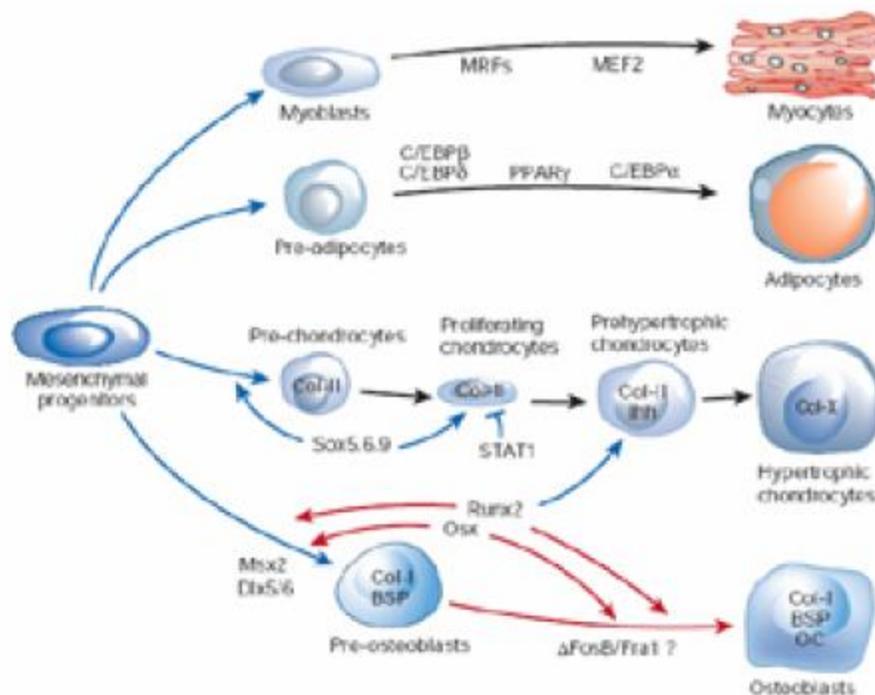


FIGURA 12. Crecimiento y diferenciación osteoblástica. Aparecen los factores de transcripción específicos para la diferenciación hacia los diferentes tipos celulares

2.2.2 Osteoclastos

Los osteoclastos son las células encargadas de la resorción ósea. Normalmente se encuentran en las superficies óseas de gran actividad de remodelado.

Los osteoclastos son células grandes, multinucleadas (entre 4-20 núcleos), de citoplasma acidófilo y ricas en anhidrasa carbónica y fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP) (11). Tienen una área de la membrana plasmática especializada conocida como borde en cepillo “*Ruffled border*” que puede considerarse como un lisosoma extracelular especializado. Esta área está formada por invaginaciones que tienen un íntimo contacto con la superficie ósea. La resorción tiene lugar en la zona que queda sellada entre el borde en cepillo y la superficie ósea llamada *laguna de Howship*. Los enzimas lisosomales (fosfatasa ácida y colagenasa) se secretan a través del borde en cepillo a la *laguna de Howship* donde las bombas de protones presentes en la membrana citoplasmática de las invaginaciones crean un ambiente ácido que disuelve los constituyentes de la matriz ósea(7). (Figura 13).

Los osteoclastos derivan de células hematopoyéticas mononucleares de la médula ósea, concretamente las células formadoras de granulocitos y macrófagos (CFU-GM). Los precursores osteoclásticos mononucleares circulan por la sangre y en la superficie del endostio proliferan, se fusionan formando células multinucleares, forman el borde en cepillo y producen la resorción(1).

El osteoclasto es una célula móvil que después de producir ácidos y enzimas lisosomales en la laguna se desplaza a través de la superficie del hueso para resorber en otro lugar y finalmente desaparece de la zona por un proceso de apoptosis.

En la regulación de la diferenciación y la actividad osteoclástica intervienen un gran número de factores que actúan principalmente a través de los receptores superficiales de los osteoclastos. Entre ellos

encontramos al receptor activador del factor nuclear kappa B (RANK) que tiene un papel muy importante en la transducción de la señal de diferenciación y activación de los osteoclastos al unirse a su ligando específico

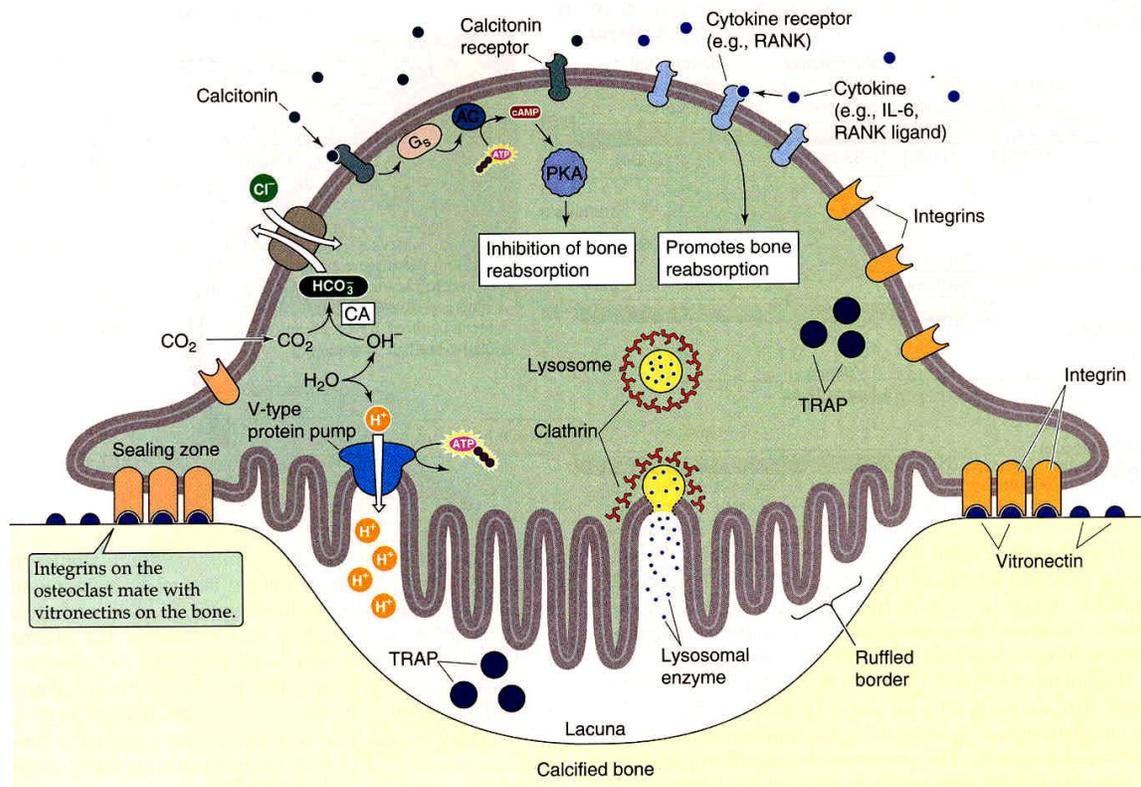


FIGURA 13. Representación esquemática de un osteoclasto activo polarizado incluyendo los procesos moleculares de la resorción

2.2.3 Osteocitos

Los osteoblastos totalmente diferenciados que quedan embebidos en la matriz ósea mineralizada se convierten en osteocitos (aproximadamente entre el 10-20% de los osteoblastos). Los osteocitos residen en el interior de las lagunas de hueso mineralizado (Figura 14). Tienen disminuida la secreción de proteínas de la matriz debido a la falta de difusión nutricional ya que su única fuente de nutrientes y de intercambio gaseoso es a través

de los canalículos que se han ido formando durante la mineralización. Los osteocitos se comunican con los osteoblastos y células de revestimiento de la superficie ósea a través de "gap junctions" que hay entre los canalículos.

Los osteocitos tienen una morfología variable en función de su edad. Comparten gran parte de las características ultraestructurales con los osteoblastos pero tienen disminuido el volumen celular y la importancia de los organelos celulares implicados en la síntesis proteica (Figura 15).

El destino final de los osteocitos es ser resorbidos por los osteoclastos, tras su apoptosis, juntamente con el resto de elementos que forman la matriz ósea.

Hasta hace algunos años no se había considerado que los osteocitos pudieran ser una pieza clave del metabolismo óseo pero en estudios recientes se ha descrito la importante función que tienen como mecanosensores y en la activación local del remodelado(1).

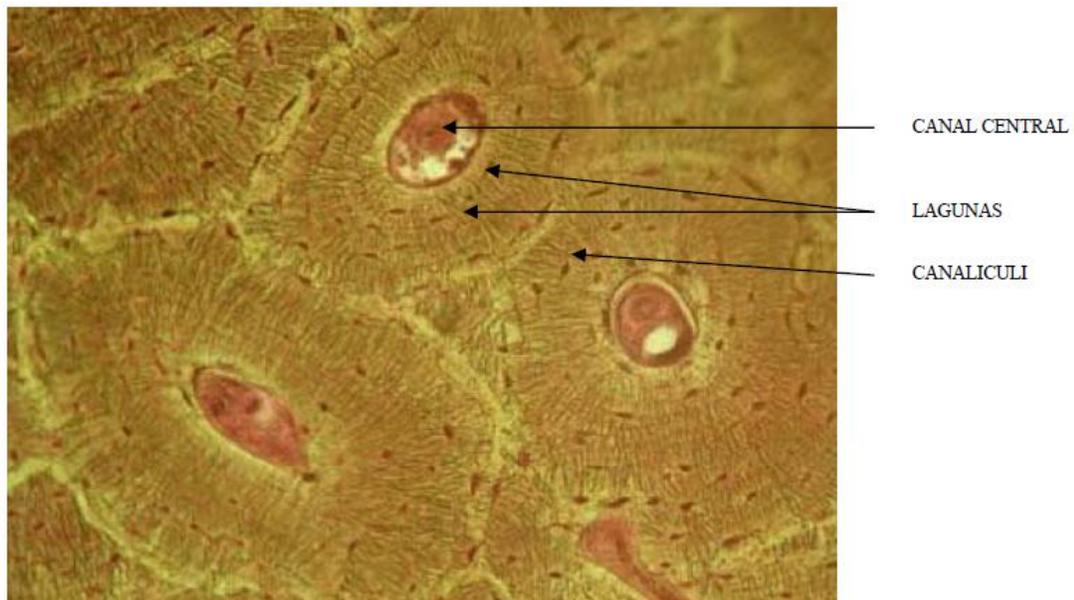


FIGURA 14. Imagen de microscopía óptica de una sección de hueso cortical. Se observa la histología de sistema de Havers u osteona mostrando la organización lamelar del colágeno en la matriz ósea madura y la morfología y distribución canalicular de los

osteocitos. Se observan las lagunas donde residen los osteocitos formando capas en la osteona concéntrica.

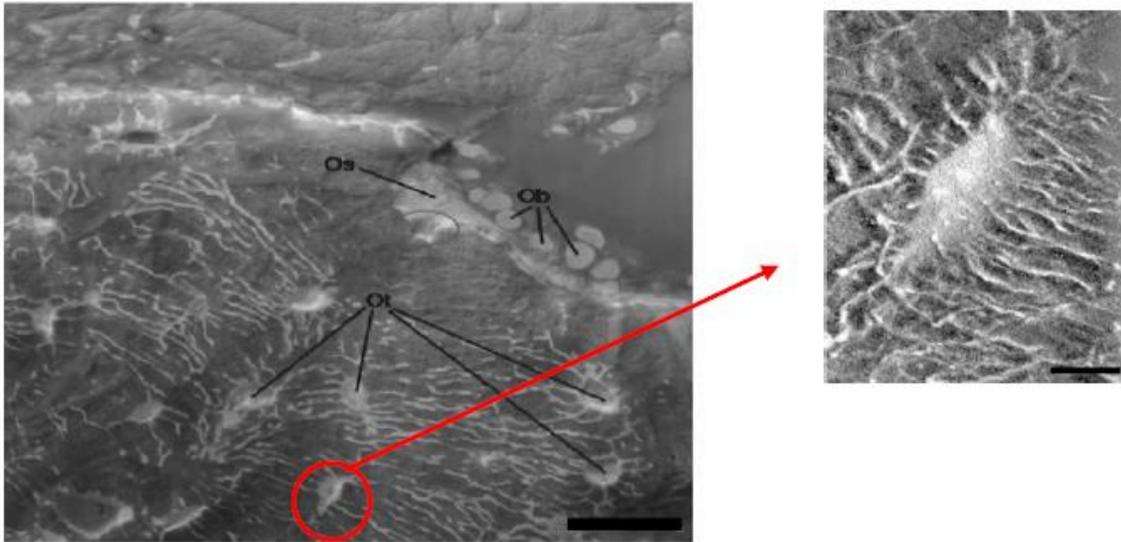


FIGURA 15. Imagen de microscopía electrónica de un corte longitudinal de hueso largo, donde se puede observar el proceso de formación de los osteocitos. Ob: Osteoblastos presentes a las superficies del periostio. Os: Osteoide sin mineralizar que va formando los osteoblastos en las zonas donde se produce remodelado. Ot: Osteocitos que van quedando dentro de la matriz ósea que va siendo mineralizada. Las prolongaciones que aparecen alrededor de los osteocitos son los canaliculos por donde los osteocitos mantienen el contacto con las superficies para producir el intercambio nutricional y gaseoso

3

BASES EN LA CICATRIZACIÓN ÓSEA

Para hablar de cicatrización ósea es necesario primero dominar importantes conceptos histológicos, bioquímicos y fisiológicos que involucran a este proceso. La homeostasis esquelética, también llamada homeostasis mineral del organismo, está regulada por interacciones entre órganos, células, factores de señal, hormonas y factores de crecimiento que actúan a nivel intra y extracelular regulando a este nivel el metabolismo del calcio, fisiológicamente fundamental para la formación y el remodelado óseo a lo largo de la vida. La consolidación ósea es un proceso extremadamente complejo, no un simple proceso local, se involucra todo el organismo. Este es un elemento importante a tener en cuenta para el pronóstico y evolución de cada paciente.

3.1 FISIOLÓGÍA ÓSEA Y PROCESO DE REPARACIÓN ÓSEA.

El hueso se caracteriza por tener cuatro componentes microestructurales: células, matriz orgánica, matriz inorgánica y factores solubles de señal. Estos cuatro componentes se integran en dos diferentes jerarquías macroscópicas: el hueso cortical y el hueso esponjoso(13).

Osteoblastos.

Derivan de una estirpe de células mesenquimáticas pluripotenciales también llamadas células madre o "stem cells". Los osteoblastos son

células secretoras metabólicamente activas que expresan factores solubles de señal y osteoide.

Algunos de los factores solubles de señal son por ejemplo: BMPs (Bone morphogenetic proteins.- Proteínas óseas morfogenéticas-), ILGF I y II (Insulin like growth factor.- Factor de crecimiento semejante a la insulina-), TGF- β (Transforming growth factor.- Factor de crecimiento transformador-), Interleukina-1, PDGF (Platelet- derived growth factor.- factor de crecimiento derivado de las plaquetas).

El osteoide es un producto cuya modificación extracelular construye una estructura orgánica insoluble que está constituida mayoritariamente por colágeno tipo I. La expresión de estos productos procedentes de los osteoblastos ocurre de la misma manera durante la embriogénesis ósea, el remodelado óseo o la reparación de una fractura.

Durante el remodelado el osteoide se produce a razón de 2 a 3 μm al día, y cuando alcanza los 20 μm , después de un periodo de maduración de unos 10 días, se mineraliza a razón de 1 a 2 μm al día. Parece ser que la señal para que se inicie la mineralización procede del acúmulo de proteínas no colagénicas que captan el calcio (14).

La vida activa de los osteoblastos se encuentra entre 1 y 10 semanas desapareciendo posteriormente, aunque el 15% de ellos se transforman en osteocitos y otros forman las "células de revestimiento"(13) que son elementos celulares que no han sido incorporados a la matriz, y que adoptan un aspecto aplanado(13, 15).

Osteocitos.

Son células relativamente inactivas, aunque su función es crucial para el mantenimiento de la viabilidad ósea, también llamada homeostasis esquelética y la homeostasis mineral del organismo(13,15).

El complejo proceso de la homeostasis está regulado por interacciones entre órganos, células, factores de señal, hormonas y factores de crecimiento que actúan a nivel intra y extracelular. En cuanto al mantenimiento de la viabilidad ósea, el citoplasma osteocítico (a través de los canaliculos que discurren en el interior de la masa ósea: conductos de Havers y conductos de Volkmann), relaciona los osteoblastos y osteoclastos, transmitiendo señales que regulan el calcio, este es un proceso fisiológico fundamental para la formación y el remodelado óseo a lo largo de la vida(13).

La vida del osteocito es de varios años, incluso décadas, y es incapaz de renovarse de forma que, su reemplazo se hace a través de la diferenciación de las células precursoras de los osteoblastos.

Osteoclastos.

Los precursores de los granulocitos macrófagos, entran en la circulación sanguínea como elementos mononucleados del sistema hematopoyético (no monocitos maduros), y a través de su fusión, producen células multinucleares de más de 100 μm de diámetro (15) con 10 a 12 núcleos, que son los osteoclastos(13).

También se especula si los osteoclastos proceden directamente de células osteoclastoprogadoras titulares (15). Su peculiaridad es que poseen un borde ondulado, que tienen receptores para la calcitonina entre otros, y producen fosfatasa ácida tartrato resistente(13).

Morfológicamente, esta célula gigante multinucleada cuando se une al hueso, desarrolla su borde ondulado y en este formato puede cumplir su función de reabsorción ósea a través de la liberación de múltiples enzimas en esta zona de unión.

Muchos factores son los que regulan su actividad, pero el más importante parece ser la Interleukina-11. La comunicación recíproca entre osteoblastos y osteoclastos dinamiza este proceso en el que se produce un descenso del pH, gracias a la anhidrasa carbónica que liberan los osteoclastos(15) para disolver la matriz inorgánica exponiendo la matriz orgánica a la acción de las enzimas proteolíticas. Las cavidades óseas resultantes de la acción de los osteoclastos se denominan lagunas de Howship. Se sabe que la hormona paratiroidea (PTH) y la 1,25-dihidroxitamina D3 influyen sobre los osteoblastos para producir la activación de los osteoclastos(15), y que en ausencia de osteoblastos estos factores no tienen efecto(13) (figura 16).

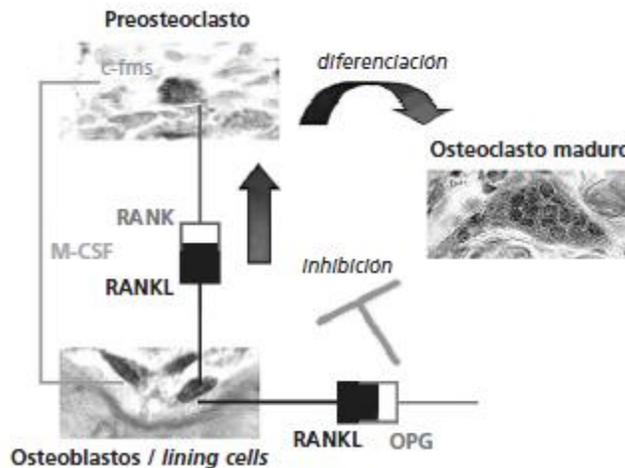


Figura 16. Los eventos celulares de la remodelación ósea

Matriz orgánica.

Aproximadamente el 35% del peso en seco del hueso es matriz orgánica. El colágeno tipo I es su principal componente aproximadamente un 90% y el 10% restante lo forman las proteínas no colagénicas(13, 15). Actualmente es de gran interés el componente no colagénico de este compartimiento, con un gran valor en ingeniería tisular (16) por su posible acción terapéutica. Las proteínas no colagénicas pueden clasificarse en proteoglicanos o glicoproteínas.

Los *proteoglicanos* están compuestos por glucosaminoglicanos unidos por enlaces covalentes a proteínas. Los *glucosaminoglicanos* consisten en unidades de carbohidratos sulfatados repetidas. Algunos de ellos son: condroitín sulfato, dermatato sulfato, keratán sulfato y heparín sulfato. Como ejemplos de proteoglicanos podemos destacar: versicana, decorina, fibromodulina, osteoglicina, y osteoadherina, todos ellos están implicados en la regulación de los factores de crecimiento. Entre otros ejemplos de glicoproteínas podemos nombrar: fibronectina, osteonectina, trombospondina, vitronectina, fibrilina, osteopontina y la sialoproteína ósea.

Estas proteínas no colagénicas pueden modular la adherencia celular (por ejemplo la osteopontina regula la adherencia de los osteoclastos), y median en la calcificación de la matriz orgánica(14).

Las proteínas colagénicas incluyen el colágeno fibrilar (tipo I, II, III, V y XI), el no fibrilar (tipo IV) y los colágenos de triple hélice interrumpida.

Las moléculas adhesivas y antiadhesivas juegan un importante papel en la interacción entre las células y la matriz extracelular, lo que se llama "reciprocidad dinámica".

La *fibronectina*, una glicoproteína asociada a la superficie celular es la proteína de adhesión más importante, de modo que las células se unen a la matriz extracelular colagénica mediante la fibronectina.

La matriz extracelular es una unidad que regula y da entrada, debido a que ofrece un anclaje, a las células que expresan factores solubles como las BMPs, protegiendo y facilitando su liberación según los requerimientos. Las zonas de anclaje de las células se encuentran en un dominio citoplasmático.

Matriz inorgánica.

La matriz inorgánica o compartimento mineralizado, representa el 60-70% del peso en seco del hueso. El 99% del calcio, el 85% del fósforo, y cerca del 40-60% del sodio y magnesio del organismo reside en el esqueleto. El colágeno tipo I del osteoide es el sustrato en el que se deposita el fosfato cálcico (mineralización).

Se trata de un proceso ordenado, tiempo-dependiente, modulado por las células que se realiza a razón de 1-2 μm al día. Cuando existe una solución supersaturada de calcio y fosfato extracelular, sólo se mineralizan los dientes (esmalte, cemento y dentina) y los huesos. La regulación de la homeostasis mineral del hueso se lleva a cabo por tres iones: calcio, fosfato y magnesio que responden a la acción de la vitamina D3, la PTH y la calcitonina. La vitamina D3 aumenta la reabsorción de calcio a nivel intestinal, la PTH la reabsorción a nivel renal, además activa los osteoclastos y la calcitonina y desactiva los osteoblastos, facilitando la restauración del nivel basal de calcio(13,15).

Factores solubles de señal.

Son especialmente importantes en este apartado las proteínas morfogenéticas. Desde que Urist en 1965 (17) descubrió un factor capaz de provocar formación ósea en lugares ectópicos se acuñó el término *osteoinducción*. Más adelante esos factores se denominaron proteínas morfogenéticas(18).

Parece claro que estas proteínas son un grupo de morfogenes que dirigen el desarrollo embriológico de las células, tejidos y órganos, además de jugar un importante papel en la fisiología postfetal.

Gracias a los estudios de diferentes investigadores(19, 20) se han podido identificar las secuencias de aminoácidos que las componen y así clasificarlas desde la BMP-1 a la BMP-13. De esta forma (el estudio de sus cadenas de aminoácidos) se sabe que de la BMP-2 a la BMP-7 forman parte de la familia TGF- β , además de que se dividen en subfamilias. La

BMP-1 no forma parte de la familia de las TGF- β , y es una proteinasa, no identificada en el humano⁽¹³⁾ (**tablas 1 y 2**).

Probablemente existen unas 40 proteínas en la familia de los TGF- β , que se clasifican a su vez en subgrupos o clanes que incluyen del TGF- β 1 al TGF- β 5 y 12 BMPs entre otras.

Las funciones de las BMPs son contradictorias ya que presentan propiedades eclécticas, una característica única de los morfogenes, por lo que se les ha denominado *pleiotrópicas*. Un morfogen que tiene propiedades pleiotrópicas podría ser un problema terapéutico, debido a que se expresa con fenotipos muy diferentes, como es el caso de las BMPs que se han visto asociadas a procesos patológicos (fibrodisplasia osificante progresiva, épulís fibroso calcificante, adenoma pleomorfo parotídeo, tumor de próstata, etc.) e incluso oncológicos (osteosarcoma osteoblástico y condroblástico, etc.), aunque se cree que esta proteína morfogenética ósea es un producto del proceso oncogénico y no está implicada en el origen del tumor⁽¹⁴⁾.

Los receptores para las BMPs son moléculas transmembrana que contienen el dominio serina/treonina/kinasa, de manera que un mismo receptor puede unirse a diferentes BMPs, de este hecho se deduce que quizá la regulación de algunos de sus efectos se deba a que dependen de la combinación de diferentes receptores para desarrollar una acción u otra^(13, 20). Las propiedades, funciones y localizaciones de las BMPs se expresan en la *tabla 1*.

Otros factores fundamentales para la diferenciación y proliferación celular además de las BMPs, son los denominados *factores de crecimiento* o *agentes mitógenos*, que a su vez tienen diferentes orígenes de manera que

pueden ser producidos por el sistema inmunitario, por las plaquetas o también por células de la línea osteogénica. Según Bianchi(15) los factores secretados por las células osteogénicas pueden tener su efecto en células cercanas a las que producen el factor (acción paracrina), sobre las mismas células (acción autocrina), o pueden ser almacenadas en la matriz ósea y ser liberados posteriormente en la resorción ósea, se trataría de una acción paracrina tardía. Algunas de estas sustancias deben actuar en asociación con hormonas como la PTH, calcitonina o la vitamina D3 (tabla 2).

Tabla 1. Propiedades, funciones y localizaciones de los diferentes BMPs.	
BMP	Propiedades, funciones y localizaciones.
BMP- 1	Proteasa (miembro de la familia de las ostacinas); puede actuar como un procolágeno C- proteinasa responsable de eliminar los carboxilo propéptidos de los procolágenos I, II y III. Activadora de las BMPs. No osteoinductiva.
BMP- 2	Osteoinductiva. Interviene en la diferenciación de los osteoblastos, adipositos, condrocitos y neuronas. Puede influenciar en la actividad osteoclástica. Puede inhibir la reparación ósea. Utilizada en la reparación de huesos largos, fisura palatina, aumento del seno maxilar. Localizada en bazo, hígado, cerebro, riñón, corazón y placenta.
BMP-3 (osteogenina)	Osteoinductiva. Promueve el fenotipo condrogénico. Localizada en pulmón, riñón, cerebro e intestino.
BMP-4	Osteoinductiva. Interviene en la formación de las neuronas del sistema simpático, la reparación de fracturas, asociada a la osificación ectópica de la fibrodisplasia osificante progresiva. Localizada en la cresta ectodérmica, meninges, pulmón, riñón e hígado.
BMP-5	Osteoinductiva. Implicada en la embriogénesis del oído medio. Localizada en pulmón, riñón e hígado.
BMP-6	No osteoinductiva. Implicada en la maduración neuronal. Regula la diferenciación de los condrocitos. Localizada en pulmón, cerebro, riñón, útero, músculo y piel.
BMP-7 (proteína osteogénica-1)	Osteoinductiva. Implicada en la reparación de huesos largos, hueso alveolar, fusión vertebral, diferenciación de los osteoblastos, condroblastos y adipositos. Localizada en las glándulas suprarrenales, cerebro, ojo, corazón, riñón, pulmón,

	placenta, bazo y músculo esquelético.
BMP-8 (proteína osteogénica-2)	Osteoinductiva. Implicada en la espermatogénesis del ratón.
BMP-8B (proteína osteogénica-3)	Implicada en el inicio y mantenimiento de la espermatogénesis del ratón.
BMP-9	Osteoinductiva. Estimula la proliferación, crecimiento y función de los hepatocitos.
BMP-12 -13	Inhibición de la diferenciación terminal de los mioblastos.

Tabla 2. Biomoléculas que regulan las células óseas	
Factor de crecimiento esquelético (BMP)	En la matriz ósea, asociada con una proteína de enlace. Por si solo puede unirse a la hidroxapatita aunque el complejo SGF-proteína constituye un enlace mucho más estable. Parece que aumenta la tasa de formación ósea, actuando tanto sobre el número de células como sobre su actividad, favoreciendo la incorporación de prolina en el colágeno y aumentando la acumulación del contenido de fosfatasa alcalina.
Factor de crecimiento Transformador beta (TGF β)	Los osteoblastos parecen ser los únicos que producen este mitógeno que después es almacenado en la matriz extracelular para ser activo durante la resorción ósea. Se cree que los osteoblastos responden de una forma autocrina. En investigación animal resulta ser un potente estimulador de la resorción ósea, en la síntesis de colágeno y en la actividad de la fosfatasa alcalina de las células del osteosarcoma.
Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF)	La producción de este factor está estimulada por una variedad de agentes sistémicos que incluyen la hormona del crecimiento (GH), la somatostatina, la insulina, el 1,25 dihidroxicolecalciferol. No es tan solo un mitógeno celular, sino que también estimula la síntesis de colágeno por parte de los osteoblastos.
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)	Implicado en el proceso de reparación de los tejidos. Además de en la osteogénesis, también está involucrado en la angiogénesis. Constituye una señal quimiotáctica para los fibroblastos y otros tipos celulares que participan en la cicatrización de las heridas, y por lo tanto puede estimular la acción quimiotáctica de los precursores de las células óseas.
Factor de crecimiento derivado del cartílago (CDGF)	Favorece la formación de tejido de granulación y de colágeno, desempeñando un papel importante en la angiogénesis y en la infiltración fibroblástica, ambos procesos fundamentales durante los procesos reparadores.

Actualmente, los avances en el campo de la Biología celular han permitido entender y apreciar la complejidad, sutilidad y belleza del proceso de la curación ósea (13). El objetivo de este apartado es integrar conceptos de Embriología con los conocimientos actuales de la estructura ósea en el proceso de la curación ósea.

Las células mesenquimáticas pluripotenciales se diferencian directamente en el seno del tejido conjuntivo(15) en células formadoras óseas (osteoblastos) en respuesta a las moléculas de adhesión y los factores solubles de señal, identificados como miembros de la familia de los TGF- β (15). Este tipo de formación ósea directa es lo que caracteriza el desarrollo del *hueso intramembranoso*.

Embriológicamente, la formación ósea en el área clavicular y del complejo maxilofacial (mandíbula, excepto un segmento de la apófisis coronoides y de la región parasinfisaria, bóveda craneana, parte del ala mayor del esfenoideas), junto a otras estructuras óseas del mismo origen embrionario como el ílium y la escápula, no queda perfectamente explicada a través de los mecanismos de la formación ósea intramembranosa.

Se acepta que las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), un subgrupo dentro de la familia TGF- β , promueven la diferenciación osteoblástica de las células pluripotenciales, como hemos dicho, posiblemente porque exista un gradiente de concentración de BMPs, y en las áreas de la clavícula y el complejo maxilofacial donde se encuentren en mayor proporción en un determinado periodo del desarrollo embrionario favorece la formación de hueso intramembranoso durante la 5^a y 6^a semana de gestación, en cambio, en regiones como la pectoral, pélvica y las vértebras, las condensaciones celulares responden a un proceso de

formación ósea encondral. Hacia la 7ª semana de vida intrauterina, la clavícula es el primer hueso que se mineraliza, seguida de la mandíbula.

En la secuencia de formación de *hueso encondral*, al que pertenecen la base del cráneo, columna vertebral, pelvis y extremidades, las células mesenquimáticas siguen un camino hacia la estirpe celular condrogénica en lugar de hacia la osteogénica, el motivo tampoco está bien identificado, pero se especula si las BMPs y la síntesis local de factores angiogénicos o angiogenéticos como el *factor básico de crecimiento fibroblástico* (bFGF), actúan en esas localizaciones modulando la expresión del fenotipo celular hacia esta línea condrogénica(13).

Donde se hace más evidente este proceso es en los *centros de osificación primaria* de los huesos largos, entre la epífisis y la metáfisis. En la metáfisis los condrocitos en diferentes estadios de evolución, se disponen ordenadamente en forma de columnas longitudinales, lo que permite el crecimiento del hueso en longitud, a través de los *centros de osificación secundaria*, cuando los osteoblastos provenientes del pericondrio invaden los espacios dejados por los condrocitos degenerados e inician la formación ósea(15).

Independientemente de la ruta de la histogénesis ósea, no existe ninguna diferencia bioquímica, morfológica o funcional entre el hueso encondral y el intramembranoso, y durante la reparación ósea del esqueleto en el adulto también responden a los mismos factores. Las diferencias entre estos huesos de distinto origen se encuentran en la carga funcional y la vascularización. Por ejemplo, el hueso intramembranoso tiene una vascularización mayor que el de las extremidades, lo que puede ser un

factor determinante en cuanto a permitir una mayor concentración de BMPs a nivel local.

Macroscópicamente el hueso se caracteriza por presentar dos aspectos distintos, el de *hueso esponjoso* y el de *hueso compacto* o *lamelar*. La transformación de hueso esponjoso en hueso compacto se debe al aumento de espesor de las trabéculas con la progresiva invasión de los espacios medulares por parte del tejido mineralizado que causa una reducción dimensional de las cavidades preexistentes. El hueso que llena estas cavidades se forma de una manera más lenta, y tiene una disposición más ordenada, donde los haces de colágena se encuentran paralelos entre sí constituyendo unas formaciones denominadas *osteonas* o *sistemas haversianos*(13, 21).

Cuando se produce una fractura ósea, las células y las moléculas de señal aparecen en el lugar a reparar de la misma manera que en el proceso embriogénico. En el momento inicial de la fractura se desencadena una respuesta inflamatoria, con activación del complemento y rotura de vasos. La degradación proteolítica de la matriz extracelular aporta factores quimiotácticos para los monocitos y los macrófagos(1). (Figura 17) Una vez que se activan los macrófagos liberan el *factor de crecimiento de los fibroblastos* (FGF) que estimula a las células endoteliales a expresar el activador del plasminógeno y la procolagenasa. La sangre extravasada forma un coágulo, y las plaquetas que lo integran tienen una función dual: la de hemostasia y la de liberar factores como el PDGF, TGF- β , y el FGF(13, 21).

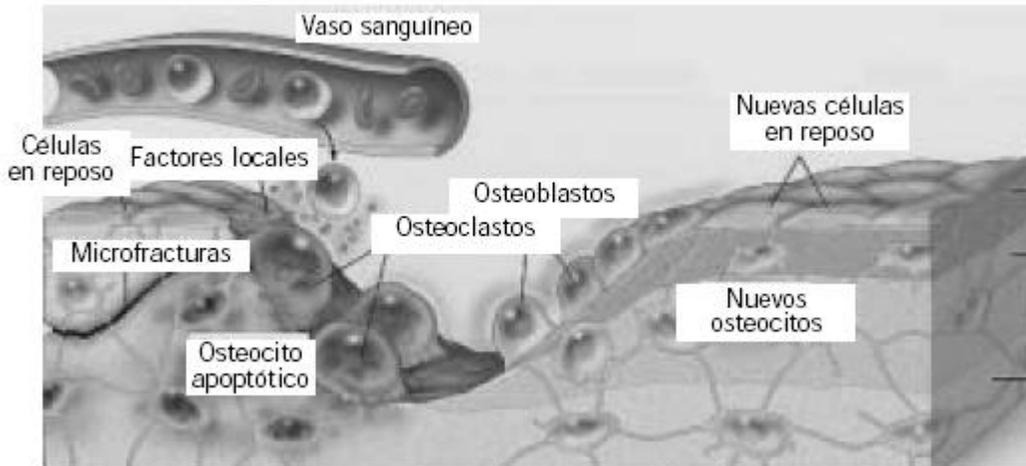


Figura 17. Unidad de remodelamiento óseo

La zona dañada presenta una hipoxia debido a la rotura de los vasos sanguíneos y como consecuencia se produce una disminución del pH, condiciones necesarias para que actúen los macrófagos y los leucocitos polimorfonucleares que eliminan los detritus celulares a la vez que secretan factores que promueven la quimiotaxis y la mitogénesis(21).

A los 3-5 días de la fractura se constituye un tejido de granulación, consistente en vasos, colágeno y células. El colágeno será el substrato que contenga los factores a los que serán sensibles las células y el lugar donde ellas se anclarán cuando lleguen a través de los vasos, periostio, endostio y médula ósea diferenciándose posteriormente en osteoblastos y condroblastos. La maduración del tejido de granulación se produce en varias semanas hasta que se forma el *callo óseo* que más tarde será sustituido por hueso fibroso inmaduro y posteriormente por hueso compacto. El papel del callo óseo es estabilizar los fragmentos de la fractura ya que si existe movilidad este proceso no puede llevarse a cabo, con lo que el tejido que predominará será de tipo cartilaginoso(13, 22).

El último proceso que ocurre en la cascada de fenómenos de reparación ósea es el remodelado, se trata de un proceso de activación- reabsorción- formación, donde los osteoclastos se activan produciendo las lagunas de Howship, que serán repobladas por osteoblastos que expresan osteoide y cuando éste se calcifica se restaura la morfología ósea. Este equipo de células se denomina *unidad básica multicelular*(13).

El proceso activación- reabsorción- formación en los humanos se produce en un periodo de tiempo comprendido entre 3 y 6 meses, periodo de tiempo que se conoce como *sigma*. En el perro la sigma es de 3 meses y en el conejo de 6 semanas(13).

El proceso de remodelado en hueso cortical sería llevado a cabo por los osteoclastos que labran un túnel que posteriormente se repuebla de osteoblastos, a esta unidad funcional que constituyen ambas células se le denomina *cono de corte*(13). El cono de corte actúa en la matriz como una especie de taladro acompañado por las estructuras vasculares que crecen a medida que avanza su actividad erosiva. A cierta distancia del frente de erosión se alinean los osteoblastos, bordeando las paredes erosionadas de la matriz, que se disponen, en forma progresiva para cerrar el túnel creado por los osteoclastos pero sin llegar a obliterarlo. El resultado final de todo este proceso será un conducto de Havers. (figura 18)

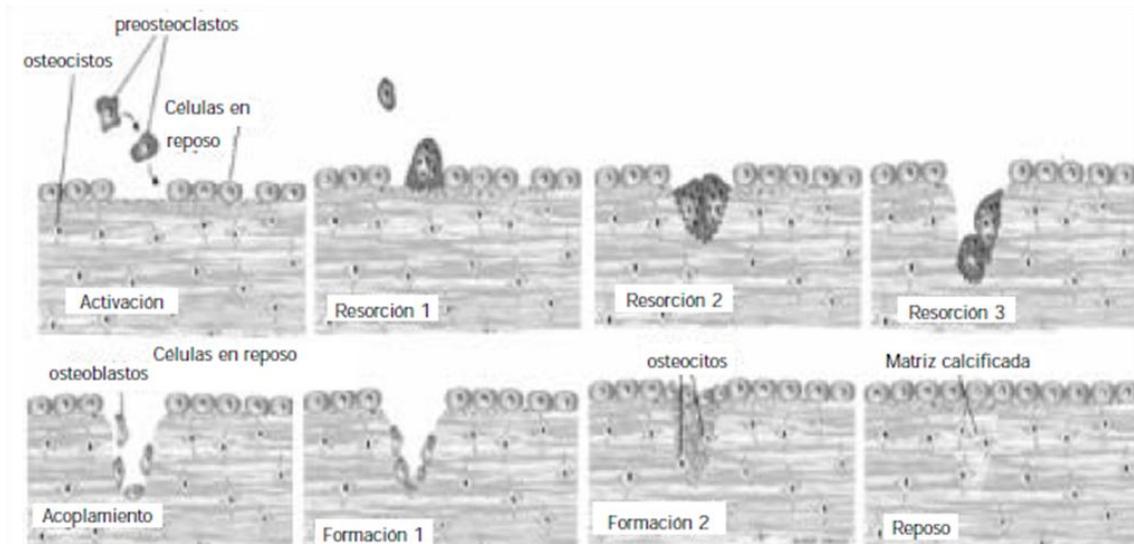


figura 18. Ciclo de remodelado óseo

3.2 TIPOS DE CICATRIZACIÓN ÓSEA DE LOS IMPLANTES

Las líneas básicas actuales del Consejo de Materiales Dentales de la Asociación Dental Americana para la aceptación de los implantes endóseos no especifican qué adaptación ósea se requiere o se recomienda (23). Según Lynch y col. (1991) existen 3 tipos de cicatrización implantaria: la fibrointegración, oseointegración e integración vía ligamento periodontal.

3.2.2 Fibrointegración

Es la formación de tejido fibroso entre el hueso y el implante. Se produce tras la preparación ósea traumática, necrosis térmica, falta de estabilidad primaria o carga prematura del implante. Su tasa de éxito es del 50% en 10 años siendo por lo tanto un resultado no deseado en nuestra práctica clínica(24).

Según Weiss (1984) un número significativo de implantes roscados desarrollarán tejido blando entre el hueso y el implante (fibrointegración), formando un pseudoligamento que conducirá al fracaso de éste [citado por Hale y col., 1991]. Los implantes con forma de placa (hoja) desarrollan mas a menudo este tipo de oseointegración(23). La formación de tejido conjuntivo (fibrointegración) en la interfase puede ser debida a estas situaciones [Meffert y col., 1992]:

- a) Migración apical del epitelio en la interfase, seguido por elementos de tejido conjuntivo.
- b) El implante se coloca con demasiada presión.
- c) Defectos en la técnica de colocación de implantes.

3.1.2 Oseointegración

El profesor Bränemark fue el primero en describir la oseointegración como la estrecha adaptación que se observaba entre el titanio y el hueso. Esta observación la hizo de forma accidental cuando trabajaba en estudios de microcirculación ósea con microscopia vital sobre tibias de conejo(26), (27).

La microscopia vital utiliza unas cámaras óseas compuestas por tornillos de titanio que se introducen en el hueso. Estas cámaras disponen de unos cilindros huecos por donde crece el hueso(28). Estos estudios revelaban la íntima conexión circulatoria entre la médula ósea y el hueso cortical. Posteriormente se realizaron estudios en perros, observando una capacidad de unión del titanio al hueso de hasta 100 kg en la mandíbula inferior y de 30 a 50 kg en el maxilar (26) Bränemark en 1985 describe la oseointegración como una conexión directa, estructural y funcional entre

el hueso vivo y la superficie de un implante sin intervención de tejido blando(25).

Según él los requisitos para conseguir una oseointegración son: implante de material biocompatible, un diseño que lo estabilice mecánicamente con el hueso, estatus adecuado del lecho implantario, protocolo quirúrgico que reduzca el daño del hueso y fase de curación sin carga(30).

Para generar oseointegración, se debe preparar el hueso de tal manera que se produzca la mínima lesión tisular posible, extrayendo la menor cantidad de hueso y sin cambiar la topografía básica de la región(26).

Con la aparición de nuevos materiales en la fabricación de implantes se modifica el concepto de oseointegración, siendo redefinido por Zarb y Albrektsson en 1991 como un proceso por el cual se consigue una fijación rígida, asintomática, de materiales aloplásticos y que se mantiene en el hueso durante la carga funcional(31).

La oseointegración implica a nivel de microscopía electrónica un contacto directo entre el hueso vivo y el implante endóseo(32). Esta definición incluye la Biointegración, que es la adhesión química demostrable del hueso vivo a la superficie de un implante, que es independiente de cualquier unión mecánica e identificable por microscopía electrónica (32, 33).

La biointegración se produce en la interfase del hueso con materiales bioactivos, tales como el fosfato cálcico cerámico y el vidrio bioactivo(32). La hidroxiapatita genera biointegración y el titanio oseointegración (34).

La premisa original de los sistemas de oseointegración, sean implantes cubiertos o no, se describió con el uso de implantes que eran totalmente endóseos. Los datos más nuevos han venido de Buse y col. en 1990 indicando que los implantes de titanio arenado que se colocan por encima de la encía pueden exhibir una anatomía similar a la de los implantes originales de Bränemark (23).

En resumen, la literatura de hoy en día indica que todos los implantes, cubiertos o no, tienen la capacidad de oseointegrarse, si se realiza una técnica quirúrgica correcta. Puede haber, de hecho, diferencias cuantitativas en relación con el grado de oseointegración de cada tipo de superficie en concreto y también la rapidez de la oseointegración puede variar con los diferentes materiales(23).

3.3 TIPOS DE HUESO EN IMPLANTOLOGÍA

Uno de los factores que influyen en la selección del paciente candidato a colocarse implantes es la calidad y la cantidad de hueso disponible y saber si el hueso está en condiciones o no hueso suficiente para la colocación de los implantes dentales. **25-26**

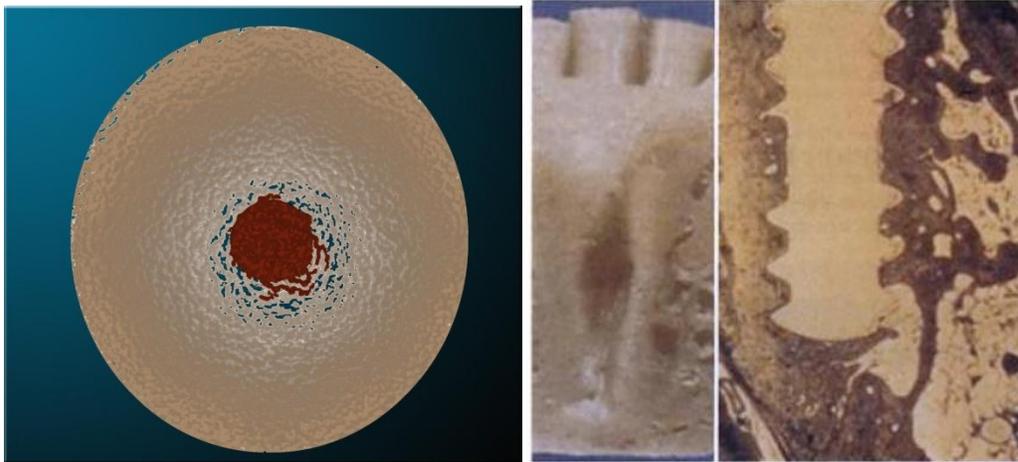
Los parámetros que el implantólogo de valora en la ortopantomografía digital que hacemos en la primera visita son: Altura ósea; anchura del hueso; densidad del hueso.

CALIDAD DE HUESO POR LEKHOLM & ZARB

La calidad de hueso se valora en función de la densidad ósea existente y se clasifica en las siguientes categorías:

Hueso tipo 1

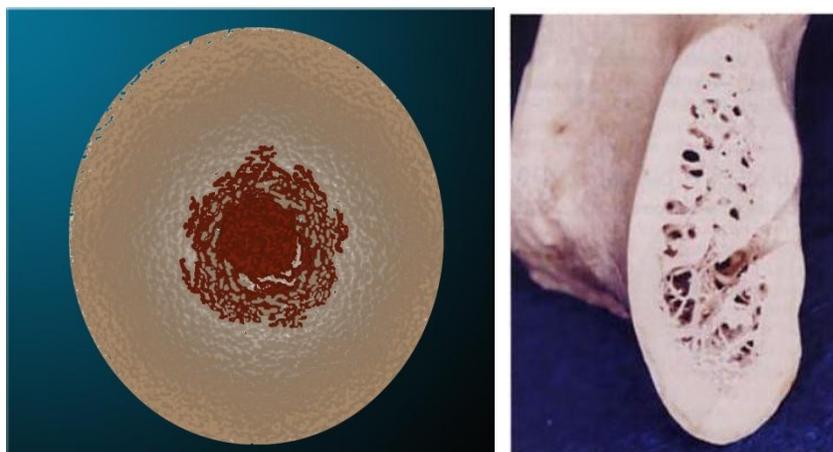
La mayoría del hueso maxilar es compacto y homogéneo. Lo que significa que así todo el hueso es compacto y homogéneo. (figura 19.)



Hueso 19. La densidad ósea tipo 1 presenta la cantidad más amplia entre hueso implante puesto que la tensión es igual a la fuerza, dividida entre la superficie, el aumento en la superficie de contacto da lugar a una disminución de la magnitud de tensión

Hueso tipo 2

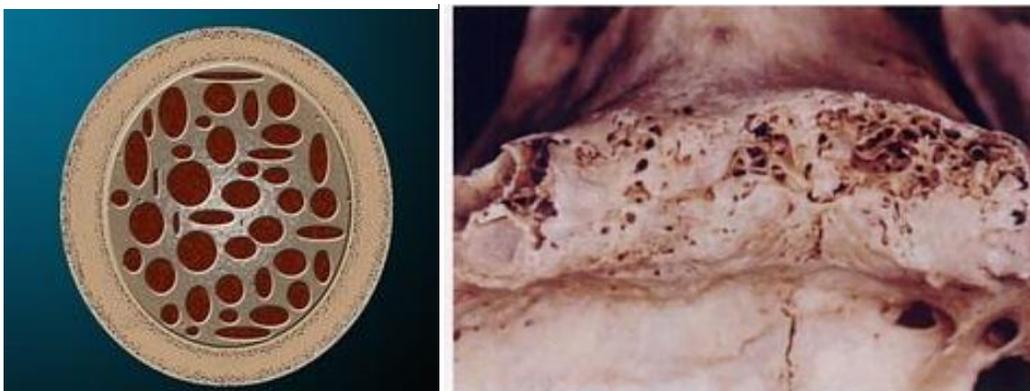
Una gruesa capa de hueso compacto rodea un núcleo de hueso esponjoso, denso y con buena trabeculación. Lo que significa una gruesa capa de hueso compacto rodea un núcleo de alta densidad de hueso trabecular (figura 20.)



Hueso 20. Corte transversal de una mandíbula tipo 2 en la región del agujero mentoniano. Existe una tabla cortical gruesa sobre la cresta y por dentro, un hueso trabecular grueso

Hueso tipo 3

El hueso cortical periférico se encuentra adelgazado, rodeando a un hueso medular de buena densidad y trabeculación. Lo que significa una fina capa de hueso compacto rodea un núcleo de alta densidad de hueso trabecular de favorable resistencia. (figura 21.)



Hueso 21. Parte posterior del maxilar que muestra un hueso tipo 3 una tabla cortical porosa y fina sobre la cresta presenta un hueso trabecular fino por debajo de la misma.

Hueso tipo 4

El hueso cortical es muy fino, y rodea a un hueso esponjoso de mala calidad y poco denso. Lo que significa una muy fina capa de hueso cortical rodea un núcleo de baja densidad ósea trabecular. (figura 22.)

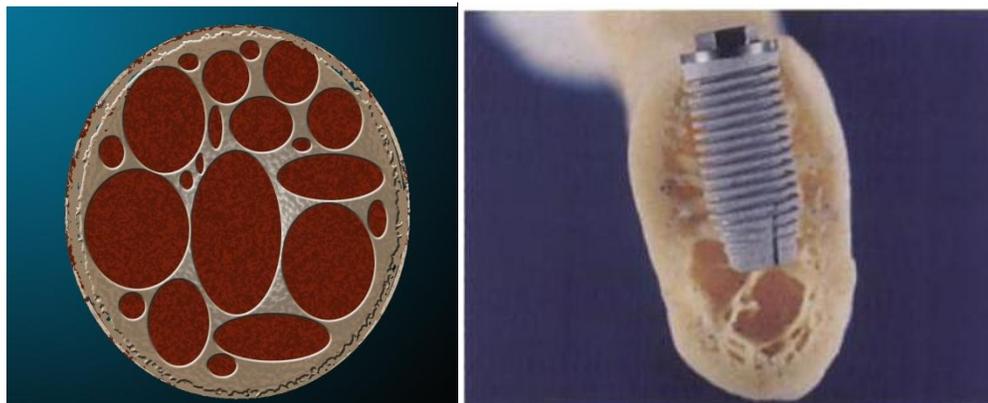


Figura 22. Presenta características indeseables para la colocación de implantes, sin embargo existen algunas alternativas como es la colocación de implantes de mayor diámetro

4

BIOMATERIALES, BIOCOMPATIBILIDAD: DEFINICIONES Y REQUISITOS

4.1 REQUISITOS PARA EL USO DE UN MATERIAL COMO BIOMATERIAL

Aplicando el término Biocompatibilidad al área de los materiales dentales, se encuentra el término Biomaterial, el cual fue definido en 1986 por la Sociedad Europea para Biomateriales, citado por Macchi (2002), como un material inerte usado en un aparato médico y destinado a interactuar con sistemas biológicos. De esta forma, el material a utilizar debe comportarse igual por largo tiempo siempre y cuando se haga una buena indicación, apropiados procedimientos operativos y demás requisitos que hay que tomar en cuenta a fin de que contribuyan de manera positiva al éxito de la utilización del mismo.

Clasificación actual propuesta por Furlong y Osborn (1991), citado por Lang (1994):

- A.- Biotolerados: Cuando entre hueso e implante no interviene tejido fibroso.
- B.- Bioinertes: Cuando entre hueso e implante existe contacto directo.
- C.- Bioactivos: Cuando entre hueso e implante se encuentra presente una conexión mediada por enlaces químico-físicos.

Por las grandes cantidades de especies iónicas agresivas presentes en los fluidos corporales, como los iones cloruro, o el pH muy ácido en algunos

tejidos corporales, los biomateriales, y particularmente los materiales metálicos, pueden ser sujetos a corrosión. La corrosión es un mecanismo de degradación electroquímica que, además de dañar la superficie y las propiedades mecánicas del material, produce productos de degradación que son generalmente iones metálicos. La biocompatibilidad del material dependerá en gran medida de los efectos tóxicos que estos iones tienen al liberarse en los tejidos. La interacción será dañina cuando los productos de corrosión produzcan reacciones biológicas indeseables, tanto locales como sistémicas. Por todo ello, la biocompatibilidad de los metales es dependiente de su resistencia a la corrosión.

Además, el desgaste al cual puede estar sometido el biomaterial también puede provocar un problema de toxicidad por el desprendimiento de pequeñas partículas de material.

Por último, dependiendo del lugar de colocación o implantación, el biomaterial puede estar sometido mecánicamente a cargas estáticas y cíclicas altas que pueden acortar su vida útil. Por estas razones, un biomaterial debe tener propiedades mecánicas, químicas, físicas y biológicas que le permiten ser aceptado por el cuerpo, resistir mecánicamente y electroquímicamente, y cumplir su función adecuadamente en el tiempo en este medio hostil. En otras palabras, un biomaterial tiene que ser un material biocompatible.

4.2 DEFINICIÓN DE LA BIOCOMPATIBILIDAD

'biocompatibilidad' El término puede ser definido simplemente como la capacidad de un material para ser aceptado por el organismo.

La biocompatibilidad describe las interacciones entre el sistema biológico vivo y el material introducido en este sistema. Sin embargo, el término de

biocompatibilidad carece de una definición clara ya que no es una propiedad intrínseca del material, y depende de la aplicación y de las condiciones de uso. Por ejemplo, un material con poca resistencia mecánica puede ser biocompatible para una aplicación en concreto, en la cual no será sometido a grandes cargas mecánicas, y sin embargo no ser biocompatible en otras aplicaciones en las cuales tendría que resistir grandes estados de tensión y/o deformación. (Figura 23)

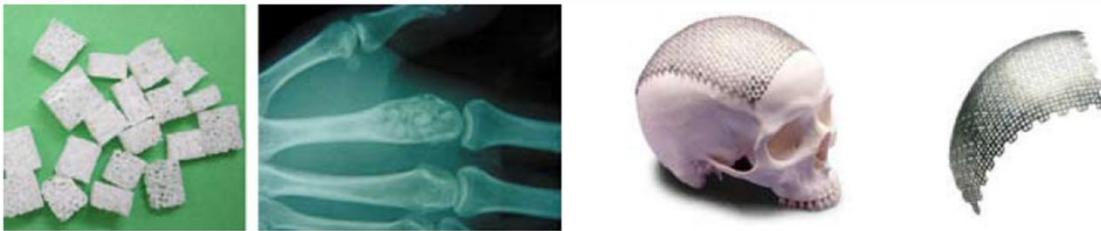


Figura 23. Para poder hablar de un biomaterial, es necesario que este cumpla requisitos, muchos de los cuales dependerán de que tejido será sustituido por el material

Dado que todos los materiales generan una reacción de cuerpo extraño "cuando se implantan en el cuerpo, el grado de biocompatibilidad se relaciona con la extensión de esta reacción. Por lo tanto, biocompatibilidad está directamente relacionado con la corrosión comportamiento del material en una solución específica y la tendencia a la aleación para liberar iones tóxicos.

Un material es bioinerte cuando la interfaz material-tejido es estable, es decir que los elementos constitutivos del tejido y el material ni reaccionan químicamente entre ellos ni se disuelven. Cuando la interfaz no está en equilibrio, las relaciones material-huésped pueden ser caracterizadas por procesos de irritación, inflamación, carencia de reacciones inmunológicas, toxicidad, mutagenicidad o carcinogenicidad que demuestran un estado de bioincompatibilidad.

4.3 EVALUACIÓN DE LA BIOCOMPATIBILIDAD

El biomaterial y los tejidos circundantes están en interacción mutua. La utilización de nuevos materiales como biomateriales puede comportar algunos riesgos biológicos que dependerán de varios factores y que deben ser evaluados sistemáticamente.

Como se ha comentado anteriormente, un material es adecuado para su uso como biomaterial en función de una aplicación y de unas condiciones de servicio dadas. Distintos biomateriales necesitarán distintas pruebas específicas para su estudio. Sin embargo, existen algunos ensayos que se pueden considerar como comunes a cualquier estudio. El estudio de la biocompatibilidad se podrá efectuar mediante la realización de ensayos *in vitro* e *in vivo*. Algunos de estos ensayos están estandarizados por organismos como la American Society for Testing and Materials (A.S.T.M.) en Estados Unidos, o la Unión Europea [ISO 10993/EN-30993]. Sin embargo, ni los ensayos *in vitro* ni los experimentos simplificados *in vivo* pueden ser suficientes para descubrir toda la gama de efectos no deseables que pueda provocar el implante en los pacientes.

Existen tanto características físico-químicas como del comportamiento biológico del material que se estudian sistemáticamente en la evaluación de su biocompatibilidad. Un inventario no exhaustivo de estos parámetros críticos incluye la toxicidad, la composición química, la energía superficial, el tamaño, la forma, la relación peso/superficie (peso específico), la textura de la superficie, las cargas superficiales, las proteínas adsorbidas en la superficie, la solubilidad, la porosidad, el tamaño de los poros, la velocidad de degradación, y los productos de degradación.

Son las interacciones iniciales entre la superficie del biomaterial y el entorno biológico, la degradación y corrosión del material, la respuesta biológica local y sistémica, los fenómenos que se toman en cuenta en el estudio de la biocompatibilidad.

Varios libros relativos a la ciencia de los biomateriales están a disposición en la literatura para tener una más amplia, detallada y completa comprensión de los materiales utilizados en el campo biomédico **38-45**.

5

IMPLANTES DENTARIOS MORFOLOGÍA, SUPERFICIES Y BIOMATERIALES

¿Por qué esta magnífica tecnología científica, que ahorra trabajo y nos hace la vida más fácil, nos aporta tan poca felicidad? La respuesta es, simplemente: porque aún no hemos aprendido a usarla con tino.

Albert Einstein

El implante dental, es un producto sanitario destinado a ser el sustituto artificial de la raíz de un diente perdido. Habitualmente tiene forma roscada y está fabricado con materiales biocompatibles que no producen reacción de rechazo y permiten su unión al hueso. La superficie del implante puede presentar diferentes texturas y recubrimientos, utilizadas habitualmente para aumentar su adhesión al hueso (oseointegración si es de titanio y biointegración si se trata de un material cerámico).

Con su colocación, debido a que los alvéolos contienen un elemento que simula la raíz del diente, se conserva mayor cantidad de hueso alveolar, y por tanto se mantiene en cierto grado la dimensión vertical de la boca.

Desde el comienzo, diversos sistemas de implantes oseointegrados se han utilizado en la rehabilitación oral del paciente parcial y totalmente desdentado lo que ha representado un reto permanente en el desarrollo de nuevos materiales y diseños, tanto en los componentes propiamente implantológicos como en los aditamentos protodóncicos. El material más frecuentemente utilizado en la realización de los implantes orales ha sido el titanio comercialmente puro, debido a que presenta una gran biocompatibilidad y constituye el material ideal para conseguir la oseointegración con éxito a largo plazo tras la carga funcional (46,47).

5.1 EL TITANIO EN LA IMPLATOLOGIA DENTAL

El uso generalizado del titanio para la fabricación de los implantes dentales es debido a que cumple de forma adecuada, y diferenciada con respecto al resto de biomateriales, con todos los requerimientos que un biomaterial debe cubrir en la implantología dental ⁴⁸: biocompatibilidad, oseointegración, biofuncionalidad (adecuadas propiedades mecánicas), resistencia a la corrosión, procesabilidad y disponibilidad.

El titanio es el noveno elemento más abundante en la corteza terrestre y se obtiene a partir de minerales ricos en óxido de titanio (TiO₂) como son el rutilo y la ilmenita. Se descubrió en 1794 ⁴⁹, pero no se pudo separar del mineral de forma eficiente hasta el 1936 debido a su altísima afinidad por el oxígeno. Fue finalmente Kroll quien desarrolló la metodología de obtención que lleva su mismo nombre, y desde entonces el titanio se ha empleado en un número creciente de aplicaciones, entre ellas las biomédicas ⁵⁰. Así, las técnicas modernas de extracción y refinado permiten la obtención de grandes cantidades del metal para la producción de los grados comerciales "c.p." ("comercialmente puro") de titanio, las aleaciones de base titanio y para su uso en otros sistemas metálicos como aleante secundario.

Las normas internacionales ⁵¹ [ISO 5832-2]; ⁵²[ASTM F67-00] determinan cuatro grados de Ti c.p. para su aplicación médica. Los distintos grados se clasifican en función de la cantidad de elementos intersticiales minoritarios que contiene la aleación de Ti c.p. en cuestión (Tabla 2.I). De esta manera, a medida que aumenta el grado (desde el I hasta el IV) aumenta la cantidad de elementos intersticiales y, con ello, como propiedades más significativas, aumenta la resistencia mecánica y disminuyen la ductilidad y la resistencia a la corrosión (Tabla 2.II).

Tabla 2.1 Composición química [% en peso], según norma ASTM F67-00, para los productos en barra de los cuatro grados de Ti c.p. para aplicaciones biomédicas.

TITANIO	N	C	H	Fe	O
Ti c.p. Grado I	0.03	0.10	0.0125	0.20	0.18
Ti c.p. Grado II	0.03	0.10	0.0125	0.30	0.25
Ti c.p. Grado III	0.05	0.10	0.0125	0.30	0.35
Ti c.p. Grado IV	0.03	0.10	0.0125	0.50	0.45

En este contexto general, el titanio y sus aleaciones, se han empleado tradicionalmente en el campo biomédico, constituyendo junto con los aceros inoxidable y las aleaciones cromo-cobalto, una de las principales familias de metales seleccionadas para la fabricación de implantes, no sólo dentales, sino también maxilofaciales, ortopédicos, cardíacos, cardiovasculares, y otorrinolaringológicos.

El factor fundamental que hace que el Ti c.p. sea el material elegido para la fabricación del implante dental es que con él es posible alcanzar la oseointegración. Ello está directamente vinculado con su excelente biocompatibilidad, la cual a su vez se relaciona con sus adecuadas propiedades mecánicas y alta resistencia a la corrosión. A continuación se repasan todos estos factores.

Tabla 2.II Propiedades mecánicas requeridas, según norma ASTM F67-00, para los cuatro grados comerciales de titanio para aplicaciones biomédicas.

	Resistencia a la tracción mín.[MPa]	Límite elástico al 0.2 mín. [MPa]	Elongación en 4D mín. [%]
Ti c.p. Grado I	240	170	24
Ti c.p. Grado II	345	275	20
Ti c.p. Grado III	450	380	18
Ti c.p. Grado IV	550	483	15

5.1.1 Biocompatibilidad

El término biocompatibilidad debe analizarse con detenimiento para entender porqué el Ti c.p. está considerado universalmente como un material con excelente biocompatibilidad. De hecho, se puede considerar que hay tres diferentes definiciones para el término: la oficial, la normativa y la práctica ⁵³. (ver apartado 4)

La definición oficial de biocompatibilidad, es la capacidad de un material de ser utilizado en una aplicación específica con una respuesta adecuada del tejido receptor. Es una definición precisa y amplia, pero que no profundiza sobre cómo se debe medir la biocompatibilidad.

Esta carencia se suple con la norma ISO10993-1 sobre biocompatibilidad ⁵⁴, donde se detallan una serie de ensayos (Tabla 1.III) que debe sobrepasar un biomaterial para ser considerado biocompatible. La norma es útil, sobre todo, para detectar posibles daños irreversibles sobre los tejidos, o el cuerpo en general, producidos por el uso de una muestra del material

ensayado. Estos daños hacen referencia a la posible genotoxicidad, carcinogenicidad, toxicidad en la reproducción, citotoxicidad, irritación, sensibilidad y residuos procedentes de la esterilización. Esta es la definición normativa de biocompatibilidad y su inconveniente radica del hecho que no evalúa la respuesta del material con la forma del implante, en la zona de implantación, para la función específica que ha de desempeñar.

No obstante, el ensayo de efectos locales después de la implantación, lleva directamente a la definición práctica, ya que este ensayo evalúa si se produce la “reacción a cuerpo extraño”. Si el material, después de aproximadamente un mes de implantación, queda envuelto en una cápsula de tejido fino, blando (cartilaginoso) y avascular; y si esta reacción es poco agresiva, un cirujano, de forma práctica, considerará que el material es biocompatible. De acuerdo con esta propiedad, en la práctica clínica, se intentará buscar una aplicación terapéutica adecuada para el material.

Tabla 2.III *Ensayos biológicos para dispositivos médicos, de acuerdo con la norma ISO10993-1.*

Requerimientos para el bienestar animal Residuos de esterilización (óxido de etileno)	
Ensayos de genotoxicidad y carcinogenicidad	Degradación de materiales
Toxicidad en la reproducción	Irritación y sensibilidad
Interacción con la sangre	Toxicidad sistémica
Citotoxicidad <i>in vitro</i>	Preparación de muestras
Efectos locales después de la implantación	Identificación y cuantificación de productos de degradación

Tomando en consideración la definición práctica de biocompatibilidad, de acuerdo a un extenso estudio llevado a cabo por Martison et al. ⁵⁵, en el que se evalúa la aparición y magnitud de la reacción a cuerpo extraño, prácticamente todo material que no presenta efectos tóxicos y está libre

de endotoxinas es biocompatible. De hecho, en el tejido blando, todos los materiales estudiados, incluido el Ti c.p., provocaron la formación de la capa colaginoso y avascular.

Sin embargo, el Ti c.p. es un caso especial, ya que cuando se implanta en tejido duro, el hueso es capaz de crecer ordenado en contacto directo con el implante, sin una apreciable cápsula de tejido blando a su alrededor. No obstante, el implante no está adherido al hueso, ya que a nivel ultraestructural se aprecia una capa biológica de tejido blando de unos escasos 5-10 nm de grosor que, en el mejor de los casos, separan al Ti c.p. del hueso ⁵⁶. Por este motivo se le considera un material con excelente biocompatibilidad, lo cual le permite llevar a cabo su función de anclaje protésico, a largo plazo, de manera óptima. Es decir, su alta biocompatibilidad en hueso es lo que ha permitido el desarrollo de la oseointegración y, por lo tanto, su utilización masiva en la implantología dental.

Es pues, el Ti c.p., lo que se llama un material bioinerte y es su alta "bioinertidad" lo que provoca su alta biocompatibilidad y su capacidad para la oseointegración. Hay algunos autores que sitúan también al Ti c.p. como un material bioactivo, ya sea por el hecho de que sostienen que es capaz de generar la respuesta fenotípica del osteoblasto cuando éste está sobre su superficie ⁵⁷; o porque es capaz por sí mismo de absorber calcio y fósforo en su superficie, lo que permite la creación de un compuesto de fosfato de calcio de tipo cementante ^{58, 59} que aprovecharán las células para expresar su fenotipo.

En cualquier caso, la creación de la capa colaginoso, aunque muy fina, parece ser un hecho incuestionable. La mayoría de los autores coinciden

en señalar a la alta resistencia a la corrosión del Ti c.p. como la razón principal por la que el Ti c.p. resulta altamente bioinerte en los tejidos y lo que permite su magnífica oseointegración. Steinemann expone ampliamente las propiedades y los procesos eléctricos, físicos y químicos asociados a este hecho ⁶⁰. Todo ello se resumiría en un modelo toxicológico, corroborado por una serie de estudios en distintos materiales ^{61,62}: cuanto menor sea la cantidad de residuos cedidos por el material al medio biológico, mayor será el contacto entre el tejido y el biomaterial. Es incuestionable que la ausencia de reactividad del Ti c.p. es fundamental en su éxito en la implantología dental. Sin embargo, no debe ser la única explicación, ya que en ese caso, al implantarse en otros tejidos, tendría un comportamiento similar; o por otra parte, cualquier otro material capaz de no ceder productos de su degradación debería expresar la misma respuesta que el Ti c.p.

Las respuestas a estas incógnitas se deben buscar en los procesos biológicos que están asociados a la curación de los tejidos alrededor del implante. Así, cuando un material es ubicado en el hueso, la primera reacción que se produce después de la no despreciable interacción con el agua y los iones del medio fisiológico es la adsorción no selectiva de un gran número de proteínas. A continuación los neutrófilos y los macrófagos interrogan al implante y en función de la conformación, la orientación y el tipo de proteínas absorbidas, los macrófagos interaccionan con la superficie y segregan un cierto tipo y número de citoquinas (mensajeros biológicos moleculares) que atraen a los fibroblastos produciéndose, en última instancia, la encapsulación del biomaterial con el tejido fibroso⁶³. Es pues fundamental el tipo de interacción que se produce entre las proteínas y la superficie del implante, así como con las células que intervienen en los procesos de curación y remodelación del tejido óseo.

Ello hará que la respuesta tanto *in vitro* como *in vivo* del Ti c.p. sea superior a la de otros biomateriales, principalmente de otros biometales.

La explicación precisa de esos procesos de interacción es desconocida y a pesar de que se han formulado hipótesis consistentes⁶⁴ lo cierto es que aún quedan muchas incógnitas por resolver.

La conclusión, en cualquier caso, es que la superficie del material regula la respuesta biológica y, en última instancia la calidad de la oseointegración. Las propiedades físicas, químicas y topográficas de la superficie intervienen de forma decisiva en los procesos biológicos (interacción proteica y celular) y las distintas tecnologías aplicadas sobre ella, unidas a sus propiedades intrínsecas discutidas en este Apartado, son objeto de investigación continua para favorecer la velocidad y la calidad de la respuesta del tejido óseo.

5.1.2 Propiedades Mecánicas

Las propiedades mecánicas del Ti c.p., tales como la elasticidad, la resistencia a la tracción, la resistencia específica y la fatiga, son un claro valor añadido a la calidad superficial del metal como elección para su uso en la fabricación de los implantes dentales. A pesar de que los valores concretos para el metal dependen del grado comercial de Ti c.p. elegido, se puede decir que el Ti c.p. posee buenas propiedades mecánicas para su aplicación como implante dental.

El módulo de elasticidad ($100 \div 110$ GPa), el límite elástico ($170 \div 483$ MPa) y la resistencia a la tracción ($240 \div 550$ MPa) del Ti c.p. son valores suficientes para soportar las cargas mecánicas que el implante recibe en boca ⁶⁵. El módulo de elasticidad representa la mitad o menos del que

poseen otros metales como el acero inoxidable para uso quirúrgico o las aleaciones cromo-cobalto ^{66,67}. Este hecho representa una característica importante ya que comparativamente un menor módulo de elasticidad (más cercano al del hueso), como es ampliamente conocido, disminuye el fenómeno de relajación de tensiones en los tejidos óseos circundantes.

Consecuentemente, la remodelación ósea se ve favorecida. En cualquier caso, éste es un factor de menor transcendencia que en las aplicaciones ortopédicas, donde los valores de carga aplicados y, en consecuencia, la resistencia mecánica de los metales elegidos son superiores.

Es importante señalar que los valores de resistencia mecánica son fuertemente dependientes del grado comercial del titanio (Tabla 1.II) y de los procesos de conformado y tratamientos térmicos elegidos para la fabricación del implante, pudiendo variar para el grado I de Ti c.p. entre 240 MPa para el material recocido, y 680 MPa para el material deformado plásticamente en frío ⁶⁷. En este sentido, el implante dental se obtiene por mecanizado de barras de Ti c.p. de grados II, III o IV en estado recocido que, a pesar de tener menor resistencia mecánica, facilita las operaciones de mecanizado.

Adicionalmente, la baja densidad del Ti c.p. ($\approx 4200 \text{ kg/m}^3$), comparada con el acero inoxidable ($\approx 7800 \text{ kg/m}^3$), las aleaciones de cromo-cobalto ($\approx 8500 \text{ kg/m}^3$) y de otras aleaciones de titanio ($\approx 4500 \text{ kg/m}^3$), hace que su resistencia específica sea elevada, lo cual es una nueva ventaja para su selección.

Finalmente, la resistencia a la fatiga mecánica es un factor crítico en la vida en servicio del implante dental ya que éste debe soportar cargas

cíclicas de carácter flexión-torsión ⁶⁸ que, en último caso, llevarán a su rotura por medio de la degradación mecánica asociada. A pesar de que existen pocos estudios de la resistencia a la fatiga del Ti c.p. ⁶⁷, se puede considerar que es baja y, de hecho, los implantes fracasados por rotura del implante están asociados a este tipo de fallo mecánico ⁶⁹. No obstante, el número de implantes que rompen por fatiga mecánica es muy escaso, representando un porcentaje inferior al 0.2 % de todos los implantes que fracasan en boca ⁷⁰.

5.1.3 Resistencia a la corrosión

El titanio es un material altamente reactivo, siendo fácilmente oxidable por diferentes medios. La cinética de oxidación es extremadamente alta, de manera que los primeros eventos asociados a la oxidación se producen en una escala de tiempo de unos pocos nanosegundos ⁷¹. Debido a esta alta reactividad y la alta velocidad de los procesos asociados a la oxidación, el Ti c.p. está siempre recubierto de una capa de óxido, a no ser que se encuentre en condiciones artificiales de laboratorio como puede ser en cámaras de ultra alto vacío. En la mayoría de los casos, la capa superficial oxidada está compuesta por el más estable de todos los óxidos de titanio, es decir, el dióxido de titanio (TiO₂).

Al contrario que el titanio, el TiO₂ es un compuesto estable, altamente resistente a los ataques químicos de la mayoría de sustancias. La excelente resistencia química y a la corrosión del Ti c.p. es debida a la presencia en su superficie de este óxido químicamente estable ⁷². El óxido se distribuye en una densa película de entre 5-10 nm ⁷³ que protege al metal de los ataques químicos, incluyendo el de los agresivos fluidos corporales. Este factor no se debe confundir con que sea químicamente inerte. De hecho, las superficies de TiO₂ reaccionan en soluciones acuosas

y absorben y disocian moléculas orgánicas, actuando en muchos casos, como catalizadoras de un gran número de reacciones químicas ⁷⁴. Esta capa de óxido, asimismo, actúa como barrera protectora para evitar la cesión de cualquier tipo de ion desde el interior del metal hacia el medio fisiológico.

Todo ello hace que el Ti c.p. sea un metal tan resistente a la corrosión en contacto con los fluidos corporales como el niobio o el tantalio y, a su vez, significativamente más resistente que el acero inoxidable o las aleaciones de cromo-cobalto ^{75,76,77}.

Este hecho tiene consecuencias directas en las buenas reacciones que el Ti c.p. tiene tanto *in vitro* como *in vivo*, es decir, en su excelente biocompatibilidad.

5.2 MORFOLOGIA Y SUPERFICIES

La superficie del implante o microsuperficie es actualmente un objetivo preferente de los clínicos, investigadores y de la industria, debido especialmente a que mediante las variaciones en su morfología y propiedades podemos influir sobre la estabilidad primaria y sobre la velocidad de integración ósea. Además, constituye un aspecto importante de la implantología oral porque sus características físicas y químicas pueden influir en el desarrollo de una mejor respuesta tisular del huésped a los implantes. Los implantes oseointegrados están disponibles con varias superficies desde unas relativamente lisas hasta unas superficies rugosas desarrolladas por aposición de titanio (TPS, titanium plasma spray), chorreado de arena (sandblasted), grabado ácido (acid-etched surface) o por la combinación de varios tratamientos ⁽⁷⁸⁾.

La calidad de la superficie del implante dependerá de sus características físicas, químicas y topográficas. La composición química, las impurezas de la superficie, así como el grosor y estructura de la capa superficial, influirán en su grado de biocompatibilidad(79, 80).

También existen otras propiedades físicas que influyen a corto y largo plazo en la oseointegración como son la energía superficial y la carga superficial(81). La energía superficial puede ser definida por la densidad de la carga general y la polaridad y es una medida de hasta que punto están incompletas las uniones en superficie de manera que, una superficie con energía alta tiene gran afinidad para la absorción e influye sobre las proteínas para formar un recubrimiento primario ventajoso y así mejorar la oseointegración del implante(79, 80, 81).

5.2.1 Clasificación de las superficies de implantes

De acuerdo a su morfología, las superficies de los implantes se pueden clasificar en:

1. *SUPERFICIES LISAS.*
2. *SUPERFICIES RUGOSAS:* las superficies rugosas, según la naturaleza de la rugosidad, pueden clasificarse a su vez en:
 - 2.1 *Superficies de adición.*
 - 2.2 *Superficie de sustracción.*
3. *SUPERFICIES MODIFICADAS.*

SUPERFICIES LISAS.

Son implantes oseointegrados que reciben solamente el corte de la pieza metálica durante el proceso de fabricación y su aspecto macroscópico se asemeja al de una pieza pulida, fueron los primeros empleados con fines experimentales dando lugar al concepto de oseointegración, como en la práctica clínica. Son implantes de aspecto metálico, brillante. Realizados a partir de titanio c.p. Clínicamente, es la superficie con más tiempo de aplicación, es la superficie que muestra un menor porcentaje de unión hueso-implante (82).

SUPERFICIES RUGOSAS

Son aquellas que, con independencia de la morfología del implante (tornillo, cilindro, cono) presentan una irregularidad microscópica mas o menos uniforme. Existe evidencia en la literatura que demuestra que estas superficies favorecen una oseointegración más rápida, con un mayor porcentaje. La topografía de la superficie puede guiar los movimientos de tipos específicos de células, con capacidad para influir directamente en la forma y la función celular 78.

Superficies rugosas por adición.

La rugosidad de la superficie se consigue añadiendo partículas a un núcleo de titanio. Las dos más conocidas son la superficie de hidroxiapatita (HA) y superficie de plasma titanio (*titanium plasma spray* o TPS), esta última se texturiza mediante el rociado con gotas de titanio fundido, obtenidas al introducir hidróxido de titanio en un chorro de gas argón a elevada temperatura, sobre un núcleo metálico para formar una capa o recubrimiento, es otro de los métodos comunes para la modificación superficial de los implantes. Este gas inerte se descompone en iones y electrones en un estado que se conoce como plasma.(83)

Los recubrimientos con HA de los implantes dentales son aplicados mediante un proceso modificado de rociado⁽⁸⁴⁾ y deposición de partículas de polvo de HA derretidas, que salpican y solidifican rápidamente sobre el substrato metálico de menor temperatura.⁽⁸³⁾ La HA es aplicada al núcleo metálico como un recubrimiento para obtener el beneficio de las propiedades osteoconductoras de la HA y las propiedades mecánicas de la subestructura metálica, capaz de soportar cargas funcionales y evitar fragmentaciones^(84, 85, 86).

Superficies rugosas por sustracción.

Este tipo de rugosidad se obtiene creando oquedades mediante métodos físicos o químicos, eliminando parte del núcleo del implante. Presentan rugosidad sin necesidad de añadirle algún material, lo que elimina el riesgo de desprendimiento accidental de la cubierta. En general son superficies muy hidrófilas, propiedad que depende del ángulo de contacto que la superficie ofrece a los fluidos tisulares y a las células del lecho receptor. Esta propiedad favorece la migración y adhesión celular. Así como la adsorción proteica en los estadios iniciales de la cicatrización. Se ha observado que los osteoblastos proliferan más sobre las superficies rugosas y que la composición y rugosidad de la superficie pueden influir en la energía superficial. Las superficies con energía superficial más alta exhiben un comportamiento de humectación mejorado, lo cual se cree que resulta en mejores interacciones con los dominios protésicos, importantes para la respuesta osteogénica ⁽⁸⁷⁾.

La tabla 2.IV muestra abreviadamente los resultados de algunos estudios en modelos animales comparando el porcentaje de superficie de

contacto hueso-implante para cada superficie, y, en dos de ellos, el cambio de ese porcentaje en función del periodo de cicatrización.

Tabla 2.IV. Relación de contacto hueso- implante; estudio en animales

Autores y año	Animal y localización	Periodo de cicatrización	Superficies estudiadas	% de contacto hueso-implante
Buser y cols., 1991	Tibia y fémur de cerdo.	3/6 semanas	Titanio electropulido	25/25
			Plasma de titanio	39/38
			Chorreado con arena y grabado	52/58
			Chorreado con oxido de aluminio	30/34
Ericsson y cols., 1994	Maxilar superior de perro	8/16 semanas	Titanio liso maquinado	39/43
			Chorreado con oxido de titanio	41/65
Abrahamsson y cols., 2001	Mandíbula de perro	12 semanas	Titanio liso maquinado	58
			grabado acido	77
London y cols., 2002	Tibia de conejo	1-8 semanas	Titanio liso maquinado	31
			Plasma de titanio	24
			Hidroxiapatita	23
			Doble grabado acido	39
Novaes y cols, 2002	Mandíbula de perro	12 semanas	Titanio liso maquinado	42
			Plasma de titanio	49
			Hidroxiapatita	58
			Chorreado con arena	69
De Maeztu y cols.,2003	Tibia de conejo	12 semanas	Titanio liso maquinado	43
			Titanio liso maquinado+ implantación iónica	55
			Ti6Al4	53
			Ti6Al4+imp. Iónica	59

5.3 ZIRCONIO

El zirconio es un elemento químico de número atómico 40 situado en el grupo 4 de la tabla periódica de los elementos. Su símbolo es Zr. Es un metal duro, blanco grisáceo, brillante muy resistente a la corrosión, similar al acero. Los minerales más importantes en los que se encuentra son el circón ($ZrSiO_4$) y la badeleyita (ZrO_2), aunque debido al gran parecido entre el zirconio y el hafnio (no hay otros elementos que se parezcan tanto entre sí) realmente estos minerales son mezclas de los dos; los procesos geológicos no han sido capaces de separarlos. Se utiliza sobre todo en reactores nucleares (por su baja sección de captura de neutrones) y para formar parte de aleaciones con alta resistencia a la corrosión.^{88,89}

La primera propuesta del uso de óxido de zirconio para uso médico en ortopedia se hizo en 1969. ZrO_2 se propuso como un nuevo material para el reemplazo de la cabeza femoral en la articulación con la cadera; en lugar de prótesis de titanio o aluminio.⁹⁰ Se evaluó la reacción a ZrO_2 puesta en el fémur de un mono y se informó de que no surgieron respuestas adversas.

La investigación ortopédica se centró en el comportamiento mecánico de zirconio, en su desgaste, y en su integración con el hueso y músculo. Además, estos primeros estudios se llevaron a cabo en gran medida *in vivo*, porque en la tecnología *in vitro* no fue lo suficientemente avanzada.

Antes de 1990, muchos otros estudios se llevaron a cabo, en el que se puso a prueba zirconio sobre el hueso y el músculo sin desfavorables resultados.⁹¹⁻⁹⁶ Desde 1990, los estudios *in vitro* han llevado a cabo con el fin de obtener información sobre el comportamiento celular frente el zirconio.⁹⁷ En la evaluación *in vitro* confirman que ZrO_2 no es citotóxico. ⁹⁸⁻¹⁰⁰ La Mutagenicidad fue evaluada por Silva y por Covacci, y ambos

informaron de que circonio no es capaz de generar mutaciones en el genoma celular. **101-102**

Por otra parte, el óxido de zirconio crea menos reacción inflamatoria en los tejidos en comparación con otros materiales de restauración como el titanio.¹⁰³ Este resultado fue confirmado también por un estudio sobre el tejido blando peri-implantario durante la cicatrización comparando el óxido de zirconio contra el titanio.¹⁰⁴ y se concluyó que el infiltrado inflamatorio y el factor de crecimiento vascular endotelial es alrededor de la superficie de titanio.

El Zirconio tiene propiedades mecánicas similares a las de de acero inoxidable. Su resistencia a la tracción puede ser tan alta como 900 1200 MPa y su resistencia a la compresión sobre es 2000 MPa.⁸⁸ el estrés mecánico es bien tolerado por el presente material. Los tratamientos de superficie pueden modificar las propiedades físicas de óxido de zirconio. La exposición a la humedad durante un largo período de tiempo puede tener un efecto perjudicial sobre su propiedades.¹⁰⁵ Este fenómeno se conoce como el envejecimiento de zirconio. Por otra parte, también el pulido superficial puede reducir su resistencia.¹⁰⁶ Kosmac (1999) ha confirmado esta observación y reportó una menor resistencia media y fiabilidad de óxido de circonio después del tratamiento de superficie.¹⁰⁷

La zirconia cerámica (estabilizado con policristales tetragonales de itrio) parece ser un material adecuado para los implantes dentales debido a su color similar al diente, sus excelentes propiedades mecánicas y su buena biocompatibilidad ¹⁰⁸. Ellos han sido ampliamente utilizados como reemplazos de cadera con notables resultados clínicos ¹⁰⁹.

Además, estudios recientes en animales han demostrado también con éxito la cicatrización ósea de los implantes dentales de zirconio en condiciones de carga ¹¹⁰⁻¹¹³.

La fabricación convencional de las barras de zirconio para la obtención de implantes usualmente ofrecen superficies lisas y son pocos los estudios que han investigado modificaciones de la superficie de los implantes de zirconio. Sin embargo, se ha demostrado que la superficie rugosa y la topografía también influyen en la oseointegración de los implantes de zirconio ¹¹⁴⁻¹¹⁸.

Depprich y cols. (2008) Llevaron a cabo un estudio comparativo entre implantes de zirconio y titanio concluyendo que los implantes de zirconio con superficies modificadas mostraron características de oseointegración similares a los de los implantes de titanio. Estos resultados son prometedores en el uso de implantes de zirconio para aplicaciones dentales en el futuro.

118

5.4 NITINOL

La aleación Níquel- Titanio, comercialmente llamada NiTi también conocido como NITINOL, es una aleación metálica, donde los dos elementos están presentes en porcentajes atómicos iguales (equiatómica). El nitinol es el ejemplo más conocido de las llamadas *aleaciones con memoria de forma*. Presenta dos características únicas: memoria de forma y superelasticidad. ¹¹⁹

Memoria de forma se refiere a la capacidad de nitinol que al someterse a deformación recupera su forma original, sin deformarse.

Superelasticidad se produce aproximadamente 10 a 30 veces mayor que la de metales comunes.

Desde 1932 los científicos conocían algunas propiedades de este tipo de materiales pese a esto, las primeras aplicaciones prácticas no comenzaron a desarrollarse sino hasta 30 años más tarde. En los laboratorios de la marina de los EE.UU. William Beuhler descubrió que la aleación de níquel (Ni) y titanio (Ti) que presentaba estas propiedades, en un programa de investigación encaminado a la obtención de una aleación con alta resistencia a la corrosión. ¹²⁰

El equipo de investigadores que lo descubrió bautizó el nuevo material con el nombre de NiTiNOL (acrónimo de *Ni-Ti-Naval Ordnance Laboratory*). La memoria de forma se manifiesta cuando, después de una deformación plástica, el material recupera su forma tras un calentamiento suave. El nombre de este material se ha convertido en sinónimo de este tipo de aleaciones. ¹²⁰⁻¹²¹

Las aleaciones con memoria de forma deben sus propiedades a una transición de fase entre una estructura de tipo *austenita* (dúctil y maleable) y una de tipo *martensita* (frágil y dura).

Las aleaciones con memoria de forma sufren también una transición de fase que se produce mediante un movimiento cooperativo de un gran número de átomos, en un proceso típico de transformación con memoria de forma, la pieza se enfría desde el estado de *austenita* para transformarla en *martensita*. En esta fase el material es maleable y se deforma fácilmente, cambiando de forma.

Las aplicaciones biomédicas son el principal objetivo de NiTi dadas las propiedades siguientes:

- a) Buena biocompatibilidad, comparable a la convencional de acero inoxidable y titanio poroso (Ti) ¹²²⁻¹²⁴
- b) Una combinación de alta resistencia (importante para evitar deformación), relativamente baja rigidez (útil para minimizar el estrés mecánico) y alta dureza (esencial para evitar la fractura).
- c) El comportamiento de facilitar la inserción del implante y asegurar una buena estabilidad mecánica en el tejido del huésped.

La biocompatibilidad del NiTi debido a sus propiedades hacen posible las aplicaciones en el campo de implantología. Estos incluyen los implantes dentales, maxilofaciales, cervical y reemplazos vertebrales, reemplazos de articulaciones, placas de hueso, la ingeniería tisular ósea, la fijación de fractura de columna.^{125,126-128}, muchos artículos de revisión han sido publicados en el comportamiento biológico de NiTi ¹²⁹⁻¹³⁰.

La citocompatibilidad *in vitro* de las aleaciones de NiTi ha sido ampliamente estudiada. Existen trabajos en los cuales se estudiaron las interacciones de este material con distintos tipos de células (endoteliales, fibroblastos, osteoblastos, macrófagos, monocitos, linfocitos). En general, las conclusiones de estos estudios *in vitro* demuestran que el NiTi no induce ningún tipo de efecto citotóxico, con resultados similares al Ti puro en la mayoría de los casos 131-136.

La interacción celular con la superficie de un biomaterial depende de la adsorción proteica previa, la cual a su vez está determinada por las características físico-químicas de la superficie. Por esta razón, algunos trabajos intentan correlacionar la respuesta celular observada *in vitro*, con algunas de las características superficiales del material estudiado y/o la adsorción de proteínas.

En el caso concreto del NiTi, algunos trabajos estudiaron la influencia de la rugosidad de la superficie sobre el comportamiento de distintos tipos de células. Se concluyó que una superficie rugosa favorece la adhesión y la proliferación de los osteoblastos 137. Sin embargo, también se observó que el comportamiento de los fibroblastos es opuesto, es decir, la proliferación de este tipo de células es mejor sobre una superficie lisa de NiTi 138. Además, se puso de manifiesto la influencia de la cantidad superficial de Ni sobre la respuesta biológica.

Otros estudios relacionan la cantidad de Ni superficial con la adsorción proteica y la consiguiente respuesta celular. Se reveló que, para superficies tratadas con un mismo tipo de tratamiento, cuanto mayor es la cantidad de Ni superficial, mayor es la adsorción de albúmina y, en consecuencia, menor es la adhesión de plaquetas 139.

En la actualidad el uso del NiTi ha proliferado en el campo clínico, La combinación del efecto memoria de forma y la biocompatibilidad comparable a la del Ti, ha logrado que el Nitinol para aplicaciones médicas sea utilizado con éxito en la práctica ortopédica ¹⁴⁰⁻¹⁴³.

El uso de dispositivos de memoria de forma, no sólo simplifica las técnicas de operación, también asegura con firmeza el área de la fractura. En cirugía maxilofacial que a menudo implica la remodelación de los huesos del cráneo-mandibulares y otros, los sujetadores de memoria están demostrando ser superiores a la habitual placa de metal atornillada ¹⁴¹.

Un problema con Ti surge del hecho de que muy poco se sabe acerca de su distribución normal y el comportamiento en los tejidos vivos ¹⁴⁴. Tradicionalmente el Ti fue considerado como un metal perfectamente biocompatible debido a su película de óxido "bioinerte" de la superficie ¹⁴⁵. Sin embargo, en la última década, la actitud hacia Ti y sus aleaciones ha cambiado. Varios informes han advertido que Ti disuelto en el cuerpo humano puede inducir la liberación de potencial de citocinas osteolíticas (provocando la disolución del hueso) implicando en el aflojamiento del implante ¹⁴⁶⁻¹⁴⁸. Riede ^{149,150} describe la histología de las reacciones contra los tejidos del Ti puro-implantes.

Los dispositivos de fusión intervertebral son una de las recientemente aplicaciones identificadas para NiTi en cirugía de columna. Assad y otros. ¹⁵¹ y Likibi et al. ¹⁵² demostraron que NiTi proporciona una mayor estimulación de crecimiento del hueso (lo que aumenta aún más con el tiempo), debido a su arquitectura, similar al hueso, y una tasa de aposición ósea de magnitud mayor, pero aún así un rendimiento similar a los tradicionales Ti.

En el campo de la ingeniería tisular, Unger et al. ¹⁵³ ha demostrado recientemente la posibilidad pre-siembra con osteoblastos humanos y las células endoteliales mediante biomateriales, incluyendo NiTi porosas. Las células crecen en los materiales y, finalmente, generar una red de microcapilares que puede acelerar la tasa de vascularización después de la implantación. La investigación sobre la eficiencia de esta red se realiza como parte del sistema circulatorio todavía está en curso, sin embargo. Es probable que los estudios de ingeniería de tejidos de NiTi porosas se incrementará en el futuro.

También existen ejemplos de aplicaciones en el campo biomédico, donde la capacidad del NiTi superelástico para producir una fuerza constante a lo largo de una gran distancia se aprovecha para mover y reposicionar adecuadamente dientes (alambres correctores de ortodoncia) o para alargar o formar nuevo hueso (distractor osteogénico).

Entre las posibles aplicaciones que se pueden poner en práctica en un futuro estarían aquellas que aprovechan la gran capacidad de amortiguamiento de las aleaciones NiTi, como por ejemplo una prótesis de rótula, o bien un implante dental.

En resumen, por sus propiedades únicas de memoria de forma, conjuntamente con adecuadas propiedades mecánicas y buenas propiedades de biocompatibilidad, el uso del NiTi como biomaterial es hoy en día expandido.

Sin embargo, investigaciones suplementarias son necesarias para minimizar el riesgo que presenta la liberación de Ni al medio, y mejorar la resistencia a la corrosión del material

5.5 Nitruro de Titanio

El nitruro de titanio (conocido también como *Tinita*) es un material cerámico extremadamente duro, a menudo usado como una capa de recubrimiento en las aleaciones de titanio, acero y de aluminio a fin de mejorar las propiedades superficiales del sustrato.

Aplicado como una capa fina, TiN se utiliza para endurecer y proteger de corte y superficies deslizantes, con fines decorativos (debido a su apariencia de oro), y como implantes médicos. En la mayoría de las aplicaciones se aplica una capa de menos de 5 micrómetros.

El titanio es un elemento de transición como el zirconio, vanadio, cromo, niobio, molibdeno, entre otros, cuya estructura electrónica presenta una capa *d* incompleta [154, 155]. Dicha estructura electrónica permite que el titanio forme soluciones sólidas con muchos elementos sustitucionales como el carbón y el nitrógeno, con un factor de tamaño hasta del 20% [156, 157]. Entre sus propiedades más notables se encuentra su alta Resistencia a la corrosión, y su extrema dureza que es de 24.5 gigapascuales. (158)

El nitruro de titanio posee una resistencia al desgaste muy superior a las aleaciones de titanio, a la vez que mejora también las propiedades de resistencia a la corrosión. El Nitruro de titanio (TiN) se ha utilizado en muchos campos como recubrimiento de instrumental quirúrgico, con el fin de crear materiales más resistentes al desgaste y la corrosión, así como la reducción de la adherencia bacteriana.

Los nitruros basados en metales de transición tales como TiN, CrN, TiAlN [159], han mostrado excelente respuesta frente a la corrosión y resistencia al desgaste a diversos sustratos de acero. El desempeño en medios

corrosivos en particular para el TiN ha sido estudiado [160] con el fin de ampliar la aplicabilidad de este recubrimiento particularmente en medios corrosivos, tales como implantes dentales [161], ortopédicos y cardiovasculares [162].

De acuerdo a un reportaje del diario italiano *corriere del 28 de enero de 2011*:

"Una prótesis de titanio hecha a la medida con un dispositivo electrónico en miniatura se ha implantado con éxito en un niño de 11 años que padecía de una forma de tumor óseo: el osteosarcoma. La prótesis inteligente crece con el aumento en la estatura fisiológica del niño, manteniendo así las dos piernas de la misma longitud. La intervención de la pierna derecha duró 5 horas, y fue completada en término por un equipo de cirujanos ortopédicos y vasculares en el policlínico Gemelli de Roma.
" 163

La prótesis se llama Mutars Xpand: es de titanio recubierto con nitruro de titanio y fue desarrollada por la Escuela de Ortopedia Oncológica, Münster (Alemania). De acuerdo a Giulio Maccauro, jefe de Ortopedia Operativa Oncológica *"Permite un estiramiento no invasivo y mecánico de la extremidad, a través de un procedimiento puede ser realizado por el paciente o los padres mediante las instrucciones médicos"*. 164-165

La búsqueda de nuevos biomateriales para aplicaciones biomédicas que mejoren las propiedades del titanio va en aumento.

Scarano y cols (2003) llevaron a cabo un estudio donde se colocaron implantes con recubrimiento de TiN en tibia de rata y concluyeron que el recubrimiento de TiN demostró una buena biocompatibilidad, no tienen efectos adversos sobre la formación ósea periimplantaria. 166

El mismo autor en otro estudio demostró que las Superficies de TiN mostró una significativa reducción de la presencia de bacterias, y este hecho probablemente podría ser importante en la disminución de la inflamación de los tejidos blandos periimplantarios.¹⁶⁷

En la actualidad el interés científico ha girado en miras hacia el Nitruro de Titanio pues numerosos artículos han demostrado las ventajas de este biomaterial respecto de las deficiencias de algunos otros, así pues el recubrimiento de TiN a implantes puede encaminar a una mejora en las rehabilitaciones orales y maxilofaciales.

5.6 ORO

El oro es un elemento químico de número atómico 79 situado en el grupo 11 de la tabla periódica de los elementos. Su símbolo es Au. Es un metal blando, pesado, dúctil, el más maleable de todos, brillante, el único metal de color amarillo, muy resistente a la acción química de los oxidantes y por consecuencia a la corrosión, lo que es de gran relevancia para el nuestro estudio. De las características más relevantes es que posee la propiedad de ser biocompatible. ¹⁶⁸; El origen del oro esta enlazado genéticamente con las intrusiones acidas, el más característico de sus orígenes es el hidrotermal en los filones cuarcíferos, donde es acompañado de la pirita, la arsenopiritina, la galena, la calcopirita, la bismutina y los teluridos ¹⁶⁹.

A consecuencia de las magnificas propiedades de este material, no es ninguna sorpresa que los primeros acontecimientos con fines curativos hayan tenido lugar en la antigua china en el año 2500 a.C.; en la prehistoria se menciona que las civilizaciones existentes daban un significado curativo a el oro, y en el menor de los casos, atribuían propiedades mágicas, se utilizaban pociones que contenían polvo de oro y algunas otras aplicaciones, que encaminaron hacia la edad media. Seria en el año 1300, con el descubrimiento a manos de los alquimistas de cómo disolver el oro con agua regia, aquí surgirían diversas recetas que contenían oro coloidal y múltiples compuestos (especies, hierbas etc.); surgiría el agua potable de oro conocido como un elixir que sería comercializado y podría ser suministrado por vía oral, surgiendo así la crisoterapia, la cual tendría auge en el siglo XX. En la actualidad, el uso y las aplicaciones medicas de los componentes de el oro se ha expandido con gran fuerza, podríamos pensar que a partir de 1890. Cuando el bacteriólogo Robert Koch descubrió que los compuestos hechos con oro inhibían el compuesto el bacilo que causa la tuberculosis. Su trabajo de

investigación fue reconocido con el premio Nobel de medicina, dejando así un legado acerca del uso del oro en el área biomédica. 170-172

En la actualidad el uso de el oro en el área médica esta en desuso debido a su elevado costo, sin embargo existen algunas terapias en las que su uso es imprescindible, una muestra de esto es el uso de el mismo la aplicación de la terapia reconstructiva en parálisis facial; se lleva a cabo mediante pesas de oro específicamente prediseñadas que serán colocadas en el párpado superior de los pacientes. 173

La primera incursión del oro como material implantológico fue a través de Maggiolo quien en 1809 cuando utilizo oro con forma de raíz dentaria, posteriormente en 1910 el Dr. E. J. Greenfield introdujo en el alvéolo una cesta de iridio y oro de 24 kilates a manera de implante dental.

Años después, Raja Kummoona en 1976 reporto unos casos donde se empleo un implante Cobalto- cromo- oro para la reconstrucción de un piso orbitales traumatizados, que en resumen mostraban dos secuelas de lesiones en el piso de la órbita, y que estos han sido corregidos con un implantes de cromo cobalto y oro. 174

La investigación orientada en biomateriales implantológicos es vasta, podemos recordar desde el trabajo realizado por el Dr. Grady Young a partir de 1975, el cual se baso en la colocación de implantes de oro a nivel de las vértebras para tratar la displasia en perros, este obtuvo un nivel de éxito de un 75% en mencionadas fechas; Por otra parte también podemos mencionar el estudio encaminado a la integración de los implantes de oro y titanio y sus tejidos duros y blandos por parte del departamento de periodoncia en la academia de la universidad de Goteborg en Suecia,

donde mencionan el logro de la óseo integración en superficies de oro y de titanio y las dimensiones de tejidos blandos en correctas proporciones;. A demás estudios comparativos se han realizado, midiéndola estructura de interfase entre el hueso cortical y los implantes de oro, zirconio y titanio en conejos; arrojando resultados donde podemos observar rangos similares respecto a su cicatrización y regeneración ósea, pero mostrando mas efectividad en titanio, zirconio y oro respectivamente. 175

Algunos autores han centrado su atención en comparar la biocompatibilidad del oro debido a su alta resistencia a la corrosión.

Por otra parte y de manera más específica al proyecto de investigación presente, es necesario mencionar el estudio realizado de oro y titanio, comparándolos entre si y su comportamiento con tejidos duros y blandos; se realizo un estudio en 4 perros Beagle, donde todos los premolares inferiores del animal fueron extraídos, tres meses después se colocaron implantes de oro y titanio en la región mencionada, seis meses después se sacrificaron los animales para comenzar los estudios correspondientes sobre las zonas de estudio, biopsia y análisis microscópicos. Los resultados comparativos entre estos dos materiales arrojaron resultados similares en lo que respecta a La altura de la mucosa peri-implante y la longitud de la barrera del epitelio, todo esto en las 4 zonas experimentales. A su vez los resultados comparativos a nivel de oseointegracion de estos dos materiales, mostraron mayor porcentaje de oseointegracion en titanio, mientras que en el estudio de oro hubo una formación menor de materia ósea; Cabe mencionar que dicho estudio se realizo con materiales implantológicos de las mismas características de textura, diseño y manipulación.

6

OSEOINTEGRACIÓN

6.1 FUNDAMENTOS.

El concepto de oseointegración se basa en una investigación que comenzó a realizarse en 1952 a partir de estudios microscópicos de la médula ósea del peroné del conejo¹⁷⁷. En estos estudios se observaba la curación de una fractura ósea a través de una cámara de titanio (Ti) puro insertada en la medular peroneal, que permitía ver la zona de transición entre el hueso nativo y el hueso neoformado durante el proceso de reparación. Debido a que las cámaras ópticas no podían ser retiradas al finalizar el trabajo de experimentación ya que estaban completamente incorporadas al hueso, se planteó un nuevo estudio en el que se empleaba este metal como componente de placas de osteosíntesis en la reducción y fijación de fracturas de huesos largos. A tenor de los resultados se procedió a su aplicación dental, utilizando diferentes diseños de implantes de Ti de morfología radicular que se colocaron en mandíbula de perro, comprobando que dichos implantes eran capaces de soportar una estructura protética dental¹⁷⁷.

A la aposición directa de hueso sobre su superficie de Ti se le denominó *oseointegración* u *osteointegración*¹⁷⁷.

Otro término utilizado para definir este hecho biológico es el de “anquilosis”, aunque desde el punto de vista anatomopatológico, no se trataría de una anquilosis verdadera, dado que no existe fusión del biomaterial que compone el implante con el hueso, y en consecuencia sería mucho más utilizar un término descriptivo de oseointegración, el de “contacto óseo directo”¹⁷⁸.

Branemark y cols.¹⁷⁷, refiriéndose concretamente a la oseointegración de los implantes dentales puntualizan más aún esta definición especificando que, el contacto, visto con el microscopio óptico, debe ser “estructural y funcional entre hueso ordenado y vivo y la superficie del implante una vez sometido a carga funcional”, o sea que debe recibir fuerzas y ser capaz de soportarlas sin perder la unión de su superficie al hueso. Es pues un fenómeno que depende de las capacidades de cicatrización, reparación y remodelado de los tejidos.

Este fenómeno biológico puede observarse con diferentes tipos de materiales como son las cerámicas y los metales¹⁷⁸. Para comprender los mecanismos de este proceso biológico es necesario conocer perfectamente la fisiología ósea y el proceso que se desencadena cuando ocurre una lesión ósea que debe ser reparada.

6.2 DESARROLLO DE LA INTERFASE HUESO-IMPLANTE.

El tejido óseo es una variedad de tejido conectivo mineralizado con un potencial de regeneración único, ya que es capaz de cicatrizar restaurando completamente su estructura original y su función.

El éxito de la interfase hueso-implante depende de factores biológicos y sistémicos del paciente^{179,180,181} y de las características del implante y su superficie,^{182,183} entre otros. Una adecuada oseointegración está sujeta a la aceptación del implante por parte de los tejidos vivos^{184,185} sin la formación de tejido fibroso en la interfase hueso-implante y sin la presencia de síntomas de inflamación severa.^{186,187, 184, 188}

Por su parte, la interfase hueso-implante dental se caracteriza por las propiedades favorables al crecimiento y formación de nuevo hueso alveolar que posee el implante en su superficie^{189,190,191,192} y por el diseño del implante, lo que le permite distribuir adecuadamente las cargas mecánicas ejercidas durante la masticación.^{184,185,183} Por lo tanto, esta interfase debe considerarse como el resultado de la interacción de un conjunto de factores que modulan la respuesta biológica y que determinan el éxito de la oseointegración, entre los que se encuentran la respuesta inmune del paciente,^{184,181} el procedimiento de inserción,¹⁸⁹ las características fisiológicas del hueso receptor,¹⁹¹ los factores mecánicos del implante y su superficie ^{193, 194,} y la acción de fuerzas mecánicas sobre el hueso y el implante.¹⁹⁵

La cicatrización ósea en la interfase hueso-implante se activa tras la lesión que supone la preparación quirúrgica del lecho del implante. Sigue una serie de fases diferenciadas en cuanto al proceso biológico que se produce, pero superpuestas en el tiempo. ¹⁹⁶

1. *Adsorción proteica.* Ocurre en minutos, e incluso segundos, tras la colocación del implante, que inmediatamente se cubre de una capa de componentes orgánicos e inorgánicos del plasma. En primer lugar, se produce la adsorción de moléculas de agua a la superficie del implante formándose una capa de óxido de titanio en su superficie. A continuación, sobre esta capa se incorporan diferentes iones plasmáticos (Cl^+ , Na^+ y Ca^{++}), y, seguidamente, se unen Biomoléculas (fibronectina, vitronectina, albumina, IgG).
2. *Adherencia celular.* Las células interactúan con la superficie del implante a través de recepción de integrinas que reconocen secuencias de péptidos en las proteínas adheridas a su superficie (la secuencia RGD: arginina, glicina, ácido aspártico, ha sido identificada en la fibronectina y vitronectina). La fibronectina media en la adhesión de células mesenquimales, la vitronectina de células derivadas del hueso y la osteopontina de células inflamatorias y osteoclastos. Las primeras células en contacto con el implante son células sanguíneas (monocitos, neutrófilos), seguidas de células epiteliales, fibroblastos y células óseas.
3. *Producción de factor local.* La preparación quirúrgica del lecho óseo induce una respuesta inflamatoria aguda y, por tanto, la liberación y activación de citoquinas y factores de crecimiento a partir de plaquetas y células polimorfonucleares y macrófagos. Como resultado, las células mesenquimales migran dentro del coágulo y sintetizan una red colágena que se convierte en un andamio para la reparación de la herida. Los mediadores inflamatorios PGE_2 y factores de crecimiento $\text{TGF-}\beta_1$ son expresados

en el rango osteogénico sobre la superficie rugosa y no en niveles que produzcan reabsorción ósea.

4. *Proliferación y diferenciación celular modulada por TGF- β 1, PGE2, BMP-2 y vitamina D3.* Las células mesenquimales pluripotenciales responden a TGF- β 1, aumentando su proliferación, y osteoblastos y condrocitos su diferenciación.
5. Producción y calcificación de una matriz necesaria para la correcta interrelación entre los cristales de apatita y colágena. La mineralización de la red de colágeno se ve influenciada por la producción de los osteoblastos de proteínas, como la fosfasa alcalina, la fibronectina, la osteopontina, la sialoproteína ósea y la trombospondina.

Davies (1998) describe la cascada de lo que domina formación de nuevo hueso en la curación periimplantaria en cuatro fases:

1. Adsorción de proteínas no colágenas en la superficie del implante.
2. Mineralización de esas proteínas.
3. Crecimiento y maduración de los cristales de hidroxiapatita.
4. Unión-recubrimiento a esa matriz de interfase de una matriz colágeno.

De esta forma, establece que la interfase hueso-implante sería una estructura sin red colágena (línea de cementación) que tendría un espesor aproximado de 0,5 μ m, formada por componentes orgánicos, en su mayoría proteoglicanos y glicoproteínas, y componentes inorgánicos, como fosfatos cálcicos. En su mayoría hidroxiapatita.

6.3 MECANISMO DE LA OSEOINTEGRACIÓN.

Según Davies ¹⁹⁷ existen tres fenómenos biológicos que confluyen en el proceso de la oseointegración o secuencia de curación ósea alrededor de un implante:

- Osteoconducción.
- Formación ósea "de novo".
- Remodelado óseo.

Una vez efectuado el lecho y colocado el implante debe considerarse que existe un defecto periimplantario de 1 mm a su alrededor, en la interfase hueso-implante, este espacio estará ocupado por sangre y partículas de hueso fresco, hueso necrótico, hueso viejo y tejido conectivo¹⁹⁷. Además en esta interfase también encontramos otras sustancias producto de la respuesta inflamatoria aguda, que provocan la emisión y activación de las citocinas y los factores de crecimiento que influirán sobre la cicatrización inicial.

A partir de ese momento se desencadenarán los procesos biológicos que permitirán la osteogénesis o formación de nuevo hueso hasta que éste cubra la superficie del material implantado. Estos procesos biológicos se denominan *osteogénesis a distancia* y *osteogénesis de contacto*^{197, 198}.

La *osteogénesis a distancia* ocurre en la superficie ósea del lecho periimplantario. Es un proceso parecido al crecimiento por aposición, como en el caso de la reparación de una fractura, gracias a que las superficies óseas aportan células pluripotenciales indiferenciadas que se diferenciarán en células osteogénicas (osteoblastos) y que a su vez secretarán matriz extracelular y factores reguladores locales. Conforme la

osteogénesis avanza se llegará a establecer el contacto de las células indiferenciadas potencialmente osteogénicas y la matriz extracelular con la superficie del implante quedando finalmente rodeada por hueso.

Como ya se ha dicho en apartados anteriores, se han descrito varios factores de crecimiento y de diferenciación celular implicados en la activación y proliferación de las células como son: FGF- β , Prostaglandina E2 (PGE-2, secretadas por los osteoblastos), BMP-2 y BMP-7, Vitamina 1,25-(OH) $_2$ D $_3$, PTH (producida por las glándulas paratiroides, se ocupa de disminuir la calcemia), y la Calcitonina (producida por las células C de la glándula tiroides entre cuyas funciones se encuentra la disminución de la calcemia).

En la siguiente etapa, la fase de *osteogénesis de contacto*, la formación ósea se produce desde la superficie del implante, esta superficie debe ser colonizada por las células osteogénicas antes de que formen matriz extracelular puesto que a partir de ese momento ya no podrán desplazarse.

El desplazamiento de las células a lo largo de la superficie implantaria se denomina **osteokonducción**. Inicialmente el coágulo formado en el lecho implantario será reemplazado por tejido conectivo y células osteogénicas. En este momento, el tipo de superficie del implante juega un papel de gran relevancia. Las superficies rugosas tienen mayor capacidad para retener mecánicamente la malla de fibrina del coágulo y, cuando se produce su retracción las fibras que lo componen tienen un anclaje de más calidad y más amplio para retenerlas que en el caso de las superficies lisas, con lo que se consigue una matriz arquitectónica más sólida que permitirá posteriormente la migración de las células osteogénicas que

deben alcanzar la superficie. Además las superficies rugosas también aportan una mayor área de contacto. A continuación, la calcificación de la matriz extracelular dará lugar a la **formación de hueso nuevo**. Inicialmente la secreción de los osteoblastos (células osteogénicas diferenciadas) no contiene colágeno y se han podido identificar dos proteínas no colagénicas la *osteopontina* y la *sialoproteína ósea*, según Davies¹⁹⁷, y algunas proteínas del suero entre ellas la *fibronectina* y *vitronectina* de acuerdo con Kupp¹⁹⁹, que están implicadas en la adhesión de las células progenitoras no diferenciadas. Estas proteínas tienen los aminoácidos arginina-glicina-ácido aspártico-serina (RGDS), que es un dominio peptídico de adhesión, que se une a las secuencias que permiten la conexión de las células mesenquimales indiferenciadas. En ausencia de proteínas de adhesión, la adhesión de los osteoblastos a la superficie de un material es nula o muy escasa. Las proteínas que contienen este dominio peptídico son reconocidas por las integrinas de las células a las que se adhieren fuertemente^{200,201,202}

Algunos tipos de superficies implantarias, especialmente si son porosas y capaces de absorber la humedad y estimulan la absorción de las proteínas que contienen este dominio, son más estimuladoras de la oseointegración, por ello se les denomina también *superficies bioactivas*^{201,203}.

Se ha podido comprobar que entre el implante y el tejido óseo existe una interfase de material amorfo, no entrando en realidad en contacto directo el hueso con el titanio, se trata de una capa de sustancia amorfa electrón densa parcialmente mineralizada tiene un espesor de 20-40 nm ²⁰⁴. En esta interfase existe también una capa de fibras colágenas que parten del hueso de un grosor 100 a 500 nm. Mediante el análisis de la sustancia amorfa se ha determinado su composición de manera que se sabe que

está constituida por proteoglicanos y glucosaminoglicanos según diversos autores^{205, 201, 203, 207-209}.

La **fase de remodelado óseo** es especialmente importante para la estabilidad del implante a largo plazo, ya que se ha demostrado que el hueso cortical sufre una lesión de aproximadamente 1 mm como consecuencia de la preparación quirúrgica del lecho del implante, según Brunski²¹⁰. A través del remodelado óseo que ocurre en el largo periodo de curación, el implante termina atrapado por el hueso nuevo.

Bianchi²⁰⁵ distingue tres fases en el proceso biológico del remodelado óseo periimplantario: resorción, inversión y aposición. Se trataría de una secuencia de eventos que se inicia al soportar el implante una carga que se transmite al hueso que lo rodea. En este momento se inicia la *resorción* ósea por los osteoclastos, cuando la carga llega a un valor determinado los osteocitos se activan y estos a su vez activan el proceso de *inversión*, bloqueando la acción de los osteoclastos y como consecuencia iniciándose un proceso de diferenciación de los osteoblastos y por lo tanto de formación ósea y posteriormente de *aposición* ósea que se interrumpe cuando finaliza la carga.

6.4 FASES DE LA OSTEINTEGRACION

Una vez activada la oseointegración, el proceso de formación ósea comienza durante la primera semana y sigue un programa biológicamente determinado dividido en tres fases (211):

1. *Formación de hueso reticular* (desde el primer día hasta la cuarta-sexta semana). Se caracteriza por una orientación al azar de sus fibras colágenas. Crece formando una matriz primaria asociada a la

formación de una red vascular (esponjosa primaria) que unir gaps de menos de 1 mm en un par de días. Normalmente, comienza creciendo a partir del hueso de alrededor hacia el implante, excepto en gaps estrechos, donde simultáneamente se deposita sobre su superficie.

2. *Adaptación de la masa ósea a la carga (deposito de hueso laminar y de fibras paralelas)* (a partir del segundo mes). La estructura microscópica del nuevo hueso cambia hacia hueso laminar con fibras de colágena bien organizadas. Ambos tipos crecen por aposición sobre una base solida preformada, que puede ser el hueso reticular, la superficie del implante y la superficie ósea preexistente.

3. *Adaptación de la estructura ósea a la carga (remodelación y modelación ósea)* (a partir del tercer mes y durante toda la vida). Consiste en la renovación y sustitución del tejido óseo para mejorar su calidad de cara a sus propiedades metabólicas y mecánicas. En la secuencia de remodelado aparecen los osteoclastos y producen un canal de reabsorción que es ocupado por estructuras vasculares acompañadas de células perivasculares osteoprogenitoras y osteoblastos, que lo van a rellenar con laminas concéntricas de hueso laminar originando las osteonas (unidad estructural del tejido óseo).

La oseointegración representa un proceso dinámico. En la fase de establecimiento hay un equilibrio de hueso (en áreas de contacto implante-hueso mineralizado) y formación ósea (en áreas sin contacto). Durante la fase de mantenimiento, la oseointegración se asegura a través de una remodelación y adaptación a la función. (Figura 24.)

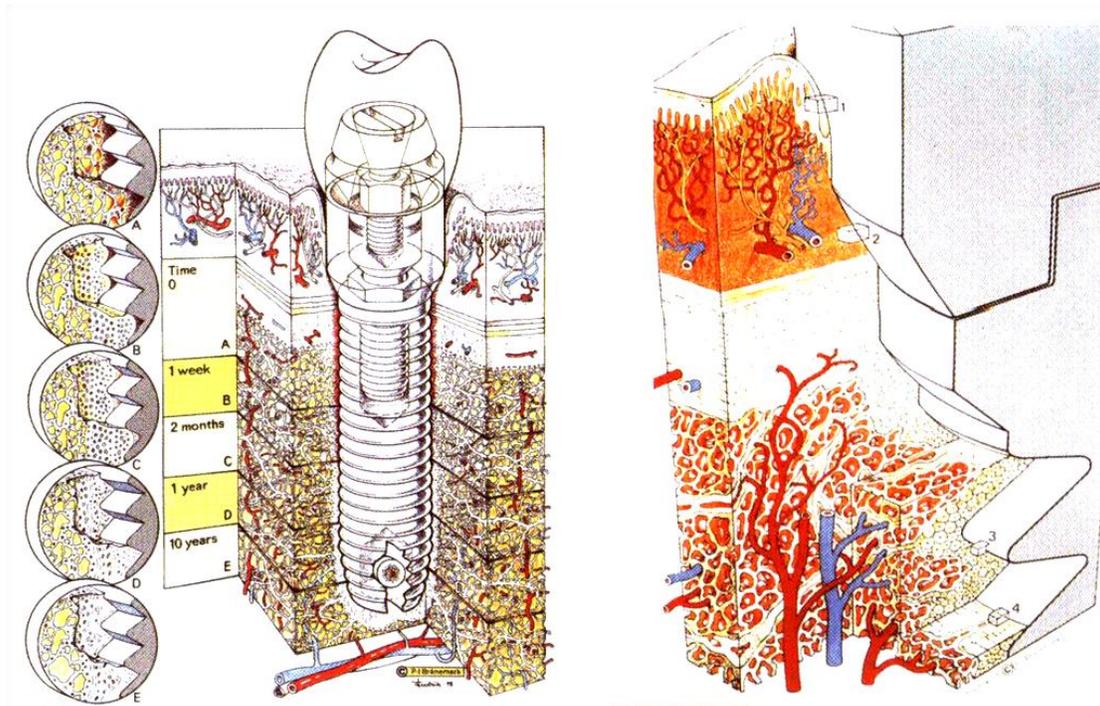


Figura 24. Ilustración clásica de la biología de la oseointegración

6.5 REQUISITOS PARA LA OSTEOINTEGRACIÓN

Deben cumplirse una serie de requisitos para lograr la oseointegración aunque actualmente están sujetos a revisión respecto a los que fueron propuesto inicialmente, especialmente en lo que se refiere a la puesta en función del implante, lo que también se denomina “carga funcional” o simplemente “carga”. Estos requisitos son²¹²:

- *Biocompatibilidad* de los materiales a implantar: Deben emplearse materiales biocompatibles, que no desencadenen reacciones a cuerpo extraño. Si el metal libera productos corrosivos causará una reacción inflamatoria. Actualmente no existe ninguna duda respecto a que el cuerpo del implante debe ser de Ti comercialmente puro o de alguna

aleación biocompatible que en todo caso mejore las características físicas.

- *Técnica quirúrgica atraumática*: Debe realizarse la preparación del lecho implantario con la menor producción de necrosis ósea. La temperatura ósea durante el fresado no puede sobrepasar los 47° C durante un minuto.

- *Diseño del implante*: El diseño macroscópico o morfología macroscópica debe ser tal que permita una distribución uniforme de la carga funcional y ofrezca una buena estabilidad una vez instalado en cualquier tipo de hueso.

Respecto al diseño de la microsuperficie debe facilitar la integración en un alto porcentaje así como contribuir también en la retención mecánica primaria.

- Estado del hueso receptor: Tanto en sus dimensiones como en su calidad deben ser suficientes para que el implante pueda ejercer su función de soporte. A corto plazo la calidad ósea condicionará el porcentaje de superficie de contacto entre ambos. El grosor y la altura de hueso facilitará que la dimensión del implante ayude a garantizar una larga vida de función.

- Condiciones de asepsia quirúrgica durante el proceso de instalación del implante.

- Calidad de los tejidos blandos periimplantarios: Es recomendable que exista mucosa queratinizada alrededor del cuello del implante, ya que

esta favorece el sellado biológico periimplantario y facilita la higiene bucal.

Por supuesto los implantes se dispensan debidamente esterilizados mediante una dosis mínima de rayos gamma (25 KGy) procedente de una fuente de Co60²¹³. Por el contrario, entre los factores que perjudican gravemente la oseointegración se encuentran²¹²:

- Inadecuada vascularización ósea.
- Movilidad del implante: La falta de estabilidad primaria en el momento de su instalación. Debido a baja calidad ósea, a mala técnica en el labrado del lecho quirúrgico o al inadecuado diseño del implante elegido.
- Sobrecarga mecánica: Producida en el periodo de tiempo cercano a la colocación del implante o una vez integrado y formando parte de una prótesis. En la actualidad se permite, siempre que se cumplan las condiciones adecuadas, la función inmediata de los implantes en el plazo de días o semanas ²¹⁴⁻²¹⁵.

- Mala higiene y mantenimiento inadecuado: Debida a el acúmulo de placa bacteriana por mala higiene, por mal diseño del plan de tratamiento o de la prótesis, o por aflojamiento de la estructura protésica conectada al implante. Estos factores provocarán una inflamación de tejidos los periimplantarios, inicialmente a nivel de la mucosa y posteriormente a nivel del hueso, que pueden tener como consecuencia una pérdida de soporte óseo progresivo²¹².

Del cumplimiento de todos los requisitos indicados y la eliminación de los factores que pueden ser negativos a lo largo de la vida de un implante, se desprenden unos criterios que permitirán establecer el “éxito” de un

tratamiento implantológico. En la actualidad se admiten los criterios marcados por Albrektsson y cols.²¹⁶ que son:

- Un implante individual, no ferulizado, tiene que ser inmóvil cuando se examina clínicamente.
- La radiografía no debe mostrar radiotransparencia periimplantaria.
- Se permite una pérdida ósea vertical de 1 mm el primer año de función y de menos de 0,2 mm anuales en los siguientes.
- Ausencia de signos y síntomas como dolor, infecciones, neuropatía, parestesias y lesión del nervio dentario inferior.
- Dentro de este contexto, el porcentaje de éxito a los 5 años debe ser superior al 85%, y del 80% a los 10 años.

6.6 EVALUACIÓN DE LA OSEOINTEGRACIÓN.

6.6.1 Valoración Clínica.

- ¿Cuándo ocurre la oseointegración?
- ¿Cuál es el periodo óptimo de integración?
- ¿Cuándo está el implante preparado para ser cargado?
- ¿Cuál es la influencia de las superficies tratadas en la integración de los implantes?

Todas estas respuestas deberían poder ser contestadas mediante un método cuantificable independientemente del observador, de forma que

fuera posible monitorizar la estabilidad de un implante antes y después de su instalación, mediante un parámetro fiable que facilitara la toma de decisiones respecto al momento ideal de carga de un implante, o el tipo de prótesis que sería capaz de soportar con garantía de éxito a largo plazo.

Puesto que los parámetros clínicos con los que disponemos para evaluar el grado de oseointegración de un implante son un nivel de hueso marginal estable y una ausencia de su movilidad en el lecho, se valora su oseointegración a partir de la observación radiográfica y de los criterios mecánicos de estabilidad.²¹¹

La técnica radiográfica permite identificar áreas radiolucidas periimplantarias y la altura ósea marginal, pero solo valora cambios en sentido mesiodistal. Actualmente se cuenta con pruebas clínicas que cuantifican de modo objetivo la estabilidad de un implante. Se clasifican pruebas invasivas y no invasivas en función de si su utilización implica algún daño en la interfase hueso-implante. Existen dos métodos avalados por una amplia documentación científica²¹⁷. El instrumento Periotest® (Siemens, AG, Bensheim, Germany) compuesto por una pieza de mano controlada electrónicamente, contiene un percutor que impacta al pilar del implante con una fuerza de 8 gr registrando de forma directa la capacidad de amortiguación del periodonto, y de forma indirecta su movilidad.

Un valor Periotest negativo en una escala de -8 a +50 indica contacto con una superficie dura (estabilidad).

El método de análisis de la frecuencia de resonancia mide la frecuencia de vibración ISQ (cociente de estabilidad del implante) en una escala de 0 a 100. Es una medida indirecta de la rigidez; por tanto, cuanto mayor sea el grado de estabilidad de un implante, mayor será su frecuencia de resonancia. se necesitan mas estudios para mejorar los sistemas de medida de estabilidad en implantes, y para definir si realmente son una medida del grado de su osteointegracion.²¹⁸

Rango de valores Periotest	Significado
Desde -8 hasta 0	Buena osteointegración; el implante está bien integrado y puede someterse a carga
Desde +1 hasta +9	Es necesario un examen clínico; en la mayoría de los casos (aún) no es posible someter el implante a carga
Desde +10 hasta +50	La osteointegración es insuficiente, no debe someterse el implante a carga

<http://www.med-gulden.com/>

6.6.2 In vitro: Estudio de cortes histológicos.

Muchos son los trabajos que evalúan la oseointegración mediante estudios histológicos, la mayoría de ellos se obtienen de muestras conseguidas a partir de la experimentación animal ²¹⁹⁻²²¹ aunque se aportan también datos procedentes de muestras de humanos ^{222,223}.

Innegablemente estos estudios son necesarios e imprescindibles para la obtención de datos sobre su comportamiento antes de su aplicación en el hombre y permiten determinar la cuantificación y el nivel de calidad del contacto que consigue la superficie del implante con el hueso receptor a través del tiempo, mediante el uso de diferentes técnicas de tratamiento de las imágenes de los cortes y escalonando el sacrificio de los animales de experimentación.

Los métodos de cuantificación utilizados normalmente son el análisis histomorfométrico y el porcentaje de contacto ya sea a partir de

observaciones hechas en microscopio óptico (MO) como en microscopio electrónico de barrido (MEB). Dentro del análisis histomorfométrico, la cuantificación del número de osteoblastos/osteocitos, la distribución de otros tipos de células como fibroblastos, osteoclastos y macrófagos, distribución y orientación de las fibras colágenas, grado de madurez y calcificación permiten cualificar la oseointegración en función del tiempo y comparar diferentes implantes con fiabilidad **219-224**.

El procesado de las muestras es distinto según se requieran para poder ser observadas mediante microscopio óptico (MO) o microscopio electrónico de barrido (MEB)²²⁵.

7

IMAGENOLOGIA EN IMPLANTOLOGIA

La introducción de la oseointegración en Odontología facilitó el gran crecimiento de diversas especialidades alrededor de la Implantología oral, siendo el diagnóstico por imágenes una de las áreas que más se benefició con ese crecimiento.

Las interacciones de los elementos del cuerpo humano y sus procesos bioquímicos con los diversos agentes físicos (rayos X, ultrasonidos, ondas de radiofrecuencia, partículas radiactivas, radiación luminosa visible, infrarroja y ultravioleta) permiten obtener una imagen de la anatomía, fisiología y actividad de la región del cuerpo considerada, bien mediante la impresión directa sobre una superficie sensible, o bien mediante una reconstrucción informática de los datos registrados.²²⁶⁻²²⁷

Las imágenes así obtenidas se caracterizan, en general, por su complejidad y dificultad de interpretación, debidas entre otros factores, a los efectos originados por la superposición de diferentes estructuras y órganos, la propia complejidad y variabilidad de los mismos, los diversos mecanismos simultáneos de interacción de agentes físicos, y los niveles de ruido de fondo asociados a los detectores y procedimientos de medida y caracterización utilizados.²²⁶⁻²²⁷

El análisis de las imágenes biomédicas es cada vez más importante, tanto para la investigación en las ciencias de la salud como en la generación de diagnósticos.²²⁸ La evaluación radiográfica representa uno de las etapas

más importantes en el diagnóstico y la evaluación postoperatoria de los implantes osteointegrados. Las técnicas radiográficas tradicionales como la radiografía panorámica y periapical no permiten la evaluación de la densidad ósea real; por eso, nuevas técnicas radiográficas fueron creadas o adaptadas para suplir las principales necesidades de la Implantología oral, o sea la evaluación de la cantidad y de la calidad ósea. A partir de estas necesidades los aparatos radiográficos existentes sufrieron grandes evoluciones tecnológicas y, hoy, muchos de estos equipos ya posibilitan, además de las técnicas radiográficas tradicionales como la radiografía panorámica y la telerradiografía lateral, la realización de tomografías convencionales con movimientos multidireccionales.

La modalidad de imagen ideal según Frederiksen²²⁹ debería:

- proporcionar imágenes transversales de los arcos dentales, permitiendo la visualización y la inclinación del proceso alveolar del futuro sitio receptor del implante y su relación con las estructuras anatómicas.
- permitir la realización de mediciones con exactitud.
- posibilitar una evaluación de la calidad ósea.
- posibilitar la localización de las imágenes en relación con los futuros sitio de los implantes.
- ser accesible financieramente al paciente.

Entre todas las técnicas disponibles, actualmente ninguna puede ser considerada como la modalidad de imagen ideal. Por eso, es necesario hacer una combinación de diferentes técnicas radiográficas existentes según la complejidad y la peculiaridad de cada caso, a fin de que se consigan los mejores resultados con el mínimo coste financiero y la menor dosis de radiación posible.

Los objetivos de control radiográfico postoperatorio de acuerdo con Gröndhal. *et al.* (1996) ²³⁰, son:

-Diagnosticar lesiones patológicas en pacientes con señales y síntomas clínicos después de la colocación de los implantes.

-Determinar la adaptación del *abutment* sobre el implante después de la conexión de este.

-Permitir la detección de fracturas de los componentes de los implantes o de los *abutments*.

-Evaluar el nivel óseo marginal y sus cambios.

-Evaluar la interfase hueso-implante para detectar señales que puedan indicar fallas en la oseointegración.

-Diagnosticar lesiones patológicas en los dientes remanentes que puedan interferir en los implantes y/o prótesis.

7.1 RADIOLOGIA INTRAORAL Y ORTOPANTOMOGRAFIA

La radiografía periapical y la panorámica debe ser vista como una técnica primaria en la evaluación preoperatoria y postoperatoria de los implantes osteointegrados. A partir de la aplicación de estas técnicas, el implantólogo, con base en la información obtenida en el examen clínico y la anamnesis, solicitará estudios complementarios para la correcta planificación del caso.

Siempre que sea posible la radiografía periapical deberá ejecutarse con la técnica del paralelismo, pues proporciona una mejor calidad de imagen, y presenta menor distorsión de imagen. Para que esto sea posible el rayo deberá incidir perpendicularmente a la tangente del reborde alveolar, de esta manera evitando distorsiones en sentido mesiodistal.²³¹

La evolución de los equipos de radiografías en los últimos años permitió un gran avance en la calidad de la imagen de esta técnica. Considerando el bajo costo financiero y con la reducida dosis de radiación, combinada con la gran área examinada, hizo que la radiografía panorámica digital se tornara en un examen de selección en todas las áreas de la Odontología. Anteriormente, los equipos para radiografía convencional presentaban un grado de magnificación que lograba distorsiones en sentido horizontal y vertical, este hecho, ponía en desventaja esta técnica radiográfica frente la tomografía computarizada²³². Sin embargo, la introducción de los sistemas computacionales en la radiología permite en la actualidad calibrar la imagen con objetos de medida estandarizada para poder obtener una imagen más precisa²³³.

Existen actualmente dos tecnologías diferentes en radiología digital: radiología digital directa (RDD) y radiología digital indirecta (RDI).

A continuación se describe la tecnología que se empleo durante la presente investigación.

Radiología digital directa. Emplea como receptor de rayos X un captador rígido habitualmente conectado a un cable a través del cual la información captada por el receptor es enviada a la computadora. Se denomina directa porque, a la inversa de la indirecta, no requiere ningún tipo de escaneado tras la exposición a los rayos X, sino que el propio

sistema realiza automáticamente el proceso informático y la obtención de la imagen

7.1.1 Principios básicos

La Radiología digital directa funciona con sensores fotosensibles similares a los de las cámaras fotográficas digitales. Puesto que estos sensores se estimulan con luz y se deteriorarían al ser expuestos a rayos X, el receptor o captador de estos sistemas consta de otros dos componentes, además del sensor. La primera capa, el escintilador, se encarga de transformar los rayos X en luz. Una pequeña cantidad de radiación atraviesa el escintilador sin ser convertida en luz, por lo que una segunda capa compuesta por fibra óptica u otros materiales evita la penetración de los rayos X hasta el sensor y por tanto su deterioro. ²²⁶⁻²²⁷

El sensor está formado por una estructura de celdillas o píxeles fotosensibles capaces de almacenar fotones, y que convierten la señal luminosa que reciben en una señal eléctrica de intensidad proporcional. Esta señal eléctrica es enviada a un conversor analógico digital o DAC que, como su propio nombre indica, transforma la señal analógica (eléctrica) en una digital (basada en un código binario). De este modo, la señal luminosa que recibe cada píxel del sensor será convertida en un valor formado por ceros y unos, y este valor será interpretado como un determinado nivel de gris. ²²⁷

La unión de todos los puntos grises correspondientes a las distintos píxeles generará finalmente una imagen.

Actualmente la mayoría de los dispositivos simples permiten adquirir la imagen con una profundidad de 8 bits, los cuales permiten representar 256

niveles de tonos de gris, con un rango de 0 a 255.5 Existe además un proceso de codificación o transcripción de un sistema a otro. Una vez en la computadora, se requiere un *software* que a partir del archivo nos muestre la imagen, y necesariamente debe ser compatible con el CAD.²²⁶⁻²²⁹

En la imagenología médica de alta complejidad, el formato digital para la adquisición de imágenes diagnósticas más utilizado es DICOM (digital imaging and communication in medicine).²²⁶

Es una técnica compara niveles de gris con un valor de referencia según el histograma de la imagen. Generalmente cada nivel de gris está relacionado con la composición del material. Para las imágenes médicas obtenidas mediante sistemas digitales cada píxel esta asignado a un valor numérico que corresponde a un valor promedio de la atenuación correspondiente del vóxel o unidad de volumen. Utilizando como referencia el valor de atenuación del agua este valor es comparado, conformando así una escala de unidades arbitrarias llamadas unidades Hounsfield.

Esta escala asigna al agua un valor de atenuación = cero. La escala de Hounsfield tiene un rango de 2.000 valores, en los que cada uno representa el valor de atenuación de un tejido determinado y el negro absoluto es el -1.000 y el blanco absoluto es el +1.000.^{226,227,231} A pesar de que el ojo humano solo percibe entre 25 a 30 tonos de gris, computacionalmente se pueden utilizar "ventanas" que muestran solo una parte, extraída de la información digital no visible al ojo humano y que puede tener interés diagnóstico.

7.2 TOMOGRAFIA AXIAL COMPUTARIZADA

Entre las distintas técnicas de diagnóstico mediante imagen empleadas en odontología, la TC es el único método que permite valorar adecuadamente el hueso y no provoca distorsiones geométricas^{226,230}. Sin embargo, y aunque hay autores²³³⁻²³⁵ que la señalan como el método ideal para la planificación preimplantológica e incluso en el resto de patologías cuando la ortopantomografía no sea concluyente, aún hay ciertas discrepancias respecto a su uso rutinario en la implantología dental por el efecto adverso que supone la radiación recibida por el paciente.

No hay que olvidar que la TC, al igual que la radiografía convencional, se basa en el empleo de una radiación ionizante, sin embargo, no utiliza película para la adquisición de las imágenes. Una vez se toma la decisión de solicitar una TC, el paciente debe ser informado, teniendo en consideración sus actividades diarias y el consiguiente riesgo de radiación; todos estamos expuestos de forma constante a radiación ambiental, entre las que se incluyen las fuentes artificiales que se estiman constituyen un 15% del total de esa radiación. Sin embargo, con los adecuados ajustes técnicos (fundamentalmente reduciendo la corriente del tubo emisor) es posible reducir la radiación recibida en un 76% sin merma de la calidad. La imagen obtenida tan solo tendría un mayor granulado de las partes blandas pero la afectación tejido óseo sería mínima²³⁶. Otra forma de reducir la dosis de radiación recibida por el paciente sería limitar el área a explorar. Una manera de conseguirlo es excluir las coronas de los dientes. Además de ser la zona clínicamente más accesible, la calidad de la exploración se beneficiaría de la eliminación de los artefactos que provocan los numerosos elementos metálicos que pueden aparecer en esta zona (obturaciones y prótesis fijas metálicas).

Por último, una posible explicación a la reticencia de ciertos autores a su uso sería la limitación de su utilidad según la experiencia del médico solicitante, tal como se deduce de la recomendación de la Academia Americana de Radiología Oral y Maxilofacial. Este organismo señala que *la obtención e imágenes y la interpretación de las mismas no sea realizada sin el adecuado entrenamiento y que antes de la reparación o implante, el clínico busque el citado entrenamiento u obtenga la necesaria información radiográfica del radiólogo* ²³⁷.

Tal vez, el mejor aval de la fiabilidad diagnóstica de la TC le venga del ámbito legal, al considerarla como la prueba más adecuada para la valoración y el seguimiento implantológico puesto que es el método de imagen que con mayor precisión muestra la anatomía dental y la calidad del hueso subyacente²³⁸.

De acuerdo a Klinge, se obtiene mayor precisión en la evaluación de las dimensiones verticales a través de la tomografía computarizada ²³⁹. No obstante, la técnica de la TC por medio de las reconstrucciones axiales presenta el más bajo índice de visualización del canal mandibular cuando se le con las demás técnicas radiográficas ²⁴⁰.

7.2.1 principios básicos

El fundamento básico de la tecnología de TC es que utiliza rayos X, Sin embargo, hay dos diferencias fundamentales con la radiografía:

- (a) la imagen latente no es captada por una película impregnada con sales de plata, la película radiográfica, sino por unos sensores

conectados a un ordenador (similares a los empleados actualmente en la radiografía digital).

(b) el tubo emisor de la radiación no permanece estático como en la radiografía (lo que produce una imagen plana «instantánea», como si fuera una fotografía) sino que se mueve alrededor del área de interés. Estas dos circunstancias determinan las características fundamentales de la imagen de la TC:

- Es una imagen tridimensional. El área explorada se convierte en un volumen constituido por una matriz de volúmenes más pequeños denominados vóxeles -volume elements ²⁴¹- (Por analogía, la imagen radiográfica digital es una imagen plana que está constituida por unas unidades mínimas de superficie denominadas píxeles).

- Mayor sensibilidad y poder de discriminación de la atenuación sufrida por el rayo X. Frente al rango tradicional con que se describen las diferentes densidades en la radiografía tradicional -aire, grasa, hueso, metal-, el procesado mediante ordenador permite discriminar muchos más grados de atenuación.

Estos valores de atenuación son medidos en una escala denominada de unidades Hounsfield (UH) que, dependiendo del equipo de TC, se sitúan entre -1000 UH de la densidad aire a +1000 UH de la densidad hueso cortical.

El gradiente completo de valores de atenuación se representaría por una escala de grises donde la densidad aire tendría un color negro absoluto

mientras la densidad hueso cortical estaría representada por el blanco absoluto.

Para obtener imágenes de alta resolución con un detalle óptimo es necesario un paso de mesa de 1 mm y en el caso de la planificación preimplantológica se requiere que la rotación del tubo de rayos X sea de al menos un segundo ²⁴⁰.

Una vez se ha concluido el barrido de la zona de interés, la computadora guarda la información de todo el volumen explorado, gracias a ese proceso de reconstrucción se pueden producir imágenes en una orientación distinta a la que se obtuvieron originariamente.

8

LÁSER

La importancia de la luz como una aplicación terapéutica es histórica, ya que la luz y su influencia sobre los procesos biológicos han sido conocidas desde tiempos antiguos. El culto al sol de los antiguos egipcios para tomar el sol como terapia y las prácticas de los antiguos griegos son la prueba histórica de la terapia con energía de luz solar.

La luz y la energía luminosa se consideran que son esenciales para el desarrollo de la vida y el sustento de todos los seres vivos en el planeta, además es indispensable en las plantas para realizar la fotosíntesis, impulsar la actividad del clima y de los océanos.

La primera aplicación médica de la radiación de luz fue el descubrimiento que la radiación Ultravioleta (UV) que podía curar el raquitismo y el acné vulgar, pero con el descubrimiento de que la radiación UV es carcinogénica, este tipo de radiación se excluyó en los años 60s. Las lámparas infrarrojas también fueron utilizadas durante décadas para relajar espasmos, contracturas musculares y crea vasodilatación en el sistema circulatorio ²⁴⁵.

La palabra Láser es el acrónimo, en inglés, de la definición Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Luz Amplificada por Emisión Estimulada de radiación) en resumen se conoce como una luz intensa y potente que aporta gran cantidad de energía. La radiación se propaga en la misma dirección que la radiación estimulante produciendo

una energía lumínica de gran pureza. Esta luz es emitida por los átomos cuando éstos mantienen sus electrones sometidos a un estado de agitación considerable, produciendo la caída de un electrón a un estado inferior de energía y por lo tanto la liberación de un fotón; estos a su vez, chocan con otros átomos y provocan la liberación de más fotones generando emisiones de radiación luminosa.

PROPIEDADES DE LA LUZ LÁSER

1. Monocromática (con la misma longitud de onda)
2. Coherente (todas las ondas están en fase superpuestas sin interferencia)
3. Direccionalidad (concentración en una sola dirección con escasa divergencia)
4. Luminosidad (potencia emitida por unidad de superficie y ángulo sólido)^{245,246,247}.

8.1 TIPOS DE LÁSER

8.1.1. Láser de alta potencia:

El efecto térmico de la radiación láser de elevada potencia, del orden de vatios, es el conocido Láser Quirúrgico, cuya ventaja principal sobre otras técnicas convencionales consiste en un mayor grado de asepsia y hemostasia, así como la tendencia a la curación y cicatrización de las heridas en forma más rápida reduciendo los riesgos de trombosis. Los principales tipos de Láser empleados son el Láser de rubí, de Dióxido de Carbono y el de Neodimio de Galio.

8.1.2 Láser de baja potencia

Estos trabajan a potencias inferiores que los anteriores, miliwatios, no elevan la temperatura tisular.

La Láser Terapia de Baja Potencia presenta efectos sobre los tejidos dependiendo de la absorción de su energía y de la transformación de ésta en determinados procesos biológicos. Entre los factores que regulan la cantidad de absorción están la longitud de onda de la radiación y por otro lado las características ópticas del tejido considerado.

El que depende directamente de la cantidad de energía depositada y del tiempo en que esta se ha aplicado.

Para describir el efecto biológico de la radiación de Láser, es habitual seguir un esquema según el cual la energía depositada en los tejidos provoca una acción directa o primaria, con efectos locales de tipo fotobiotérmico o bioenergético, fotobioquímico y fotoelectrónico o bioeléctrico. Estos efectos locales a su vez provocan otros, los que constituyen una acción indirecta como estímulo de la microcirculación y aumento del trofismo, que repercutirá en una Acción Regional o Sistémica (Mester y col., 1985; Gay y Berini, 1999) ^{246,247}

8.2 CLASIFICACIÓN DE LASER

El American National Standards Institute (ANSI) clasifica a los láseres en cuenta a su nivel de potencia y su potencial de peligro biológico. Hay cuatro principales clasificaciones de láser de potencia (clase I a IV), con una sub-clasificación de la clase III en las clases de láser IIIa y IIIb.

LÁSER DE CLASE I

Este tipo de laser no tiene riesgos biológicos y son los que se encuentran comúnmente en muchos dispositivos, como escáneres ópticos o dispositivos ópticos de transmisión de datos y muchos otros dispositivos láser de baja potencia.

LÁSER DE CLASE II (<1 MW)

También se consideran no dañinos, es decir que no tiene riesgos biológicos con el uso o exposición breve. Los laser Clase II se utilizan ampliamente para la industria y la tecnología.

LÁSER DE CLASE III (1 - 5 MW).

Tiene controles limitados, como un interruptor de encendido / apagado. También se debe de usar con precaución y se debe de evitar el contacto directo con los ojos.

LÁSER DE CLASE IV

Son los láseres de alta potencia superior a 500 milivatios, son capaces de producir riesgos significativos en ojo con la radiación directa. Es posible que con los láseres de alta potencia se produzcan lesiones térmicas, si el tiempo de exposición excede el tiempo de recuperación térmica de los tejidos tratados. Por lo tanto, es necesaria una formación adecuada, así como gafas de seguridad y personal apropiado.

Medidas adicionales de seguridad para la clase IV, operar en una habitación cerrada con acceso controlado y cerraduras para evitar la manipulación o el uso no autorizado del láser. Gafas de seguridad adecuadas y amplio material de información que cuentan en compra de

dispositivos láser. Gafas de protección para el paciente y otras gafas de seguridad para el aplicador especializado²⁴⁵.

La terapia láser se define como la aplicación de ondas electromagnéticas con ciertas propiedades físicas, correspondientes a una corriente de fotones que interactúan con las estructuras biológicas, siendo la acción del láser infrarrojo de baja potencia de tipo fotoquímica y no térmica, que estimula las funciones celulares normales, manifestando su efecto a través de cambios en la permeabilidad de la membrana celular, aumento de los niveles de ATP y en la producción de DNA. Desde el punto de vista clínico, estos cambios biológicos se manifiestan en una disminución del dolor, en aumento de la reparación tisular y en una disminución de la inflamación. (Kottke y Lehmann, 1993.) ²⁴⁷.

8.3 DOSIMETRÍA

Para un manejo terapéutico racional es necesario un diagnóstico correcto, determinación de la topografía lesional y el momento evolutivo del proceso subyacente. La dosimetría requiere conocer ciertos parámetros biofísicos y fórmulas que relacionan la densidad energética (J/cm²), potencia del equipo (mW), la superficie (cm²) y el tiempo de aplicación (seg).

Tabla 3. Dosimetrías en función del efecto terapéutico.

EFFECTO	Joules por unidad de superficie (cm²)
Antiálgico	De 2 a 4
Antiinflamatorio	De 1 a 3
Regenerativo	De 3 a 6
Circulatorio	De 1 a 3

Escala de niveles de Joules para obtener respuestas terapéuticas diferentes.

8.4 EFECTOS BIOLÓGICOS DE LASERTERAPIA SOBRE LAS CÉLULAS

La investigación ha documentado que el láser favorece la remodelación de tejidos, la recuperación neurológica y la mejora de la función, la mejora de la calidad de vida en los estados de dolor crónico, la mejora de la flexibilidad, la rápida cicatrización de las heridas y la rápida consolidación en las fracturas óseas ²⁴⁵.

La principal acción biológica de los resultados de la estimulación del láser es una reacción en cadena de electrones, de mecanismos de transporte dentro de la mitocondria, las membranas celulares y de tejidos epiteliales. Esta acción provoca la liberación de productos químicos vasodilatadores, la estimulación de la síntesis de ADN y ARN, un aumento de la producción de enzimas, un aumento de la actividad superóxido dismutasa, la normalización del pH de los tejidos, y el aumento de la producción de ATP. El aumento de la vasodilatación y la mejora de la microcirculación que se manifiesta por la promoción de la nutrición celular, la reparación de tejidos y la remodelación tisular. En la actualidad hay muchos estudios en torno a la utilización de láser para fotobiomodulación y la supresión del dolor. La aplicación terapéutica del láser se está expandiendo y los nuevos usos se han descubierto todos los días. El láser Clase IV es el más accesible en el mercado, con muchas características que acorta tiempos de tratamiento y tiene más facilidad de uso²⁴⁵.

EFFECTOS PRIMARIOS O DIRECTOS

A) EFECTO FOTOTÉRMICO:

Los láser de baja potencia no causan un aumento significativo de la temperatura del tejido irradiado, sin embargo existen teorías que señalan la posibilidad que los bajos niveles de energía constituyen una forma de energía utilizable por la célula para la normalización de las funciones alteradas, tratándose de un efecto fotoenergético ^{246,249}.

B) EFECTO FOTOQUÍMICO:

Localmente se provoca la liberación de sustancias autacoides (Histamina, Serotonina y Bradicidina), así como el aumento de la producción de ATP intracelular y el estímulo de la síntesis de ADN, síntesis proteica y enzimática^{246,249}.

C) EFECTO FOTOELÉCTRICO:

Se produce la normalización del potencial de membrana en las células irradiadas por medio de dos mecanismos: actuando de forma directa sobre la movilidad iónica y, de manera indirecta, al incrementar el ATP producido por la célula, el cual es necesario para funcionar la bomba sodio-potasio^{246,249}.

EFFECTO SECUNDARIO O INDIRECTOS

A) ESTÍMULO DE LA MICROCIRCULACIÓN:

Debido al efecto fotoquímico tiene una acción directa sobre el esfínter precapilar. Las sustancias vasoactivas provocan una vasodilatación capilar y arteriolar, con dos consecuencias:

a) Aumento de nutrientes y oxígeno, que, junto a la eliminación de catabolitos, contribuyen a mejorar el trofismo de la zona.

b) Incremento de los elementos defensivos, tanto humorales como celulares^{246,249}.

B) AUMENTO DEL TROFISMO Y LA REPARACIÓN:

El aumento en la microcirculación favorece la producción de los procesos de reparación que contribuye a la regeneración y cicatrización de pérdidas de sustancia. Por otra parte los fenómenos celulares como el aumento de la producción de ATP celular, la síntesis proteica y la modulación enzimática, junto con la activación de la multiplicación celular, favorecen la velocidad y calidad de los fenómenos reparativos.^{246,249}.

8.5 FORMAS DE APLICACIÓN

- 1.- Puntual
- 2.- Pincelado.
- 3.- Baño.
- 4.- Barrido.²⁴⁹

Al contrario de otras electroterapias, puede ser aplicada sobre implantes de prótesis de plástico o metal, marca-pasos o zonas infectadas. Los efectos del láser son fotoquímicos (no termales) y realiza su función de estimulación en puntos precisos del sistema parasimpático humano.

Se trata de una terapia segura de usar, indolora y que no precisa administración de fármacos. Su acción se ejerce tanto sobre los tejidos blandos (tendones, ligamentos, músculos) como sobre los tejidos duros (huesos). Gracias a su facilidad de aplicación, puede ser utilizada en pacientes de edad y niños sin que suponga ningún tipo de molestia.

Numerosos autores han estudiado los efectos de la irradiación con láser de baja energía tras la colocación de implantes osteointegrados, aprovechando su carácter bioestimulante, para disminuir la inflamación, controlar el dolor postoperatorio y para favorecer la rápida cicatrización. En experimentación animal se han estudiado otras variables, como la cantidad y la calidad ósea alrededor del implante, entre otros extremos. De este modo, en el estudio de Dortbudak y cols²⁵⁰, tras irradiar con el láser de baja potencia las zonas periimplantarias de la cresta ilíaca en monos, inmediata mente después de la colocación de implantes, se observó un mayor número de osteocitos viables por unidad de área respecto a las zonas no irradiadas o zonas control. Estos resultados se ven reforzados por el estudio de Guzzardella y cols²⁵¹ en el que se irradiaron las zonas periimplantarias en el fémur de conejos, observando mayor viabilidad ósea en la interfase entre el hueso y los implantes. Sin embargo, es necesario la realización de otros estudios clínicos que apoyen estas conclusiones.

De igual forma Kreisler y cols²⁵² han publicado un estudio con este tipo de láser a fin de determinar su actividad antimicrobiana sobre las superficies de los implantes. Para ello hicieron cultivos de *S. sanguinis* sobre discos de titanio con diferentes tratamientos de superficie y midieron el crecimiento bacteriano tras irradiar con el láser de Ga,Al,As. Los resultados que se obtuvieron en este estudio determinaron una disminución del crecimiento bacteriano más o menos acusada en función del tipo de superficie. No

obstante, la descontaminación es menor que la obtenida tras la inmersión de los implantes en clorhexidina durante un minuto. Por este motivo, estos autores concluyeron que la desinfección de las superficies implantarías mediante el uso de los láseres de baja energía es inferior a la obtenida mediante la descontaminación convencional in vitro.

Para la mineralización del hueso y el cartílago es importante la actividad de la enzima fosfatasa alcalina. Se ha demostrado que en fracturas de fémur irradiadas con láser de baja potencia, la expresión de fosfatasa alcalina se incrementa comparada con un grupo control no irradiado.²⁵³

En estudios experimentales de fractura de tibia en ratones, y evaluados por radiografía, se encontró aumento de la densidad óptica del hueso en la zona de la fractura, cuando se irradió con láser de baja potencia. Este hallazgo refleja la aceleración en la mineralización del callo óseo cuando se utiliza radiación láser. ²⁵⁴⁻²⁵⁵

Se plantea que este efecto bioestimulativo para la mineralización puede estar dado por la fotobioactivación y secundariamente por la fotoacústica generada por la onda ultrasónica de los láser de pulso. ^{254,256,257}

Silva Júnior et al. (2002) demostraron en ratones que la aplicación diaria de LBP (Láser baja potencia) por más de siete días acelera la neoformación trabecular y a los cinco días se observa una mayor aposición de minerales. Barushka *et al.* (1995) y Dickson et al. (1994) indicaron que el LBP aumenta la actividad y el número de osteoblastos y osteoclastos, así como un incremento de la actividad de fosfatasa alcalina, mientras Lirani & Lazaretti-Castro (2005) indicaron que el LBP aumenta la expresión de la osteocalcina, proteína que participa en la migración, proliferación y diferenciación de células osteoblásticas.

Similares resultados fueron reportados por Stein *et al.* (2005) y Martinasso *et al.* (2007), quienes indicaron que en el hueso sometido a LBP existe un aumento en la expresión de marcadores osteogénicos como la fosfatasa alcalina, la osteopontina y la sialoproteína ósea. Análisis histométricos en ratones revelaron una concentración de hueso neoformado más rápida en ratas sometidas a LBP (Pourzarandian *et al.*, 2004; Merli *et al.*; Lirani & Lazaretti-Castro), con resultados significativos a partir del segundo día de LBP (Osawa *et al.*, 1998).

8.6 CONTRAINDICACIONES

Mier²⁷⁶ y Basford²⁷⁷ enumeran una lista de contraindicaciones absolutas y relativas para el uso de la tecnología láser en Odontología que se detalla a continuación:

1. Absolutas:

- Irradiación directa e indirecta sobre el globo ocular.
- Irradiación de la glándula tiroides.
- Pacientes con neoplasias.
- Pacientes epilépticos.
- Pacientes con mastopatía fibroquística.
- Irradiación prolongada en niños en edad de crecimiento.
- Pacientes que llevan marcapasos.
- Pacientes con infarto de miocardio reciente.

2. Relativas:

- Distiroidismo.
- Embarazo.
- Infecciones bacterianas sin previa cobertura antibiótica.

- Combinación con fármacos que producen fotosensibilidad.
- Pielles fotosensibles.
- Dolor de origen orgánico o visceral.

Algunas de las contraindicaciones citadas anteriormente están basadas en relación al efecto bioestimulante que posee este láser y a las hipotéticas consecuencias que habría que esperar sobre las células germinativas tanto benignas como malignas.

Numerosos autores han estudiado los efectos de la irradiación con láser de baja energía tras la colocación de implantes osteointegrados, aprovechando su carácter bioestimulante, para disminuir la inflamación, controlar el dolor postoperatorio y para favorecer la rápida cicatrización. En experimentación animal se han estudiado otras variables, como la cantidad y la calidad ósea alrededor del implante, entre otros extremos.

De este modo, en el estudio de Dortbudak y cols²⁴⁹, tras irradiar con el láser de baja potencia las zonas periimplantarias de la cresta ilíaca en monos, inmediata mente después de la colocación de implantes, se observó un mayor número de osteocitos viables por unidad de área respecto a las zonas no irradiadas o zonas control. Estos resultados se ven reforzados por el estudio de Guzzardella y cols²⁵⁰ en el que se irradiaron las zonas periimplantarias en el fémur de conejos, observando mayor viabilidad ósea en la interfase entre el hueso y los implantes. Sin embargo, es necesario la realización de otros estudios clínicos que apoyen estas conclusiones.

De igual forma Kreisler y cols²⁵¹ han publicado un estudio con este tipo de láser a fin de determinar su actividad antimicrobiana sobre las superficies de los implantes. Para ello hicieron cultivos de *S. sanguinis* sobre discos de

titanio con diferentes tratamientos de superficie y midieron el crecimiento bacteriano tras irradiar con el láser de Ga,Al,As. Los resultados que se obtuvieron en este estudio determinaron una disminución del crecimiento bacteriano más o menos acusada en función del tipo de superficie. No obstante, la descontaminación es menor que la obtenida tras la inmersión de los implantes en clorhexidina durante un minuto. Por este motivo, estos autores concluyeron que la desinfección de las superficies implantarias mediante el uso de los láseres de baja energía es inferior a la obtenida mediante la descontaminación convencional in vitro.

Para la mineralización del hueso y el cartílago es importante la actividad de la enzima fosfatasa alcalina. Se ha demostrado que en fracturas de fémur irradiadas con láser de baja potencia, la expresión de fosfatasa alcalina se incrementa comparada con un grupo control no irradiado. ²⁵²

En estudios experimentales de fractura de tibia en ratones, y evaluados por radiografía, se encontró aumento de la densidad óptica del hueso en la zona de la fractura, cuando se irradió con láser de baja potencia. Este hallazgo refleja la aceleración en la mineralización del callo óseo cuando se utiliza radiación láser. ²⁵³⁻²⁵⁴

Se plantea que este efecto bioestimulativo para la mineralización puede estar dado por la fotobioactivación y secundariamente por la fotoacústica generada por la onda ultrasónica de los láser de pulso. ^{253, 256, 257}

Silva Júnior et al. (2002) demostraron en ratones que la aplicación diaria de LBP (Láser baja potencia) por más de siete días acelera la neoformación trabecular y a los cinco días se observa una mayor aposición de minerales. Barushka et al. (1995) y Dickson et al. (1994) indicaron que el LBP aumenta la actividad y el número de osteoblastos y osteoclastos, así como un incremento de la actividad de fosfatasa alcalina, mientras Lirani &

Lazaretti-Castro (2005) indicaron que el LBP aumenta la expresión de la osteocalcina, proteína que participa en la migración, proliferación y diferenciación de células osteoblásticas.

Similares resultados fueron reportados por Stein *et al.* (2005) y Martinasso *et al.* (2007), quienes indicaron que en el hueso sometido a LBP existe un aumento en la expresión de marcadores osteogénicos como la fosfatasa alcalina, la osteopontina y la sialoproteína ósea. Análisis histométricos en ratones revelaron una concentración de hueso neoformado más rápida en ratas sometidas a LBP (Pourzarandian *et al.*, 2004; Merli *et al.*; Lirani & Lazaretti-Castro), con resultados significativos a partir del segundo día de LBP (Osawa *et al.*, 1998).

9

OZONO

El ozono es una variedad triatómica del oxígeno, de fórmula O₃. Su estado natural es gaseoso, de olor agradable y ligeramente azulado. Se encuentra de forma natural constituyendo una capa en la zona externa de la atmósfera.

La capa de ozono se formó hace unos 2.000 millones de años, por reacción del oxígeno atmosférico con radiación UV de onda corta y por la acción de fuertes descargas eléctricas. El descubrimiento del ozono tiene como punto de partida la del oxígeno y la composición del aire. Su existencia fue detectada por primera vez en 1787 al observar el físico holandés Martín Van Marum su olor típico en el aire cuando se producían descargas eléctricas, sin embargo, su descubrimiento definitivo fue realizado por Christian Schonbein en 1840.^{278,279}

El ozono es un fuerte oxidante, tanto en estado gaseoso como en soluciones acuosas. Este gran poder oxidante es debido a su inestabilidad a temperatura ambiente, en estas condiciones, el ozono tiende a descomponerse originando oxígeno molecular y atómico, lo cual explica sus propiedades oxidantes mucho más elevadas que las del oxígeno.

Dicha potencia oxidativa, junto con su mínima toxicidad, lo convierte en una terapia extremadamente útil debido a sus numerosas aplicaciones.

La ozonoterapia es la aplicación del ozono al organismo humano, con técnicas especiales y con fines terapéuticos. Para su aplicación en medicina (ozonoterapia) se produce a partir de oxígeno medicinal, mediante generadores especialmente diseñados.²⁸⁰ Sus inicios datan de la I Guerra Mundial, para desinfección de heridas. En los últimos 20 años han venido descubriéndose otras importantes propiedades terapéuticas y aplicaciones.

El ozono es reconocido por la comunidad científica internacional como uno de los gases más poderosos oxidantes de la naturaleza.

El ozono médico ha sido empleado con efectividad en múltiples dolencias humanas. Dado que las bacterias anaerobias, protozoos y hongos malviven en una atmósfera rica en oxígeno, todas las enfermedades causadas por estos agentes son potencialmente tratables con ozono.²⁸¹⁻²⁸³ La FDA (Food and Drug Administration) ha establecido un nivel máximo tolerable de 0.05 ppm de ozono, emitido por cualquier aparato fabricado para uso médico.²⁸⁴

9.1 Mecanismos de acción

En ozonoterapia se aplica una mezcla de ozono – oxígeno en proporciones variables que van desde como máximo 5 partes de ozono puro y 95 partes de oxígeno hasta como mínimo 0.05 partes de ozono en 99.95 partes de oxígeno.

El ozono es altamente inestable y reactivo, extraordinariamente selectivo por los dobles enlaces de carbono, presentes fundamentalmente en todos los ácidos grasos insaturados que a su vez forma parte estructural de los fosfolípidos en todas las membranas celulares.

La administración de ozono – oxígeno interviene directamente en los procesos metabólicos. Su penetración a través de la membrana del eritrocito es mediante la pared fosfolipídica, añadiéndose a las cadenas dobles de ácidos grasos.

Esto conduce a la formación de peroxidasa que tiene un importante papel en el metabolismo mediante los sistemas redox, NADH/NAD. La reacción de las peroxidasa con el glutatión incrementa la producción de 2.3 DPG(difosfoglicérido) e hidrogeniones facilitando la liberación de oxígeno a partir de la oxihemoglobina principalmente en territorios isquémicos.

El ozono también interviene en los procesos energéticos de la cadena respiratoria mitocondrial, ciclo de Krebs y de las pentosas.

La acción bactericida, fungicida y viricida aseguran la capacidad aseptizante del ozono. Esta capacidad aseptizante se atribuye a su alta reacción de oxidación. Su poder germicida es tal que solo unos pocos microgramos por litros son suficientes para mostrar dicho efecto.

Entre los beneficios de la aplicación del ozono se describen efectos biológicos que logran elevar la calidad de vida del paciente.

- a. Mejora el metabolismo del oxígeno.
- b. Mejora el metabolismo de los glóbulos rojos.
- c. Mejora el flujo sanguíneo a todos los tejidos del cuerpo humano.
- d. Regula el sistema inmunológico.
- e. Es un potente germicida.
- f. Es un activador de la defensa antioxidante endógena, combatiendo de esta forma el stress oxidativo; mediante la liberación de radicales libres.

- g. Disminuye los procesos antiinflamatorios.
- h. Regenerador tisular.

Se describe que el ozono estimula la capacidad orgánica de trasladar el oxígeno vital a los tejidos corporales a través de los hematíes, llegando de esta forma a todo el organismo y siendo a su vez muy efectivo, simple y de amplio espectro.

Su poder oxidante logra una interacción con los compuestos insaturados orgánicos, llamándose a este proceso Ozonólisis y mediante esta reacción se produce una desintoxicación orgánica de una gran cantidad de sustancias donde gran parte de las mismas pueden ser carcinógenas.

9.2 PROPIEDADES DEL OZONO

Oxigenante

Aumenta la capacidad de la sangre para absorber y transportar mayor cantidad de oxígeno a todo el organismo, mejorando la circulación y las funciones celulares en general. También estimula las enzimas que participan en su metabolización, así como la glucólisis (aprovechamiento de los azúcares), que es la fuente fundamental de energía para todas las células, con lo cual mejoran sus funciones generales.²⁸⁰

El incremento del suministro de oxígeno a los tejidos está dado porque los metabolitos del ozono, producidos por la interacción con las membranas celulares, son capaces de penetrarlas y allí estimular varios procesos bioquímicos básicos como es incrementar la producción de 2,3 difosfoglicerato (2,3-DPG), que facilita la liberación de oxígeno a partir de la oxihemoglobina, a nivel de tejidos y disminuye el ácido úrico (UA), lo

cual conlleva a la disminución del nivel de oxidantes circulantes. Todo ello posibilita una notable mejoría del estado de las células.

El efecto de la mayor transferencia de oxígeno a los tejidos, durante el paso de los glóbulos rojos a través de los microvasos capilares, puede ser comprobado por la evidente disminución de la presión parcial de oxígeno de la sangre venosa (PO_2 venosa). El incremento en 2,3 DPG facilita la cesión de oxígeno atrapado en la oxihemoglobina en los glóbulos rojos. Así cuando estos pasan a través de los microvasos capilares de los tejidos, de la sección arterial a la venosa, ellos son capaces de transferir más oxígeno al tejido circundante. Esto puede ser comprobado por la disminución de la PO_2 venosa, la cual está mejor agotada del oxígeno transportado, incrementando así su eficiencia.²⁸⁵

Revitalizante

Posiblemente, relacionado con el efecto anterior, ha demostrado capacidades para promover la recuperación funcional de numerosos pacientes afectados por enfermedades degenerativas.²⁸⁰

La influencia de los metabolitos especiales del ozono (ozonoterapia) en algunos procesos enzimáticos básicos, también conlleva la estimulación de la glicólisis, la cual es la fuente de energía en forma de adenosín trifosfato (ATP) más importante para las células aerobias. En este caso, tal estimulación se alcanza a través de una especie de reacciones en cadena, esto es: la activación de la oxidación de la glucosa-6-fosfato por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

De hecho, la mayor disponibilidad de ATP permite a las células restaurar o mejorar funciones básicas ya perdidas o deprimidas. Como se sabe, la actividad fagocítica de ciertas células especializadas consiste en su

capacidad para atrapar e inactivar microorganismos externos invasores y sustancias extrañas, para evitar el daño que estos podrían causar en las células normales. Esta es una parte muy importante de las defensas del organismo contra enfermedades y deterioro general.

Antioxidante (eliminador de radicales libres)

Es el único medio, hasta el presente conocido, que es capaz de estimular todas las enzimas celulares antioxidantes que se encargan de eliminar los radicales libres y otros oxidantes peligrosos del organismo (glutatión peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa y otras que garantizan el funcionamiento de los anteriores). Es este el medio más natural y eficaz de lograrlo, puesto que las enzimas son mucho más eficientes que ninguna otra vitamina o sustancia para este fin. Por ello, retarda también los procesos de envejecimiento celular.

La estimulación de las defensas enzimáticas (antirradicales, antidegenerativas, antienvjecimiento) del ozono está dada por la capacidad de los metabolitos del ozono para estimular las enzimas relacionadas con los procesos de oxidación-reducción, lo cual es muy importante para aumentar la capacidad protectora de las células contra oxidantes agresivos y radicales libres. Los metabolitos del ozono interaccionan con los principales procesos enzimáticos concatenados del sistema defensivo celular y lo estimulan significativamente. El último eslabón en la cadena defensiva contra los oxidantes es el sistema Redox del glutatión, el cual se activa por los metabolitos del ozono.

Al inicio del tratamiento de ozonoterapia, los lipoperóxidos sanguíneos (LPO) se incrementan ligeramente hasta el quinto día, a partir del cual, debido a la activación de la glutatión peroxidasa (GPx), la cual los inactiva, dejan de aumentar y comienzan a disminuir de nuevo. La

glutación reductasa (GRd) se estimula también, tal como se necesita para reponer el pool de glutación reducido, necesario para la actividad aumentada de la GPx, mientras que el glutación reducido se mantiene prácticamente constante, corroborando el equilibrio alcanzado.

Otras enzimas del sistema defensivo básico como superóxido dismutasa, catalasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, entre otros, son también consecuentemente estimuladas. Ellas son responsables de la metabolización (inactivación) de aniones superóxido, peróxido de hidrógeno y peróxidos lipídicos, así como para la reposición de equivalentes reducidos y otros. De este modo, la capacidad general de las células para defenderse de radicales y oxidantes resulta significativamente incrementada, y también su capacidad para luchar contra procesos de envejecimiento y algunas enfermedades.²⁸⁵

Inmunomodulador

En dependencia de las dosis y formas de aplicación, es capaz de estimular las defensas inmunológicas, tanto celulares como humorales, en pacientes con inmunodepresión o de modular las reacciones inmunológicas exacerbadas que producen las llamadas enfermedades autoinmunes.²⁸⁰

La activación del sistema inmunológico, según diversos estudios realizados in vitro e in vivo, han demostrado la capacidad de los metabolitos del ozono y la ozonoterapia para mejorar las funciones de los sistemas inmunológicos, tanto celular, como humoral. Ha sido evidenciado el efecto del incremento en la proliferación y actividad de linfocitos y macrófagos, así como los aumentos en interleuquinas, citoquinas e inmunoglobulinas bajo el efecto de los metabolitos del ozono.²⁸⁵

Regeneradora

Es capaz de promover la regeneración de diferentes tipos de tejido, por lo cual resulta de gran utilidad en la cicatrización de lesiones de difícil curación, en ulceraciones de diverso tipo, en los tejidos articulares, en medicina estética, entre otras.²⁸⁰

La capacidad de la ozonoterapia y los metabolitos especiales del ozono para estimular los procesos reparativos de los tejidos ha podido demostrarse, por ejemplo, en estudios controlados con heridas experimentales. Además de su efecto antiinflamatorio y desinfectante, son capaces de promover la formación de neovasos y fibroblastos en lesiones dérmicas, lo cual garantiza y acelera la curación.

Estimulación de la circulación de la sangre

Las membranas celulares están constituidas, entre otras, también por estructuras lipídicas. Las interacciones de derivados del ozono (ozonoterapia) con las membranas celulares, rompen las excesivas fuerzas de atracción y enlaces, mejorando de este modo, su relajación, flexibilidad, permeabilidad, y deformabilidad.

En la sangre, esto también mejora la flexibilidad, deformabilidad y permeabilidad de los glóbulos rojos, así como su agregación en los llamados agregados en "pilas de monedas". De este modo, se logra mejor circulación a través de los más finos vasos sanguíneos (microcapilares), y mejor capacidad para absorber oxígeno en los pulmones y liberarlo a nivel tisular para otras células del cuerpo circundantes.

Después de la ozonoterapia, la sangre mejora su capacidad para circular a través de los microcapilares más estrechos y la microcirculación.

Además, los eritrocitos desagregados y suavizados son más capaces de absorber y transferir oxígeno, entre otros factores, por la mayor superficie de contacto libre y deformación. ²⁸⁵

Antiálgico y antiinflamatorio

En aplicación local, presenta estos efectos, por neutralizar mediadores neuroquímicos de la sensación dolorosa y facilitar la metabolización y eliminación de mediadores inflamatorios como histaminas, quininas, entre otros

Germicida

Inactiva o elimina todo tipo de microorganismos patógenos, tales como bacterias, hongos y virus.²⁸⁰ La actividad germicida general (antimicótica, antibacteriana, antiviral) es una de las propiedades más típicas y notables de la ozonoterapia y los metabolitos especiales del ozono. Se han realizado muchos ensayos clínicos, *in vitro* e *in vivo* durante varios años, en los cuales se ha demostrado su efecto germicida en general. A continuación se muestra un resumen de los microorganismos considerados como sensibles, según los resultados más importantes de ensayos clínicos e *in vitro* ²⁸⁷

Tabla 4. Ensayos clínicos (microorganismos considerados como sensibles)

Ensayos clínicos	
Gingivostomatitis	Hongos
- <i>Herpes simplex</i>	- <i>Candida albicans</i>
- <i>Staphylococcus aureus</i>	- Células levaduriformes
- <i>Streptococcus hemoliticus</i>	Bacterias
- <i>Candida albicans</i>	- <i>E. Coli</i>
- <i>Fuso spirilus</i>	- <i>Staphylococcus aureus</i>
Asociaciones	
- <i>Candida albicans</i> + <i>E. coli</i>	
- <i>Candida albicans</i> + <i>Klebsiella</i>	
- <i>Candida albicans</i> + <i>Proteus</i>	

Tabla 4.1 Ensayo *in vitro* (microorganismos considerados como sensibles)

Ensayos <i>in vitro</i>
Aislamientos clínicos
- <i>Helicobacter pylori</i>
- <i>Staphylococcus aureus</i>
- <i>Streptococcus pyogenes</i>
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
- <i>Escherichia coli</i>
Líneas (en orden de sensibilidad)
- <i>Staphylococcus aureus</i>
- <i>Escherichia coli</i>
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Concentraciones inhibitorias mínimas de bacterias Dentro de los límites: 0,3 - 4,8 mg/mL
- <i>Staphylococcus</i>
- <i>Streptococcus</i>
- <i>Pseudomonas</i>
- <i>Escherichia coli</i>
Concentraciones inhibitorias mínimas (hongos)
- <i>Microsporum canis</i> 0,31 mg/mL
- <i>Trichophyton mentagrophytes</i> 0,63 mg/mL
- <i>Trichophyton rubrum</i> 2,5 mg/mL

La ozonoterapia también conduce a una mejoría significativa general de muchos procesos fisiológicos del organismo, mejora la calidad de vida y capacidad de trabajo, sobre todo en casos donde se comienzan a notar estos efectos. Igualmente compensa y retarda el deterioro que se va produciendo en el organismo con el envejecimiento. Sus acciones son también duraderas.

El ozono cura porque equilibra el metabolismo en forma integral: por un lado, la circulación sanguínea mejora en los tejidos afectados y, por otro, el transporte de oxígeno, de manera que también lo hace el suministro de energía a las áreas inflamadas. De igual forma, el sistema inmunológico es influido o estimulado positivamente.

A lo anterior se añade su efecto de vacuna, por cuanto fragmentos de virus, parcialmente destruidos, pueden funcionar como estímulo en la producción de anticuerpos. Además, como el ozono induce a una mayor "agresividad" de los leucocitos, hace que los virus sean atacados más rápidamente y con mayor fuerza. También actúa como antitóxico, sin destruir los tejidos. Y, por último, como no puede ser inactivado por sistemas enzimáticos, actúa sobre cualquier tipo de agente agresor. También es utilizado como un potente inmunoestimulante, desactivador del dolor y antiinflamatorio. ²⁸⁵

La ozonoterapia no es una medicina alternativa, sino natural. Tampoco provoca consecuencias colaterales con otros tratamientos, pues no compite, sino complementa cualquier otra aplicación médica. Las sesiones terapéuticas son rápidas, eficaces y económicas, que varían en cantidad y duración, según la afección de que se trate. Las aplicaciones no tienen efectos adversos.

9.3 MODOS DE ADMINISTRACIÓN

- Existen diferentes formas de aplicación según la patología a tratar:
- Inyección Subcutánea
- Inyección Intrarticular
- Inyección intramuscular
- Inyección supraparietostica
- Inyección Intradiscal
- Insuflación Intrarectal
- Gran autohemo-transfusión
- Pequeña hemo-transfusión
- Aplicación de cremas y aceites ozonizados

9.4 DOSIMETRÍA

Para el cálculo del ozono total administrado basta con aplicar la siguiente relación: $DO = Q \times V$ donde²⁸⁶:

DO = Dosis total de ozono

Q = concentración de la mezcla

V = volumen de la mezcla

1 µg/ml Esta es la expresión más habitual en ozonoterapia.

Tabla 4.2 Dosimetrías en función del efecto terapéutico.

EFEECTO	CONCENTRACIÓN DE OZONO UG/CC
Antiálgico	2.5
Antiinflamatorio	5
Regenerativo, Circulatorio, Bactericida	7.5
Tx. de Soluciones	10

Escala de niveles de µg/ml para obtener respuestas terapéuticas diferentes.

9.5 CONTRAINDICACIONES

- En casos de intoxicación alcohólica aguda
- Infarto cardíaco
- Alergias al ozono
- Embarazo
- Alteraciones tiroideas graves
- Déficit de glucosa- 6-fosfato deshidrogenasa (favismo). ²⁸⁵
- Estas contraindicaciones son debido al pequeño aumento de la presión arterial.

VII.

HIPÓTESIS

Existe por lo menos un biomaterial implantológico del grupo estudiado que presenta comportamiento en el sistema biológico (oseointegración) mayor o igual que el Titanio V.

La terapia con láser de baja potencia mejora la cicatrización ósea periimplantaria en menor tiempo, que en condiciones normales.

La ozonoterapia mejora la cicatrización ósea periimplantaria en menor tiempo, que en condiciones normales.

Existe una correlación de datos entre el porcentaje de contacto hueso-implante, la valoración de densidad ósea, y la actividad de los marcadores bioquímicos de remodelación ósea.

VIII.

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

- Investigación experimental.

IX.

MATERIAL Y MÉTODO

Nosotros empleamos implantes simulados mediante filamentos de una medida patrón de distintos biomateriales (Ti, Zr, Au, NiTi, TiN) para comparar su oseointegración entre ellos en dos grupos in vivo sometidos alternativamente a terapias auxiliares de la reparación tisular periimplantaria (Laser y Ozono).

1. Animales de experimentación

La investigación en Implantología se ha fundamentado, en parte en la experimentación en modelos animales. Los estudios a escala ósea utilizan preferentemente especies de fácil manejo con semejanzas al comportamiento humano. Otro factor importante es el lugar elegido para la colocación de los implantes. La tibia de conejo se ha empleado y es uno de los adecuados, al tener dimensiones semejantes a las del hueso alveolar humano (*Dahlin y col., 1989*).

Se utilizaron dos conejos de raza New Zealand, Eran homogéneos somáticamente (igualdad de sexo, peso y edad) machos, adultos-jóvenes, de 3.5 kg. Para asegurar una respuesta biológica estandarizada, fiable y reproducible.

Los animales de experimentación eran procedentes del módulo de cunicultura perteneciente a la carrera de Medicina Veterinaria de la

Facultad Estudios Superiores Cuautitlán Campus 4 de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Previamente al inicio del trabajo de experimentación fueron sometidos a cuarentena, aislados, para descartar los que fueran portadores de alguna enfermedad procedente de la granja de cría.

El cuidado de los animales, su manipulación y la anestesia de los mismos fue desempeñado en bioterio de la Universidad de Cuautitlán Izcalli (UCI), los conejos permanecieron en el bioterio durante el tiempo que duró el estudio, en condiciones de aislamiento, en jaulas individuales y bajo control de las variables ambientales (temperatura, ventilación, humedad y luz).

En todo momento se cumplieron las normas de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Título séptimo. De la investigación que incluya la utilización de animales de experimentación. Capítulo único. Artículos 121-126

Para que la muestra fuera aleatoria se clasificaron los conejos como grupo A y grupo B, y se estableció para ambos grupos que la tibia derecha recibiría un grupo de cinco implantes (Au, Ti, TiN, NiTi, Zr) (figura. 25)

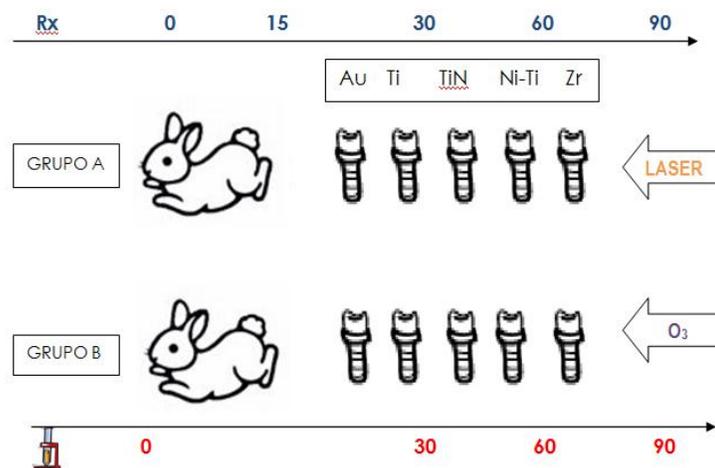


Figura 25. Esquema del método experimental

2. Biomateriales, Implantes y equipo de implantología

Se emplearon implantes simulados mediante espigas de una medida estándar de distintos biomateriales. Tabla 5.

Biomateriales			Obtención
Titanio grado V (Ti6Al4V)			Espiga de titanio RADIX ANKER®, Dentsply-Maillefer. E.U
Níquel-Titanio (NiTi)			Espaciador digital Sendoline®, W&H. Alemania
Nitruro de Titanio (TiN)			Freson de Nitruro de titanio®, Brasseler USA. E.U
Zirconia (ZrO ₂)			Zirkonzahn®, Alemania.
Oro (Au)			Peni de oro dental 58®, Casting. México

Tabla 5. Biomateriales empleados y su fuente de obtención

Los Implantes usados de Oro y Zirconio fueron diseñados basándonos en un modelo *pinpost* a fin de tener un mismo diseño macroscópico estándar para los distintos biomateriales a implantar. Dichos implantes fueron enviados a un laboratorio centro de maquila Zirkonzahn®.

Para la obtención de los implantes de NiTi y Nitruro de Titanio se recortaron a las medida aproximadas, exceptuando el Nitruro de Titanio que debido la extrema dureza del material y a fin de no dañar el recubrimiento se opto por seccionar dos filamentos que estructuralmente se pudiesen implantar.

Finalmente, se conservo el diseño del endo-tornillo RADIX ANKER® ya que este cumplía con las medidas estándar de este estudio

Estos implantes son de dimensiones .9 mm de largo por 1.5 mm de Diámetro en medidas promedio.

Una vez obtenidos todos los implantes, fueron llevados a la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de las Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FES UNAM), para el estudio de la superficie de cada implante además del análisis de sus elementos químicos que los constituían para garantizar que se trataba de aleaciones biocompatibles. Estos análisis fueron llevados a cabo mediante Microscopio Electrónico de Barrido (JEOL JSM- 6380LV). (figura 26-30)

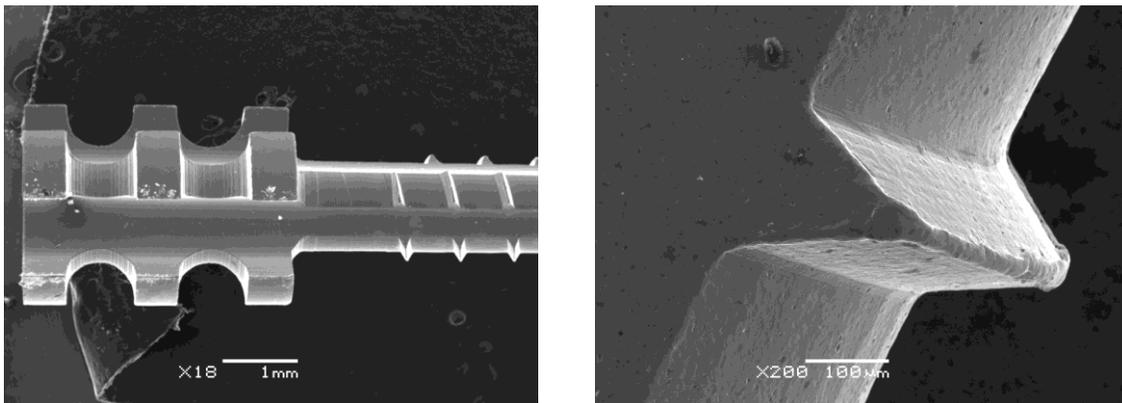


Figura 26. Microfotografía Titanio grado V. a la izquierda se puede apreciar el diseño del implante, y a la derecha se muestra la superficie lisa en una aproximación a la zona roscada.

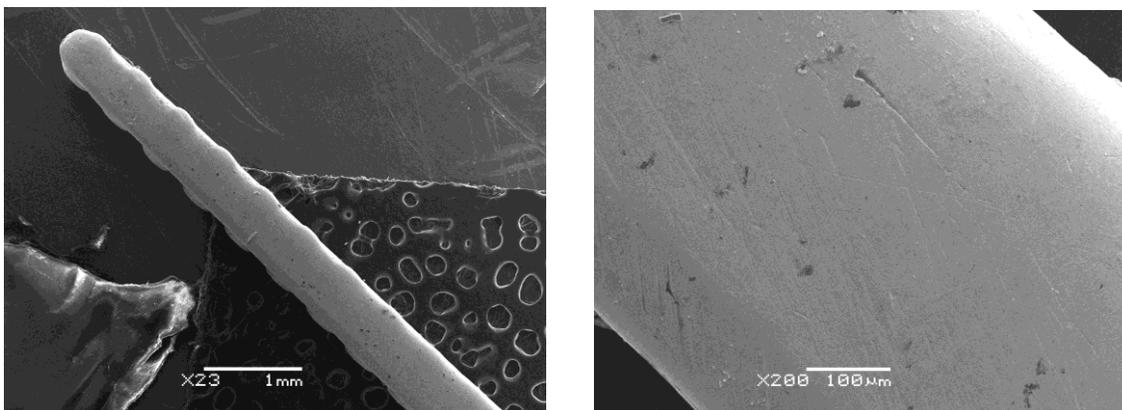


Figura 27. Microfotografía Níquel- Titanio. a la izquierda se puede apreciar el diseño del implante, y a la derecha se muestra la superficie lisa

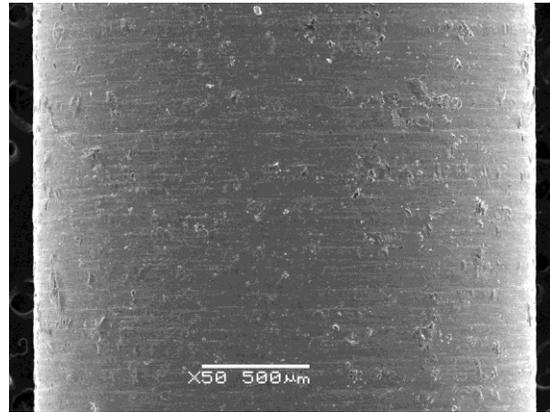
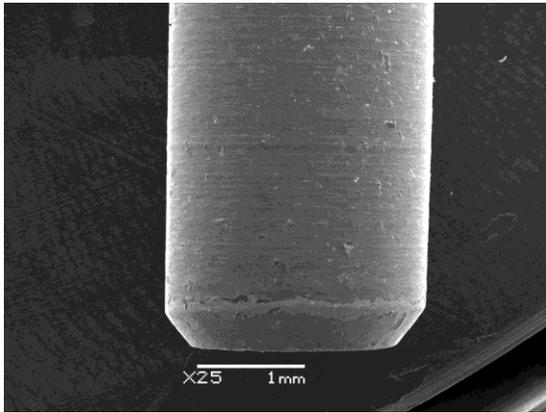


Figura 28. Microfotografía Nitruro de Titanio. A la izquierda se puede apreciar el diseño de una parte del implante, y a la derecha se muestra la superficie que presenta este biomaterial.

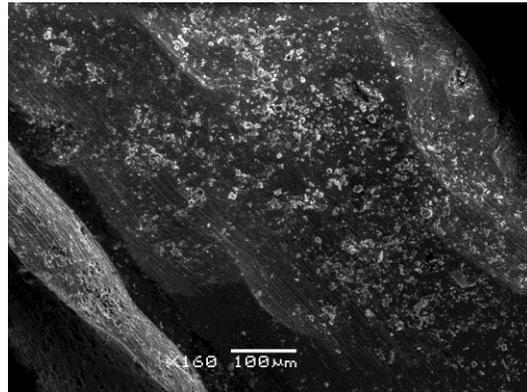
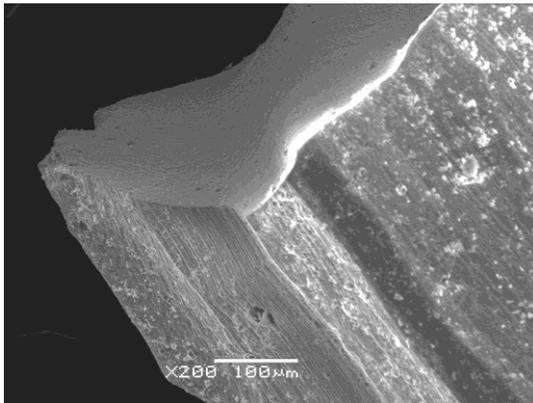


Figura 29. Microfotografía Zirconio. A la izquierda se puede apreciar el diseño de una parte del implante, y a la derecha se muestra la superficie que presenta este biomaterial.

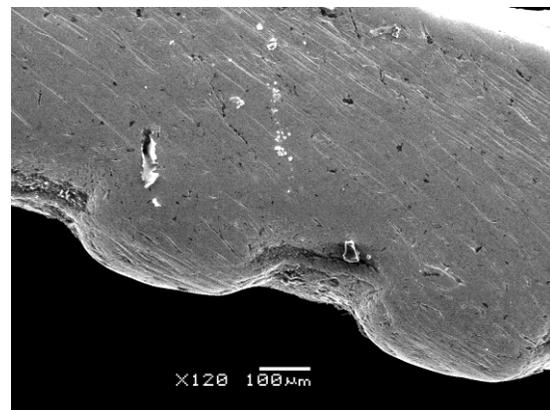
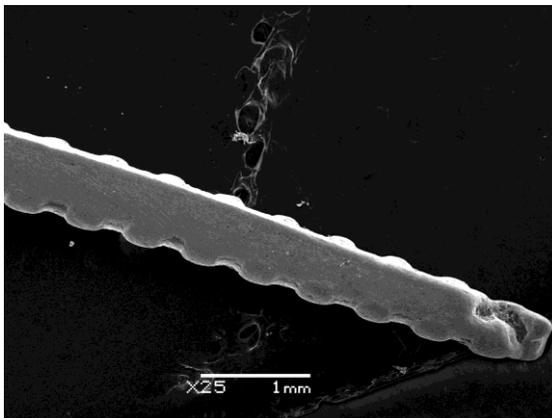


Figura 29. Microfotografía Oro. A la izquierda se puede apreciar el diseño de una parte del implante, y a la derecha se muestra la superficie que presenta este biomaterial.

3. Material general quirúrgico y clínico

- Caja estándar de material quirúrgico de Cirugía General: pinzas de disección y Hemostáticas de diversos tamaños y tipos, tijeras de corte y disección, porta agujas de Mayo, mangos de bisturí y hojas desechables No 10.
- Legra tipo seldin
- Material de sutura Vicryl 4-0 y Nylon 3-0 para cerrar la incisión.
- Catéter venoso, Jeringas de 5 y 10 ml.
- Bulto quirúrgico estéril desechable (4 campos, 4 batas, botas quirúrgicas).
- Gasas estériles
- Solución de cloruro de sodio
- Solución cloruro de benzalconio al 12 % KRIT®
- Lysol ® aerosol desinfectante
- Yodopovidona al 10%
- Jabón Quirúrgico
- Guantes estériles



Figura 30. Material general quirúrgico y clínico

4. Método anestésico

Todas las intervenciones se practicaron con el protocolo anestésico indicado en la tabla siguiente:

Tabla 5- Protocolo anestésico

Medidas preoperatorias:

En las 24h. Previas a la intervención se retiró la comida al animal, permitiéndole únicamente la ingesta de agua.

Inducción:

Se administró Hidrocloruro de ketamina 35 mg/kg IM (*KETOLAR®*, *PFIZER. MEXICO*). Luego se hizo una infiltración rutinaria de lidocaína al 2% con epinefrina en una dilución 1:100,000 (*FD®*, *ZEYCO. MEXICO*), en los sitios quirúrgicos. El animal se mantuvo así en respiración espontánea.

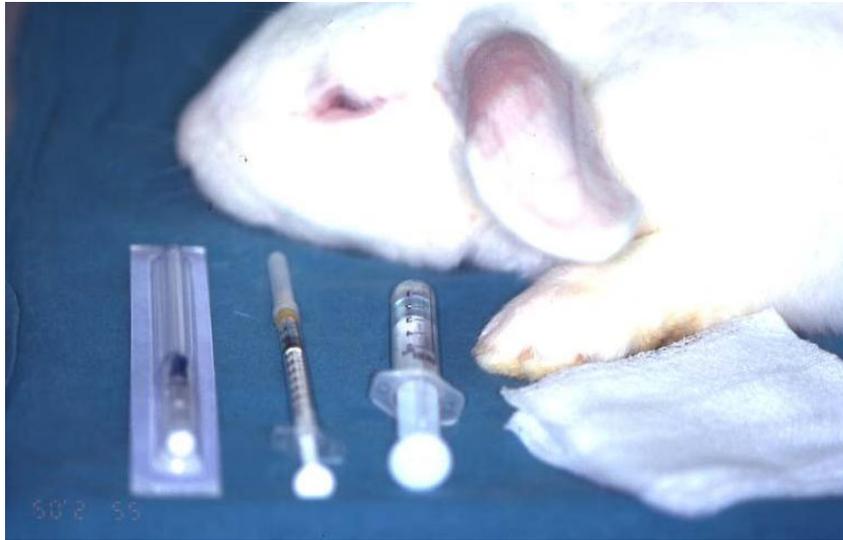


Figura 31. Biomodelo en inducción a anestesia



Figura 32. Se infiltró anestesia local en el sitio quirúrgico a fin de evitar la hemorragia transquirúrgica

5. Técnica Quirúrgica

Los animales de experimentación fueron sometidos al mismo tipo de intervención quirúrgica, realizando rigurosamente la misma secuencia de actos que se detallan a continuación. El quirófano respetaba todas las normas de asepsia y antisepsia descritas en la NOM 062 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Respecto al animal, los medios materiales empleados y respecto al cirujano y ayudantes.

El quirófano preservó todas las condiciones de esterilidad y asepsia necesarias para la realización de cirugía y todas las superficies que pudieran entrar en contacto con cirujano, y material estéril se cubrieron con campos quirúrgicos estériles.

El equipo quirúrgico estuvo formado por un cirujano, dos ayudantes auxiliares y el cirujano veterinario. El procedimiento quirúrgico era realizado siempre por el mismo cirujano siguiendo el mismo protocolo. El cirujano veterinario se encargó del proceso anestésico de los conejos durante la cirugía así como el cuidado postoperatorio.

La preparación del cirujano y de sus ayudantes incluyó el cepillado quirúrgico de las manos y antebrazos, y uso de ropa estéril siguiendo las mismas normas de asepsia quirúrgica que son recomendables en el caso de intervenciones quirúrgicas realizadas en humanos. La preparación de los animales para la colocación de implantes, los animales anestesiados se colocaron sobre la mesa quirúrgica y se cubrieron con campos quirúrgicos dejando descubierta la zona a intervenir. (Figura 33)

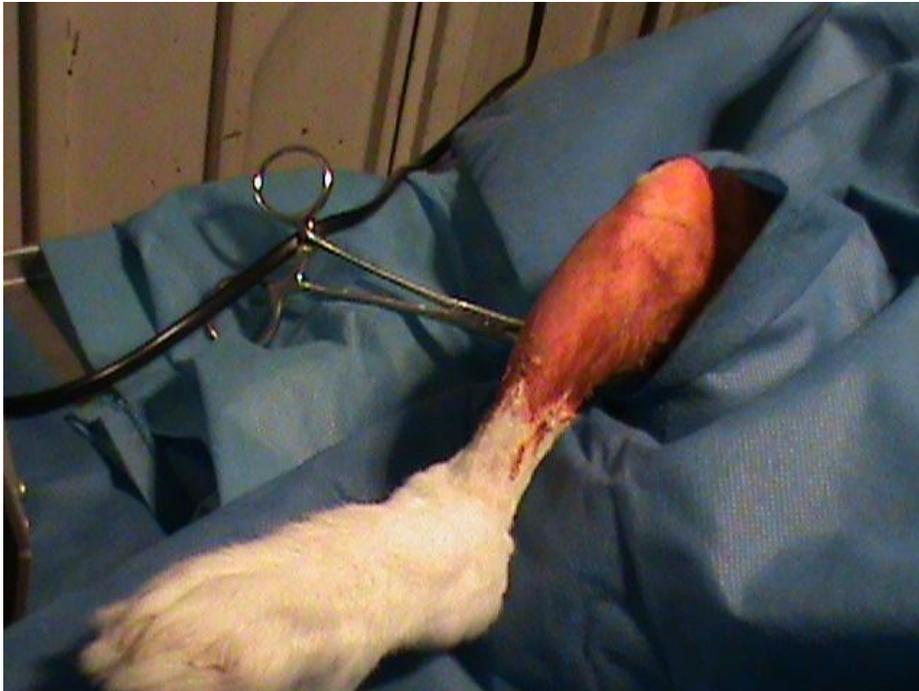


Figura 33. Tibia de conejo preparada para la colocación de implantes

Abordaje proximal de la tibia.

Se practicaba una incisión cutánea recta en la cara medio-ventral de la tibia, en su parte media y proximal, de unos 3 cm de longitud

Después de disecar el plano subcutáneo y fascial, se exponía el tercio proximal de la tibia que se desperiostizaba por su cara medial. El periostio se incidía con hoja de bisturí No. 10 y se disecaba con legra tipo Seldin. Procedíamos al fresado del lecho implantario, Se decidía la zona por la que se deseaba que emergiera la cabeza del implante, teniendo en cuenta las dimensiones del diámetro transversal de la metáfisis en cada ejemplar. (Figura 34)



Figura 34. Exposición del hueso de la metáfisis tibial.

La preparación del lecho del implante se hizo con micromotor Mdc Dental III ® conectado a una pieza con fresa quirúrgica 703L. Con esta fresa se conseguía osteotomizar el lecho del implante de forma progresiva y con el mínimo traumatismo para el hueso.

Todo este proceso se realizó con abundante irrigación con suero fisiológico estéril, de acuerdo con el protocolo de instalación de implantes a fin de no calentar el hueso y el implante.

Una vez preparado el lecho, se procedía a la inserción de cada implante llevados hacia el nicho mediante pinzas curvas. La estabilidad primaria del implante en este modelo animal no se conseguía gracias a la densidad del hueso medular, puesto que dicho hueso está compuesto por escasas trabéculas óseas. (Figura 35ab)

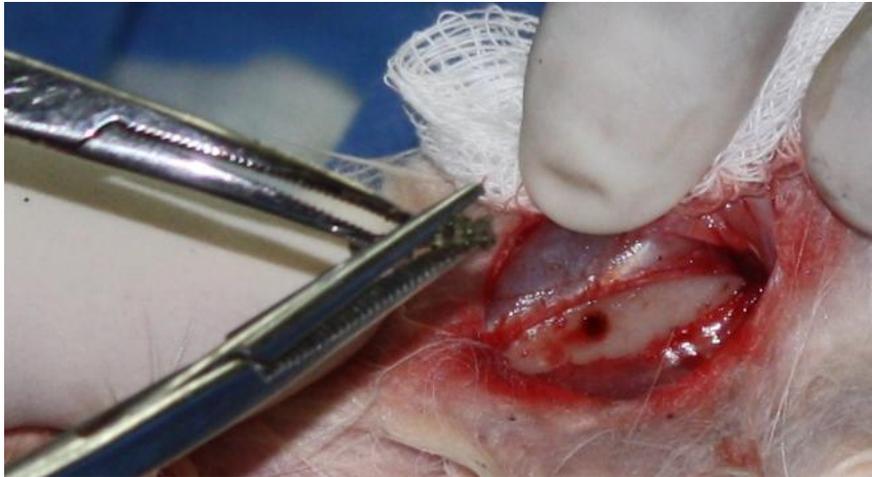


Figura 35a. Colocación del implante en el lecho osteotomizado.



Figura 35b. Presentación de los cinco biomateriales implantados.

Tras un lavado profuso del campo quirúrgico a fin de eliminar el barrillo óseo originado durante el fresado, se procedía al cierre por planos de la herida, lo más herméticamente posible; el plano perióstico y fascial con sutura reabsorbible de 4/0 aguja C16 (VICRYL®, ATRAMAT, MÉXICO) mediante surjete anclado. Y el plano cutáneo con sutura Nylon 3-0 (ATRAMAT, MÉXICO) mediante puntos simples. (Figura 36)



Figura 36. Sutura del plano cutáneo tibial

Finalizada la sutura de la herida, se desinfectaba la piel con povidona yodada y se colocaba un apósito estéril con gasas y se protegía el apósito con un vendaje de gasa y micropore de toda la extremidad. (Figura 37)



Figura 37. Vendaje de la extremidad intervenida

6. Postoperatorio

Tras la intervención implantológica, el tratamiento antibiótico consistió en la administración de Enrofloxacino 5 mg/kg. Durante 7 días por vía intramuscular.

El apósito se retiraba a las 24 horas por motivos higiénicos, llevándose a cabo antisepsia de la herida con yodopovidona y a la semana se retiraron los puntos de sutura de la piel en su totalidad.

Los conejos permanecieron con los implantes colocados hasta un tiempo de 12 semanas (3 meses) para poder obtener resultados óptimos de neoformación y remodelación ósea. Su alimentación consistió en alimento para conejo y agua *Ad libitum*.

7. Aplicación de Laserterapia y Ozonoterapia

Para la aplicación de terapia Laser y Ozono los conejos eran llevados en jaulas de transporte al laboratorio de la Clínica Odontológica Cuautitlán de la FES Iztacala.

La terapéutica se llevo a cabo una semana después de la intervención quirúrgica y al término del tratamiento farmacológico postoperatorio. Ambas terapias iniciaron y culminaron el mismo día.

Se decidió que el conejo A recibiera laserterapia. El equipo empleado fue de baja potencia (DILLER&DILLER® LASER PERFORMANCE INTERNACIONAL, ALEMANIA) a una dosis semanal de 3000 Hz durante 50 segundos y que terminó hasta la

última semana de sacrificio del animal; de esta manera comprenden 12 sesiones de terapia laser. (Figura 38)



Figura 38. Equipo de Laser de Baja Potencia empleado



Figura 39. Irradiación de Laser de Baja Potencia postoperatorio

Por lo tanto el otro biomodelo fue denominado como conejo B, y este fue sometido a ozonoterapia mediante infiltraciones paraperiósticas de solución fisiológica 0,9% (PISA®, MEXICO) previamente ozonizada; la técnica para lograrlo consistía en conectar un tanque de oxígeno y programar el equipo de ozonoterapia (DOKTOR OZONO®, ATERAMEX, MEXICO) para que liberara una concentración de 10 ug/cc de ozono el cual llegaba a través

de difusores a un recipiente cuyo contenido era de 200ml de solución fisiológica durante 10 min, De acuerdo al manual del equipo para lograr ozonificar sustancias. (Figura 40)

La solución ozonizada era extraída en una jeringa de 3ml (PLASTIPAK®, BECTON DICKINSON, EU) que contenía 1.5 ml de lidocaína al 2% epinefrina a 1:100 000 (FD®, ZEYCO. MEXICO), de tal forma que 1.5 ml restante era de solución ozonizada. (Figura 41)



Figura 40 y 41. (Izq.) equipo de ozonoterapia. (Der.) Preparación de solución ozonizada

Además la herida quirúrgica superficial era ozonizada mediante la aplicación de ozono el cual era llevado por medio de sondas y un aplicador, el gas era dispersado sobre el tejido blando intervenido mediante la técnica de barrido.(Figura 42)



Figura 42. Aplicación de ozono superficial sobre la herida quirúrgica
Las aplicaciones de ozono comenzaron una semana después del tratamiento postoperatorio y terminaron también en la semana del sacrificio, cumpliéndose 12 sesiones de ozonoterapia.

8. Análisis Radiológico

El equipo radiográfico empleado fue ORTHOPHOS XG 5 (SIRONA, Alemania)



Figura 43. Ortopantomógrafo digital empleado en las sesiones radiológicas

Para poder llevar a cabo los estudios radiológicos fue imprescindible que el animal estuviera perfectamente inmóvil durante el tiempo de adquisición de las imágenes por lo que se inmovilizó a los conejos con una venda de 30 cms dejando las extremidades inferiores libres para su manipulación y sujeción ante las tomas radiográficas.

Se comenzó con una sesión radiográfica antes de la colocación de implantes a fin de poder calcular la densidad ósea, las imágenes radiológicas fueron transferidas a una computadora y digitalizadas según niveles de grises (256 niveles), utilizando un software SIDEXIS XG® (SIRONA, ALEMANIA), para poder establecer una relación preoperatoria y postoperatoria mes tras mes.

Esta sesión se realizó una semana antes de la intervención quirúrgica, los animales fueron sometidos a tomas radiográficas de las extremidades inferiores de los conejos en sus vistas anteroposterior y lateral a fin de estudiar las dimensiones de la metáfisis proximal de la tibia y lateral a estas radiografías se les denominó sesión "preoperatoria". Cabe señalar que a las radiografías iniciales se les colocó una guía radiopaca (balín) de referencia de 2mm de diámetro con la intención de realizar las mediciones preoperatorias y el cálculo de la densidad ósea en imágenes 1:1. (Fig. 44)



Figura 44. Análisis radiográfico preoperatorio de la zona a intervenir empleado el software de análisis.

Se realizaron tomas de radiografía digital siguiendo el protocolo que a continuación se describe; a los 15 días de la intervención, al mes, dos meses y tres meses de la primera Rx postoperatoria, efectuando un total de 4 sesiones radiográficas por conejo en una vista Antero posterior, a fin de observar en su longitud cada implante.

En cada sesión, se llevo a cabo el análisis de densidad ósea por secciones de acuerdo a la proximidad ósea por cada implante. De esta manera observaríamos el avance de cada implante en su proceso de oseointegración cada mes. Estos datos fueron vaciados en tablas a fin de poder ser utilizados en los cálculos estadísticos.

9. Análisis Bioquímico

Para poder realizar este estudio fue necesario inmovilizar a los animales con una venda de 30 cm. que se extendía por todo el cuerpo y dejaba libre la cabeza del conejo.

Se realizaron tomas de muestras sanguíneas de la vena auricular marginal de la siguiente forma:

1ª. Toma sanguínea, una semana antes de la intervención quirúrgica, de esta forma establecíamos un comparativo con los valores normales iniciales antes de ser colocados los implantes.

2ª. Toma sanguínea, a los 30 días de la cirugía.

3ª. Toma sanguínea, a los 60 días de la cirugía.

4ª. Toma sanguínea, a los 90 días de la cirugía.

Previamente, se había efectuado el rasurado de las orejas por su cara externa, para facilitar la visión de las venas en el momento de la punción. Si las venas no eran muy evidentes, se estimulaba la vasodilatación mediante un suave masaje del trayecto de la vena en la zona a puncionar. Para la desinfección cutánea se utilizó yodopovidona.



Figura 45. Las muestras sanguíneas se tomaron de la vena auricular

Las muestras sanguíneas de los conejos fueron enviadas a un laboratorio de análisis clínicos para la valoración de Osteocalcina, Fosfatasa Alcalina y Calcio en suero. De esta forma, haríamos una valoración de la actividad osteoblástica durante los 90 días del experimento, y podríamos evaluar el desempeño de las terapias Láser y Ozono en el papel de regenerador tisular periimplantario. Además, de poder establecer una correlación de datos con los demás análisis (radiológico, histopatológico, histomorfométrico).

10. Sacrificio

Tras los 90 días de experiencia, los animales fueron sacrificados mediante una sobredosis de pentobarbital por vía intravenosa. Inmediatamente después de la muerte se practicó la última sesión radiográfica. Los conejos fueron necropsiados y la tibia extraída y fijada en formol al 10% para los exámenes anatomopatológicos.

11. Preparaciones Histológicas

Las muestras no descalcificadas fueron procesadas utilizando técnicas de inclusión en metacrilato (Tabla 6). Tras la inclusión se procedió al corte de los bloques y pulido final. Siguiendo el protocolo, el pulido de la muestra se hizo primero mediante lija de 1200, hasta que quedaba expuesta la superficie del implante al nivel deseado, y después se terminó la preparación mediante lija de 4000, con el fin de obtener una superficie tan lisa como fuera posible. (Fig. 46)

Tabla 6 - Método de inclusión en metacrilato

INCLUSION EN METACRILATO
Procedimiento: <ol style="list-style-type: none">1. Pasar de la acetona a la solución de inclusión (1 día a temperatura ambiente).2. Cambiar la solución de inclusión (2 días a 30oC).3. Cambiar la solución hasta la completa polimerización a 35oC.
Solución de inclusión <ol style="list-style-type: none">1. 100 ml de metilmetracrilato (estabilizado mediante un 0,5% de hidroquinona).2. 20 grs. de polietilenglicol 1500.3. 2 grs. de Peróxido de benzoilo.



Figura 46. (Izq.) muestra tibial incluida en metacrilato preparada para microscopia. (Der.) Tibia correspondiente al conejo B.

12. Estudio Histopatológico

Para la lectura histológica de las preparaciones se utilizó un microscopio estereoscópico Olympus BX41 adaptado a una cámara digital (MOTIC 2.0@,MOTIC GROUP. CHINA), y conectado a una computadora para la obtención de imágenes. Dicho equipo fue solicitado al laboratorio de microscopía de la FES Iztacala. Para el análisis de los datos histológicos en los grupos de estudio, nos basamos en 3 parámetros siguiendo la escala de puntuación numérica asignada a cada uno de ellos, según el modelo propuesto por Heiple, para cada uno de los implantes colocados. (Tabla 6)

Tabla 6. Escala de puntuación numérica asignada a cada uno de los parámetros histológicos, siguiendo el modelo propuesto por Heiple.

Grado de madurez ósea

0. Ausente.
1. Presencia de células indiferenciadas.
2. Proliferación y diferenciación de las células indiferenciadas a células formadoras de hueso.
3. Presencia de islotes aislados de hueso inmaduro.
4. Espículas óseas uniendo los islotes de hueso inmaduro conformando un patrón heterogéneo.
5. Hueso maduro compacto.

Continuidad del biomaterial-hueso normal (unión ósea)

0. Ausencia de formación ósea en el reborde del material.
1. Escasa formación ósea.
2. Moderada formación ósea; 1/3 del material sin relleno óseo.
3. Elevada formación ósea; 2/3 del material sin relleno óseo.
4. formación ósea casi total sobre el biomaterial (mayor de 2/3 del defecto).
5. Continuidad del biomaterial con el hueso normal del 100%.

Formación ósea periférica

0. Ausente.
1. Escasa.
2. Moderada.
3. Elevada.

13. Microscopia Electrónica de Barrido

Luego el espécimen se colocaba en una placa metálica, y era recubierto posteriormente con oro. Con la finalidad de efectuar estudios ultraestructurales se utilizó el microscopio electrónico de barrido (MEB) descrito anteriormente. La elección de recubrir la muestra con oro, fue debido a que así se obtiene un mejor contraste en las imágenes, y poder realizar adecuadamente el microanálisis.

De las preparaciones obtenidas para su observación en MEB se obtuvieron microfotografías digitalizadas.

Mediante el programa *JEOL ANALYSER* que es el software correspondiente al MEB (JEOL JSM- 6380LV). Se analizaron las fotografías de manera que las zonas de la superficie del implante que estaban en contacto con hueso corticalizado eran las zonas evaluadas en el microanálisis, se calculó el porcentaje de contacto para cada implante analizado.



Figura 47. Microscopio Electrónico de Barrido de la Unidad de Biotecnología y Prototipos utilizado durante esta investigación

14. Análisis Estadístico

Se realizó mediante el programa estadístico SPSS para Windows. Cada parámetro fue estudiado según descriptores estadísticos básicos, utilizando medidas de tendencia central y de dispersión. En los test estadísticos usados para contrastar hipótesis el nivel de significación estadística elegido fue el 5%.

X.

VARIABLES

Valoración clínica macroscópica. En el momento del sacrificio y disección de las muestras se realizó una valoración descriptiva de los siguientes parámetros: a) organización anatómica y tisular, b) infecciones, exudados o colecciones hísticas; c) desplazamiento del lecho de los biomateriales; d) presencia de fracturas.

Valoración radiológica. Se realizó un estudio densitométrico de la cicatrización periimplantaria radiológica por cada biomaterial implantado. Las imágenes radiológicas fueron transferidas a una computadora y digitalizadas según niveles de grises (256 niveles), utilizando un software para análisis de radiografía digital SIDEXIS XG® para Windows.

El área de estudio fue definida e interpretada. El valor de la densidad ósea del área de estudio fue expresado en relación al porcentaje obtenido mediante el software.

Valoración Bioquímica. Se realizó la valoración de los marcadores de remodelación ósea y calcio sérico mediante la toma de muestras sanguíneas una vez por mes hasta finalizar el periodo de experimentación.

Valoración histológica e histomorfométrica. Para la lectura histológica de las preparaciones se utilizó un microscopio óptico Olympus BX41 adaptado a una cámara digital Motic 2.0, y conectado a una computadora para la obtención de imágenes.

El estudio histomorfométrico se llevo a cabo mediante un microscopio electrónico de barrido JEOL- JSM 6380LV y el software del mismo equipo que realizaba los microanálisis de estequiometria, y porcentaje de contacto hueso-implante.

Para el análisis de los datos histológicos en los grupos de estudio, nos basamos en 3 parámetros siguiendo la escala de puntuación numérica asignada a cada uno de ellos, según el modelo propuesto por Heiple.

XI.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

Título séptimo. De la investigación que incluya la utilización de animales de experimentación. Capítulo único. Artículos 121-126

Así como también lo determinado en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

De acuerdo a la revisión de dichos documentos se declara que en la presente investigación:

- Se evitó el sufrimiento innecesario de los animales de experimentación.
- Se realizó la colocación de los implantes bajo anestesia general.
- Los animales se mantuvieron en condiciones de bioterio, con agua y alimento *ad libitum*.
- Solo se utilizó una sola vez cada animal.
- Se sacrificaron con sobredosis anestésica.

XII.

RESULTADOS

Valoración clínica postoperatoria

El estado general de los biomodelos fue satisfactorio en todos los grupos; observándose tan sólo una tumefacción de partes blandas debido a la ostectomía, que desapareció en 24-48 horas sin tratamiento excepto las terapias laser u ozono dependiendo el conejo.

Resultados macroscópicos

Se rechazaron 3 implantes en el conejo A del estudio (oro, NiTi, Nitruro de Titanio). Los resultados se refieren a las 7 implantes restantes.

En los grupos experimentales A y B no se observó desplazamiento de los implantes, los cuales mostraron buena adhesión e integración al hueso y tejidos periimplantarios del hueso tibia.

1. ANÁLISIS RADIOLÓGICO

El análisis estuvo dado bajo dos perspectivas; un análisis descriptivo a través de la observación de las imágenes radiográficas durante la evolución del experimento. Además se llevo un análisis radiográfico cuantitativo basado en la densitometría ósea calculada en cada sesión radiográfica. (Ver IX. Material y Método)

A continuación se presenta el análisis de los biomodelos A y B respectivamente:

CONEJO A.

Se realizó la toma radiográfica preoperatoria, una vez calibrada se determinó el perfil de densidad ósea de la tibia en la zona a intervenir, tal y como se muestra en la Figura 49.

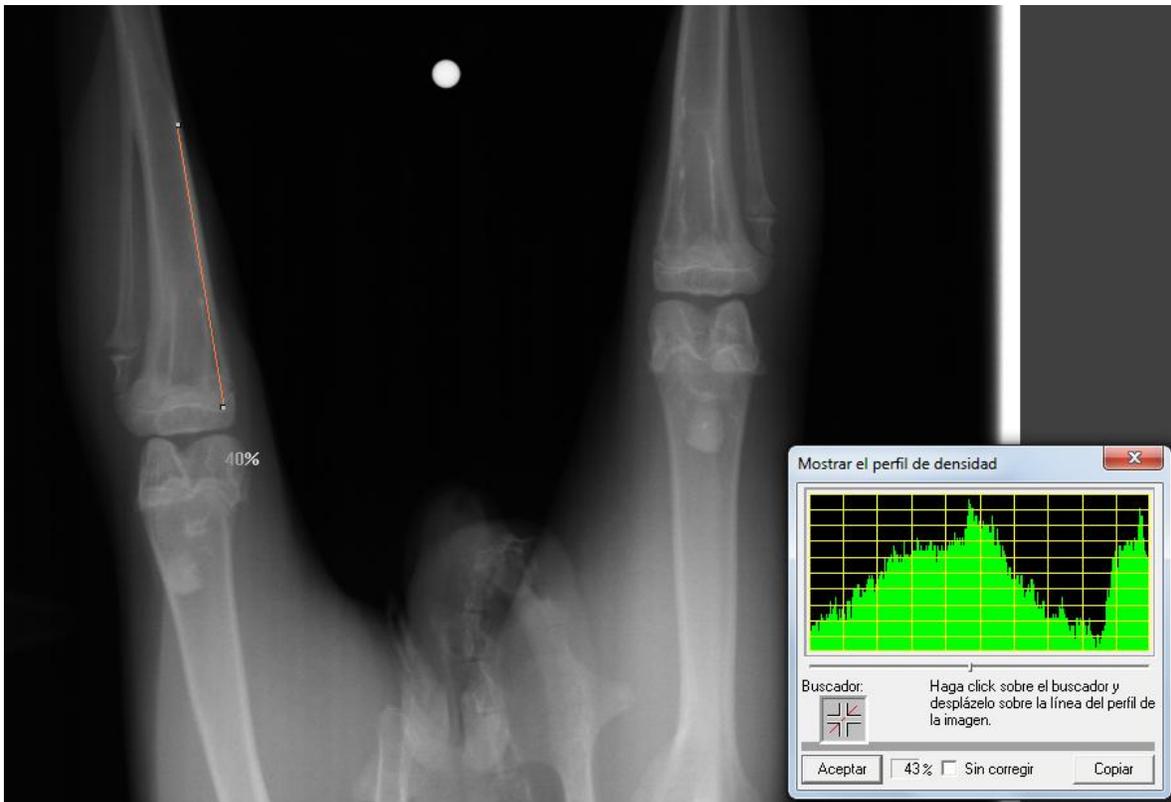


Figura 49. Conejo A: radiografía preoperatoria

El análisis de densidad ósea, determinó 43% de densidad. Este valor fue tomado como referencia "sigma" o control en el conejo A, de tal manera que $\Sigma = 43 \pm$ y nos permitió ver la evolución cuantitativa del análisis durante la fase experimental.

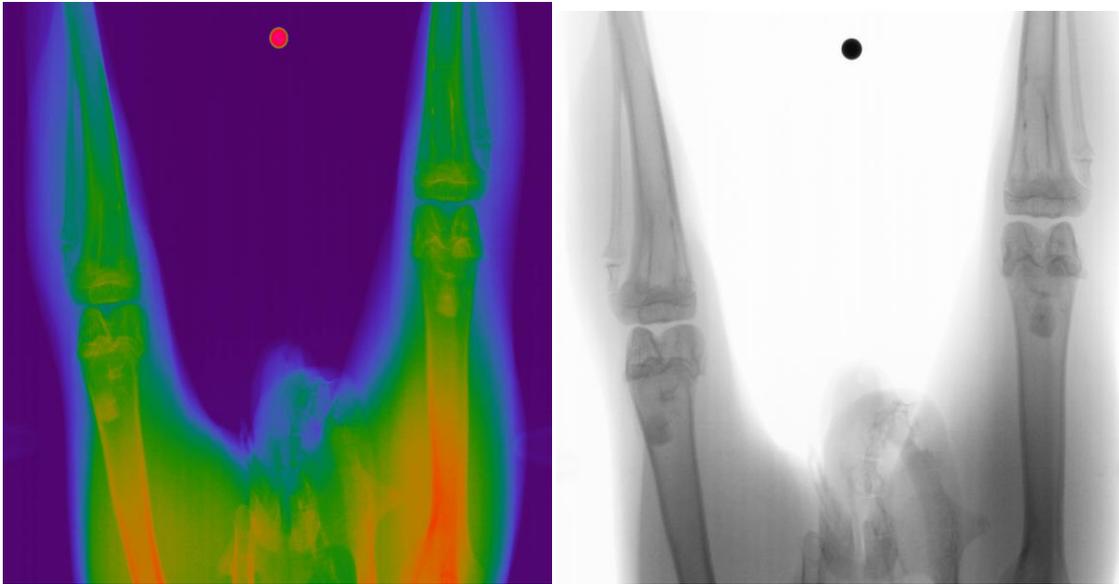


Figura 50. A fin de obtener un mejor análisis descriptivo se emplearon la obtención de la imagen en escala RGB y el "negativo" de la imagen radiográfica.

A continuación se presentan el protocolo radiográfico postoperatorio del conejo A. y al final de las imágenes una **tabla 7**, donde se presentan todos los valores porcentuales obtenidos del perfil de densidad óseo.

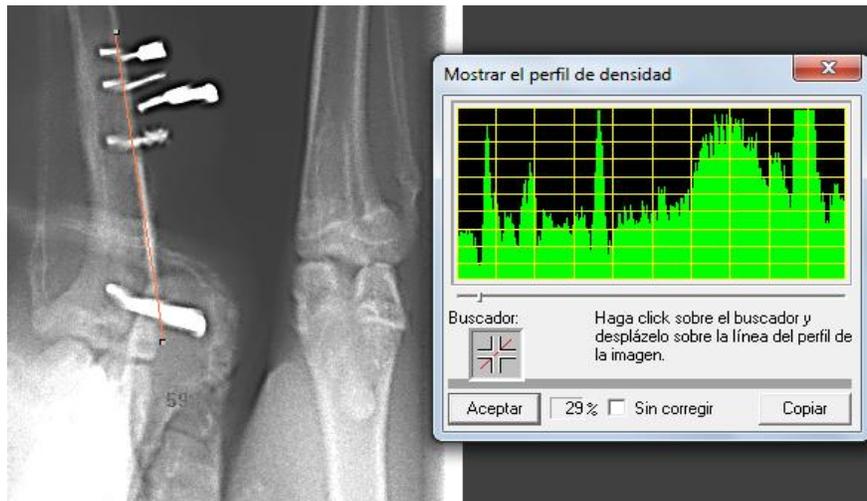


Figura 51a. Radiografía digital a 15 días postoperatorio y el comienzo de la evaluación del perfil de densidad óseo.

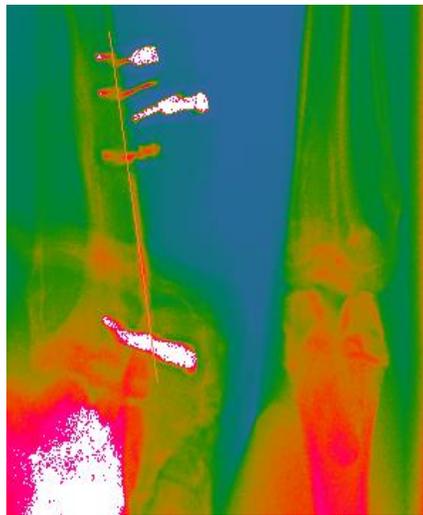


Figura 51b y c. escala RGB y negativo de la Radiografía a los 15 días del postoperatorio. Se aprecian zonas hipodensas en color verde en la zona del reborde del lecho implantario.

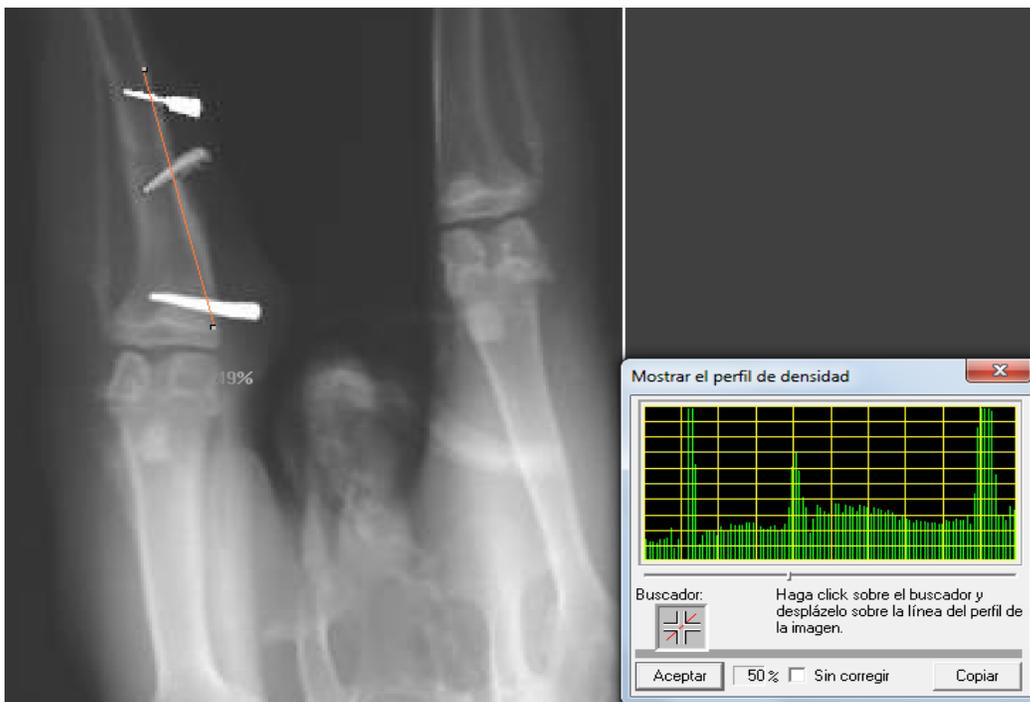


Figura 52a. toma radiográfica tras 30 días de la intervención implantológica. Nótese la ausencia de los implantes de Oro y NiTi.

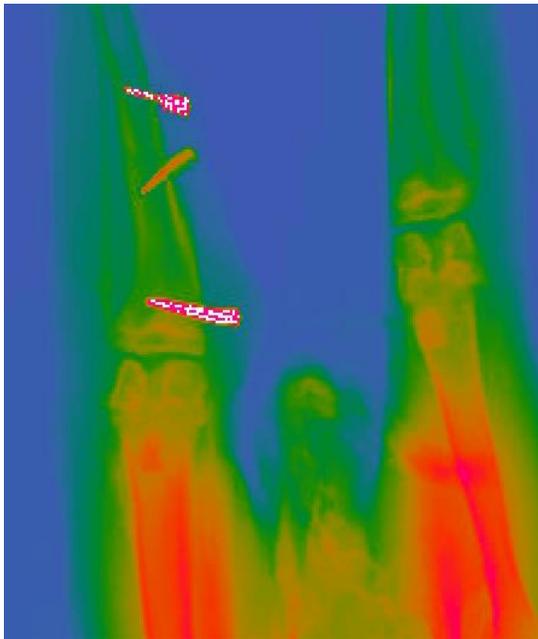


Figura 52b y c. escala RGB y radiografía en negativo a los 30 días, se observan zonas densas que se distinguen en color amarillo en el reborde de lecho implantario. Lo cual se interpreta como una maduración más evidente en los sitios quirúrgicos.

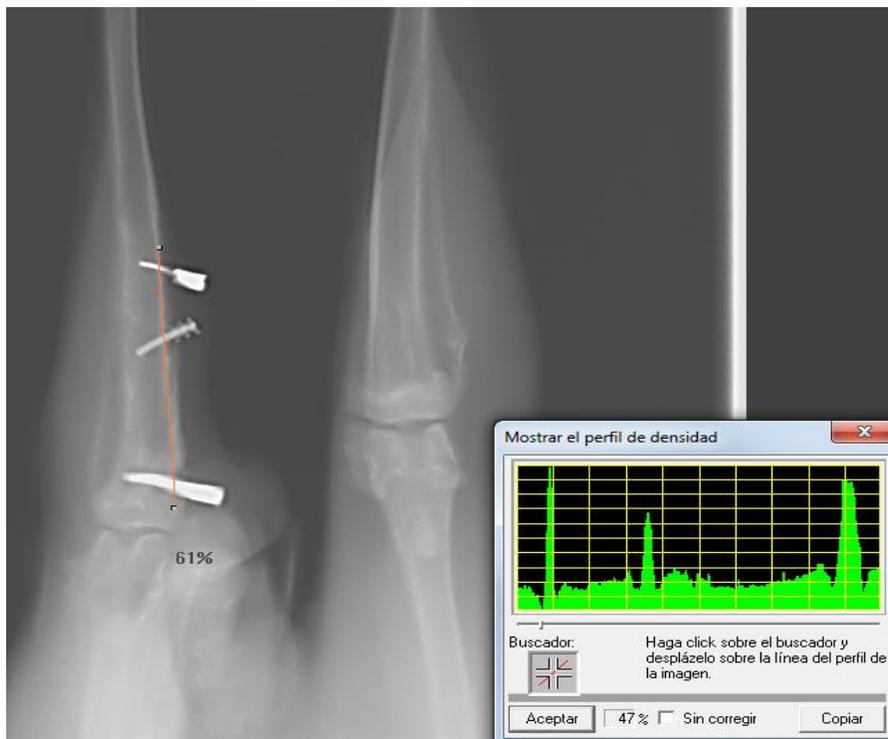


Figura 53a. Muestra la presencia de los 3 implantes Zirconio, Titanio y Nitruro de Ti, tras 60 días de la colocación.

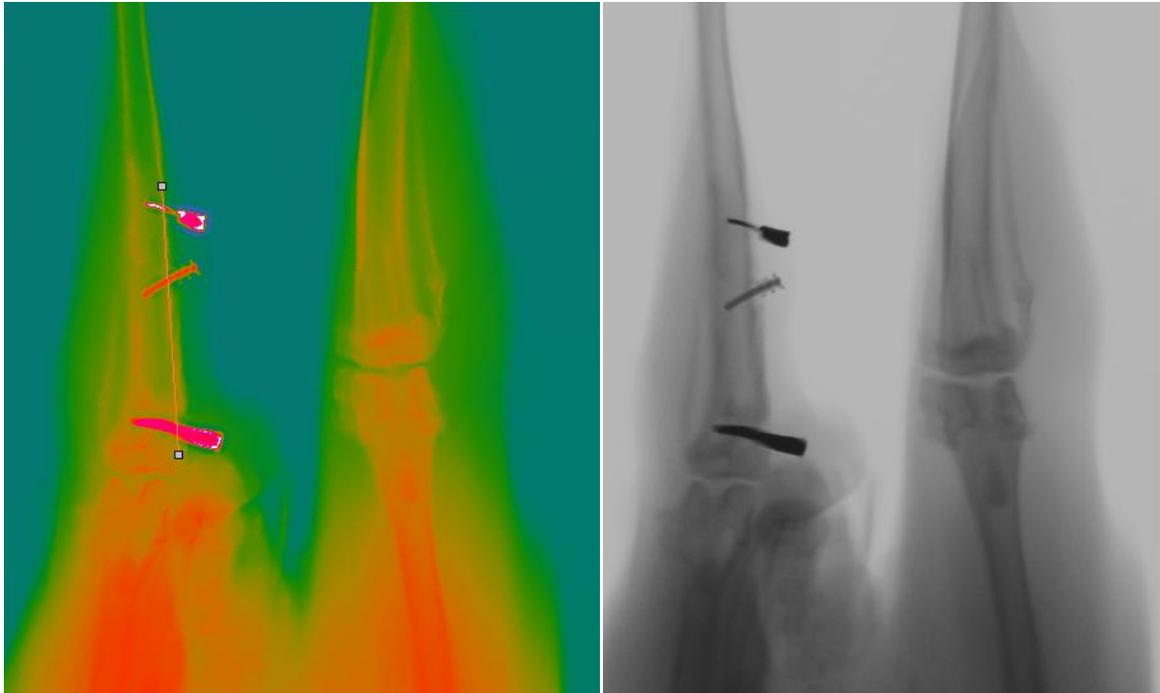


Figura 53b y c. A los 60 días postoperatorios se aprecia una continuidad lineal hiperdensa en la cortical en color amarillo lo cual nos sugiere mineralización del lecho periimplantario.

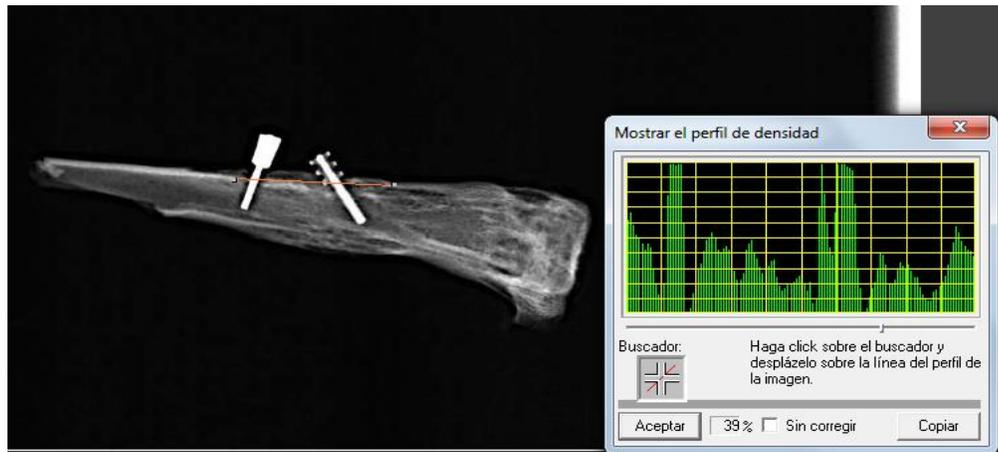


Figura 54 a. cumplidos los 90 días tras la intervención, se realizó la necropsia de la porción de hueso de la tibia de interés y se llevo a cabo la última sesión radiográfica haciendo evidente la pérdida del implante de Nitruro de titanio.

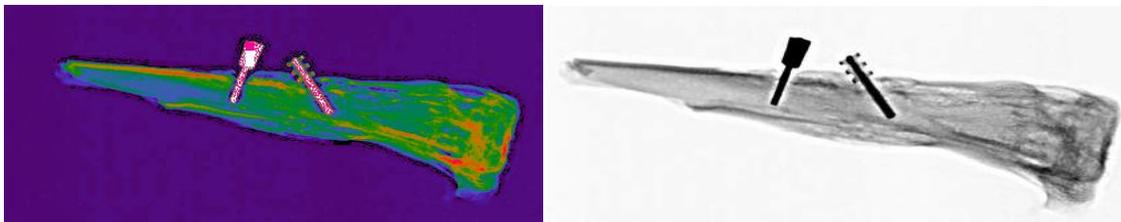


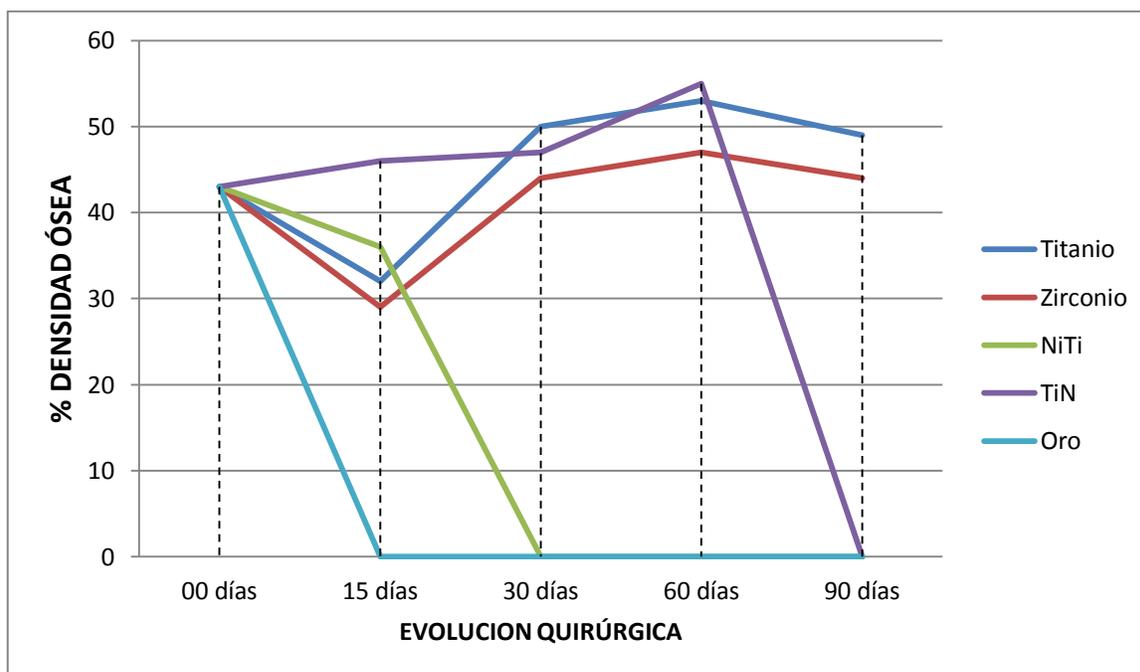
Figura 54b y c. Imagen RGB y negativo de la tibia del conejo tras 90 días.

A continuación se agrupan en la siguiente tabla 7. Los valores obtenidos de la medición del perfil de densidad ósea a través del software SIDEXIS XG® (SIRONA, ALEMANIA).

Tabla 7. Porcentaje de densidad ósea.

CONEJO A	%Densidad ósea preoperatori a	%Densida d ósea 15 días	%Densida d ósea 30 días	%Densida d ósea 60 días	%Densida d ósea 90 días
TITANIO	43	32	50	53	49
ZIRCONI O	43	29	44	47	44
NITI	43	36	N/A	N/A	N/A
NITRUO Ti	43	46	47	55	N/A
ORO	43	N/A	N/A	N/A	N/A

Estos datos fueron graficados.



CONEJO B.

Se realizó la toma radiográfica preoperatoria, una vez calibrada se determinó el perfil de densidad ósea de la tibia en la zona a intervenir, tal y como se muestra en la radiografía digital a 15 días y el comienzo de la evaluación del perfil de densidad óseo.

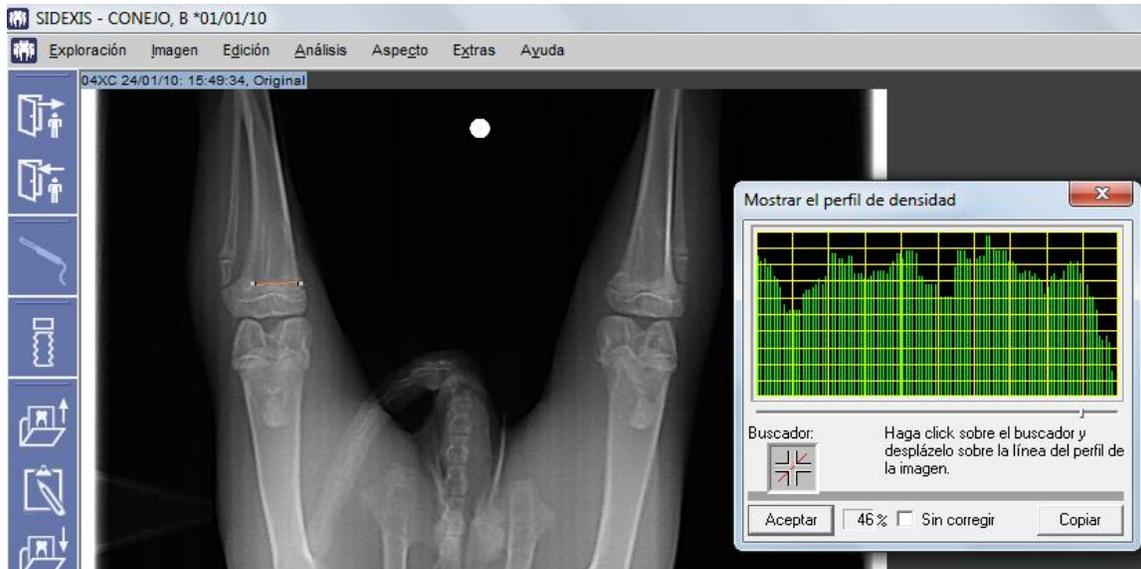


Figura 55. Conejo B: radiografía preoperatoria

El análisis de densidad ósea, determinó 46% de densidad. Este valor fue tomado como referencia "sigma" en el conejo A, de tal manera que $\Sigma = 46 \pm$ y nos permitió ver la evolución cuantitativa del análisis durante la fase experimental.

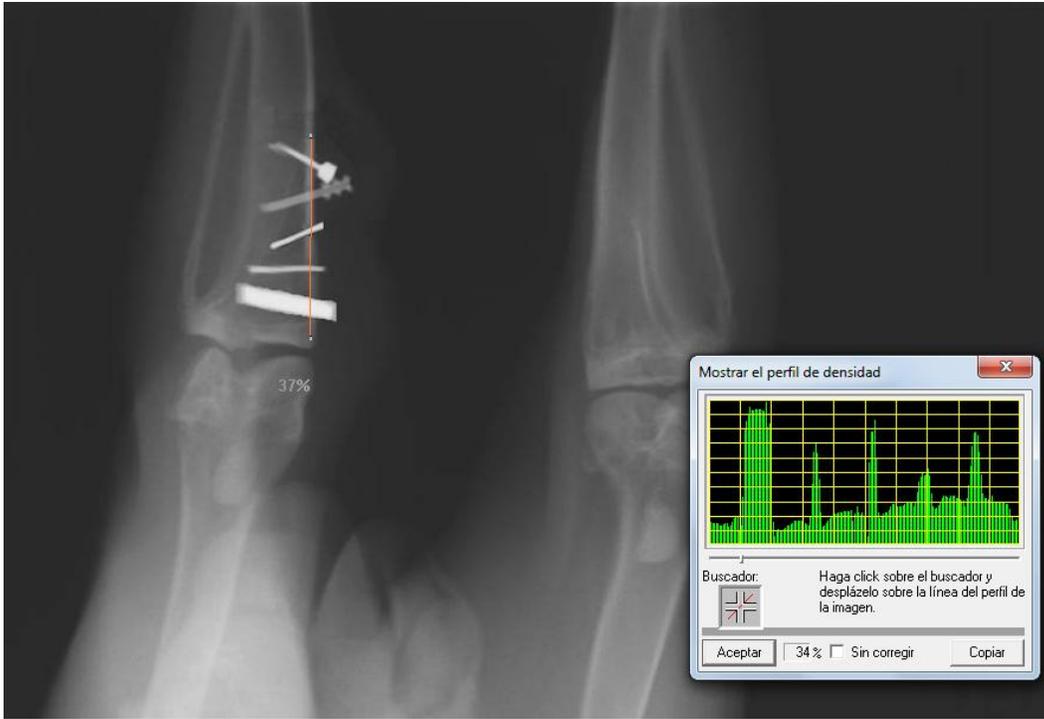


Figura 56 a. radiografía a 15 días de la colocación de implantes

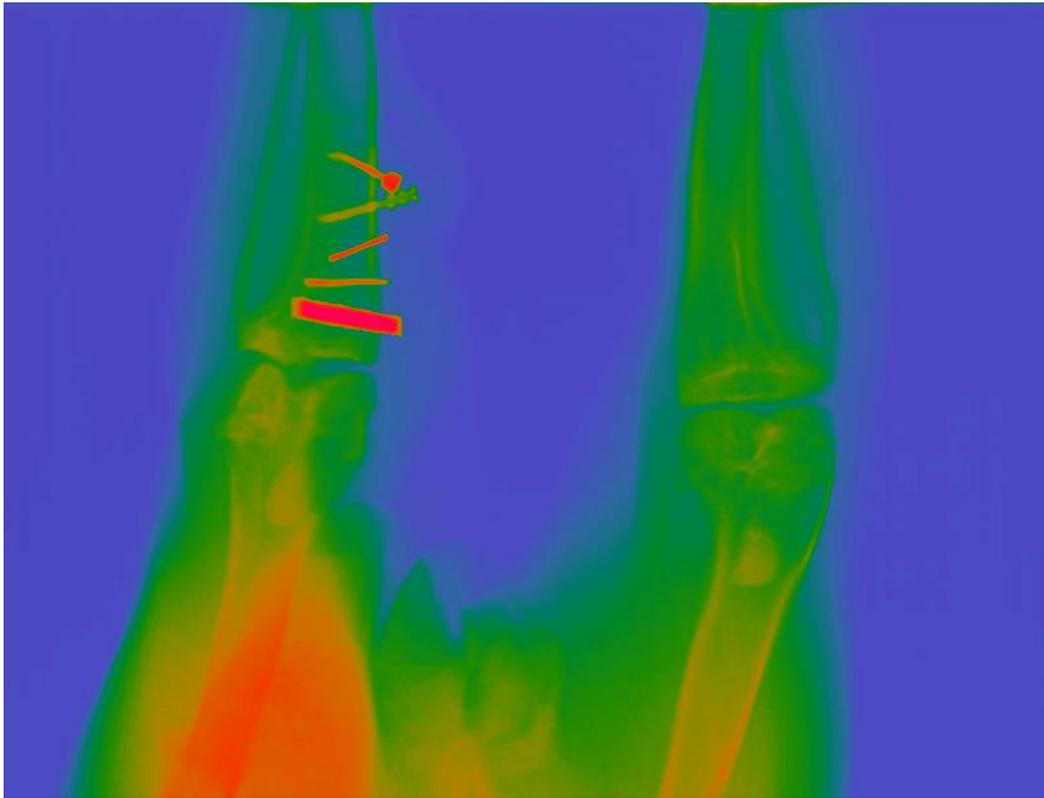


Figura 56 b. Se observan zonas densas que se distinguen en color amarillo en el reborde de lecho implantario.

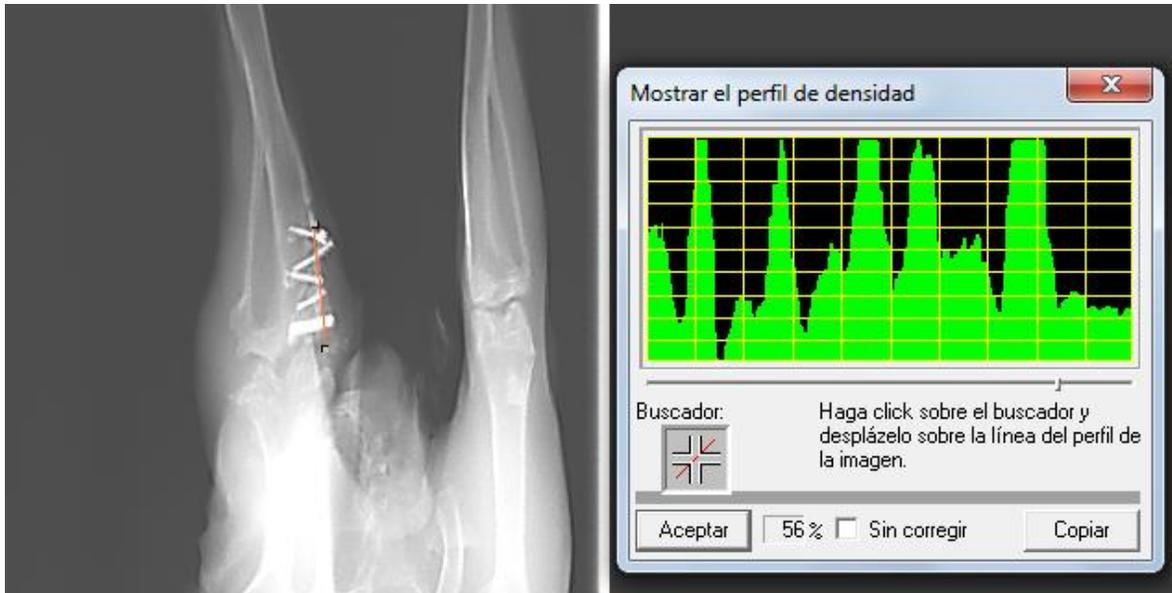


Figura 57a. toma radiográfica tras 30 días de la intervención implantológica.

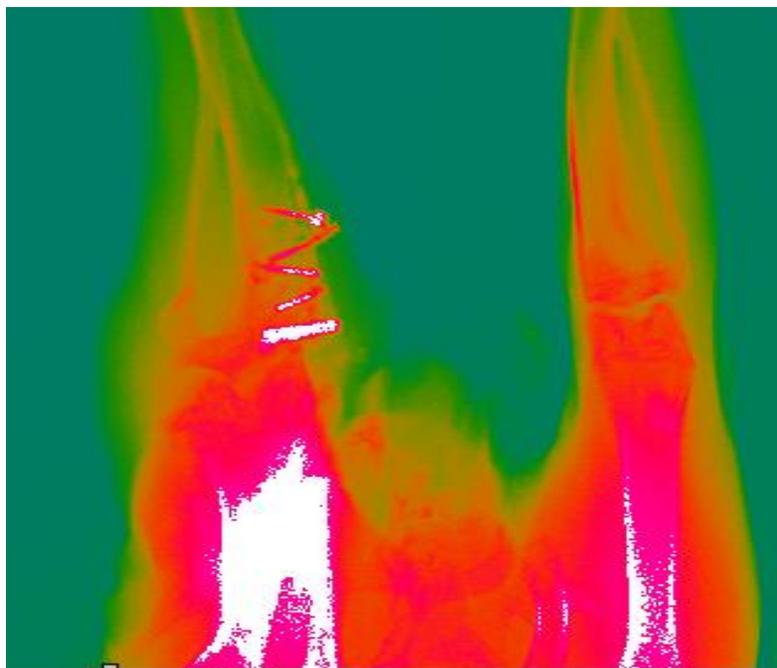


Figura 57b. se observa una continuidad lineal hiperdensa de los implantes sugiriendo actividad de formación ósea; cabe mencionar que se muestra en la imagen de escala RGB que el implante de Ti parece ser el más propicio, a partir de la nivelación equilibrada de densidades estructurales, mostrándose uniforme respecto de los tejidos óseos adyacentes. Mostrando una elevada continuidad con los rebordes óseos, y con una distribución muy homogénea de la densidad radiológica. la existencia de un tejido óseo inmaduro poco calcificado, que no se registra en el análisis radiológico.

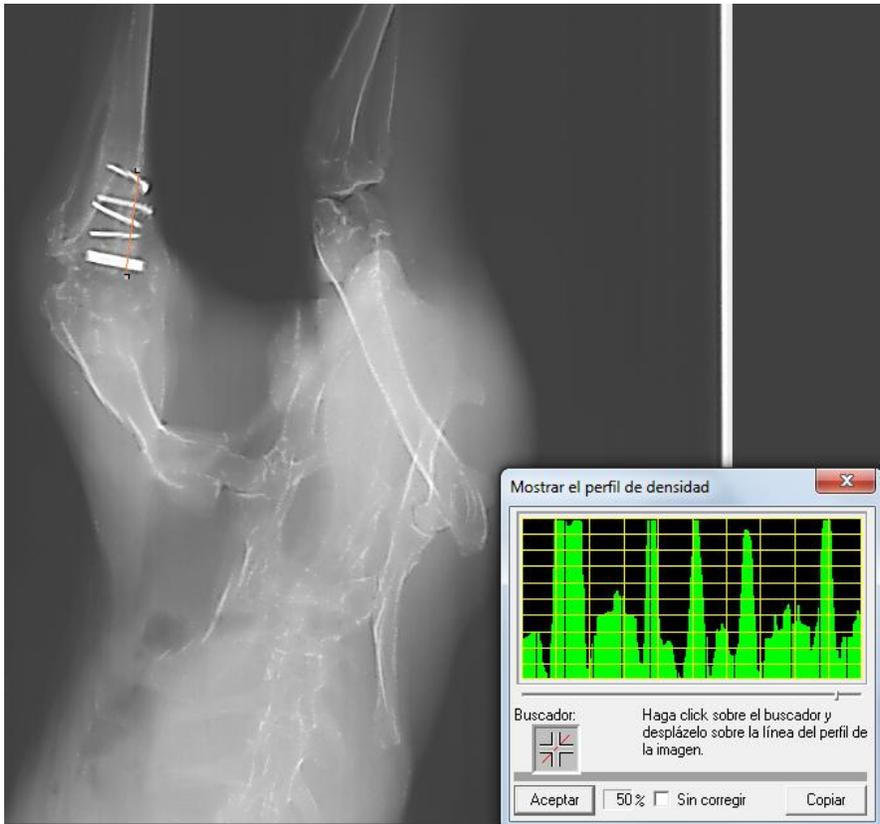


Figura 58a. muestra la presencia de los 5 implantes, tras 60 días de la colocación

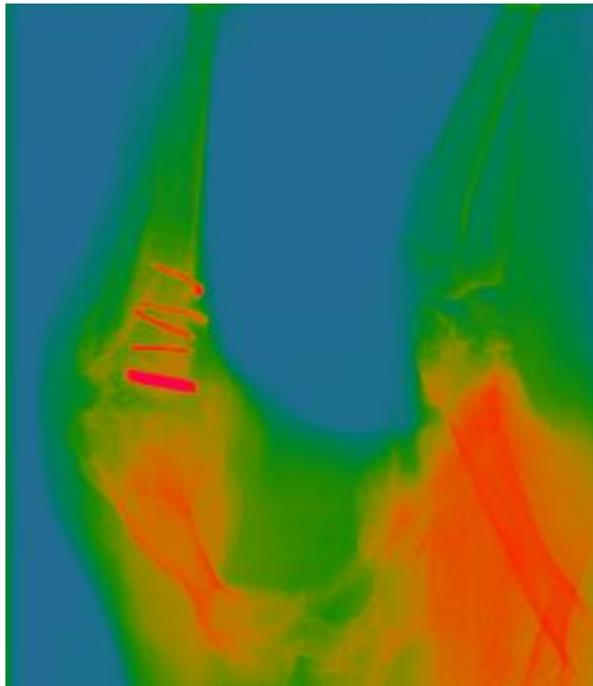


Figura 58b. Se aprecia una continuidad lineal hiperdensa en color amarillo.

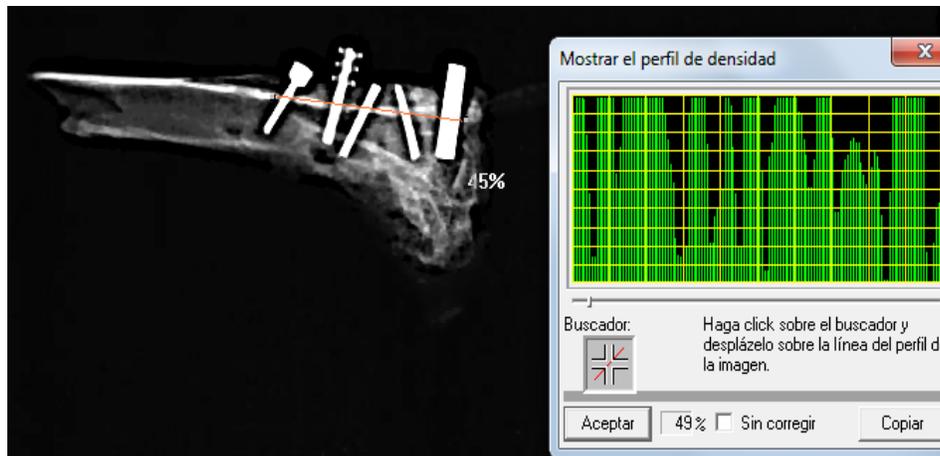


Figura 59a. muestra la presencia de los 5 implantes, tras 60 días de la colocación

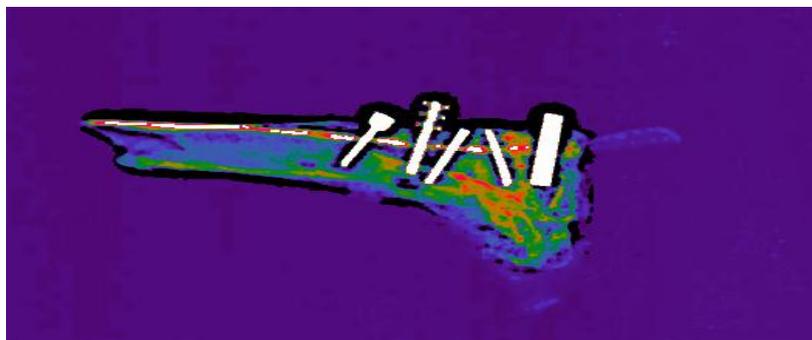
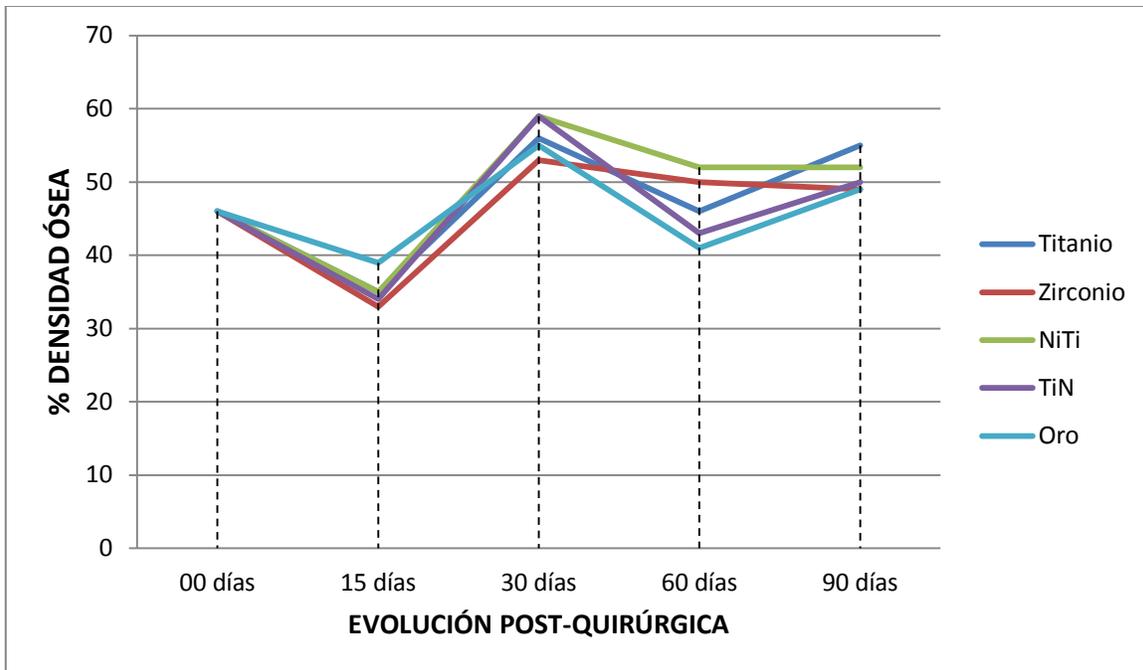


Figura 59b. Imagen RGB a los 90 días

A continuación se agrupan los valores obtenidos de la medición del perfil de densidad ósea a través del software SIDEXIS XG® (SIRONA, ALEMANIA). En la siguiente tabla 8.

Tabla 8. Porcentaje de densidad ósea.

CONEJO B	%Densidad ósea preoperatori a	%Densida d ósea 15 días	%Densida d ósea 30 días	%Densida d ósea 60 días	%Densida d ósea 90 días
TITANIO	46	35	56	46	55
ZIRCONI O	46	33	53	50	49
NITI	46	35	58	52	47
NITRURO Ti	46	34	59	43	50
ORO	46	39	55	41	49



Resultados radiológicos cuantitativos.

La densitometría ósea mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) a las 12 semanas de evolución, de ambos grupos experimentales (A y B) respecto del control Σ , siendo la toma preoperatoria el valor de referencia para cada grupo experimental. Determinando que el Titanio obtuvo una media más alta (45.6 ± 47.6) en ambos grupos experimentales.

Resultados radiológicos descriptivos:

Conejo "A" se observa un aumento aparente de la densidad ósea principalmente en Zr, Ti y aleaciones de Ti (NiTi y TiN) durante la progresión del estudio; es decir a los 15, 30, 60 y 90 días. (Ver figuras y tablas)

Se observa que la radiotransparencia en las imágenes del tipo positivo, en la periferia del implante podemos ver la transición hacia una

radiopacidad, lo cual nos sugiere una aposición de materia orgánica mineral y por principio formación de hueso fibroreticular.

En el Conejo "B" se observa conforme a el avance de días, un aumento de la radiopacidad en la periferia de los implantes sugiriendo actividad de formación ósea; cabe mencionar que se muestra en la imagen de escala RGB tipo sondeo gamma que el implante de Ti parece ser el más propicio, a partir de la nivelación equilibrada de densidades estructurales, mostrándose uniforme respecto de los tejidos óseos adyacentes.

2. ANÁLISIS BIOQUÍMICO

En las determinaciones bioquímicas se observó un aumento significativo ($p < 0.05$) en las concentraciones de calcio sérico (Ca^{+}) a los 30 y 60 días; estos valores disminuyeron hacia los 90 días del acto quirúrgico (**gráfico 5**). Esta expresión bioquímica fue observada en ambos conejos. Aunque cabe señalar que el conejo "A" (sometido a laserterapia) mostró aumento significativo respecto el conejo "B" (ozonoterapia).

En relación con la Osteocalcina (Gla), también existió un aumento significativo durante el periodo de cicatrización periimplantaria en el conejo sometido a laserterapia, mientras que el conejo que se le indico ozono fue mostrando un descenso respectivamente a partir de la segunda muestra sérica (**gráfico 4**).

La fosfatasa alcalina aumentó significativamente ($p < 0.01$) en ambos biomodelos alcanzando el *zenith* a los 60 días y que fue disminuyendo a los 90 días (**gráfico 3**). En todos los parámetros bioquímicos se observó una tendencia similar aunque siendo más notable en el conejo "A" (**tablas 9 y 10**)

CONEJO A	PreQx 0 día	PostQx 30 días	PostQx 60 días	PostQx 90 días
FOSFATASA ALCALINA U/L	40 ± 150	86.67	108.38	92.94
OSTEOCALCINA ng/ml	8.4 ± 10.2	18.91	16.21	14.38
CALCIO mg/dl	1.12 ± 3.3	3.19	3.73	4.0

Tabla 9. Valores Bioquímicos expresados en el conejo sometido a laserterapia.

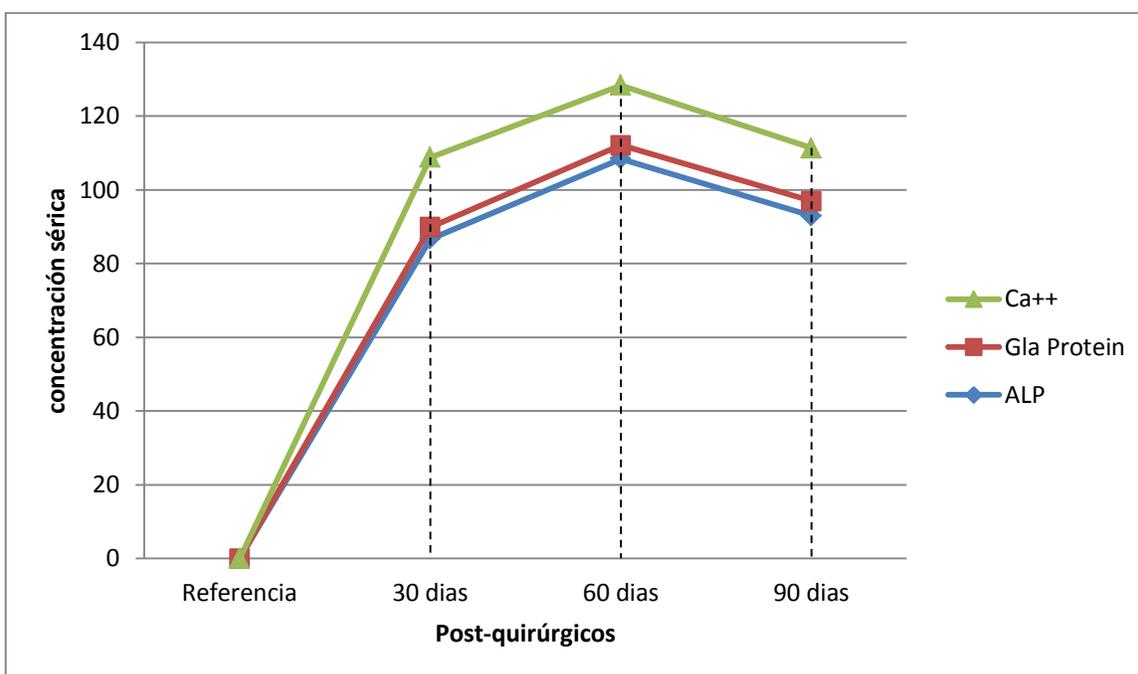


GRAFICO 1. Actividad de los marcadores de la reparación ósea expresados en el conejo "A"

CONEJO B	PreQx 0 día	PostQx 30 días	PostQx 60 días	PostQx 90 días
FOSFATASA ALCALINA U/L	40 ± 150	67.79	50.17	17.73
OSTEOCALCINA ng/ml	8.4 ± 10.2	16.21	11.67	12.34
CALCIO mg/dl	1.12 ± 3.3	3.13	2.20	1.3

Tabla 10. Valores Bioquímicos expresados en el conejo sometido a Ozonoterapia.

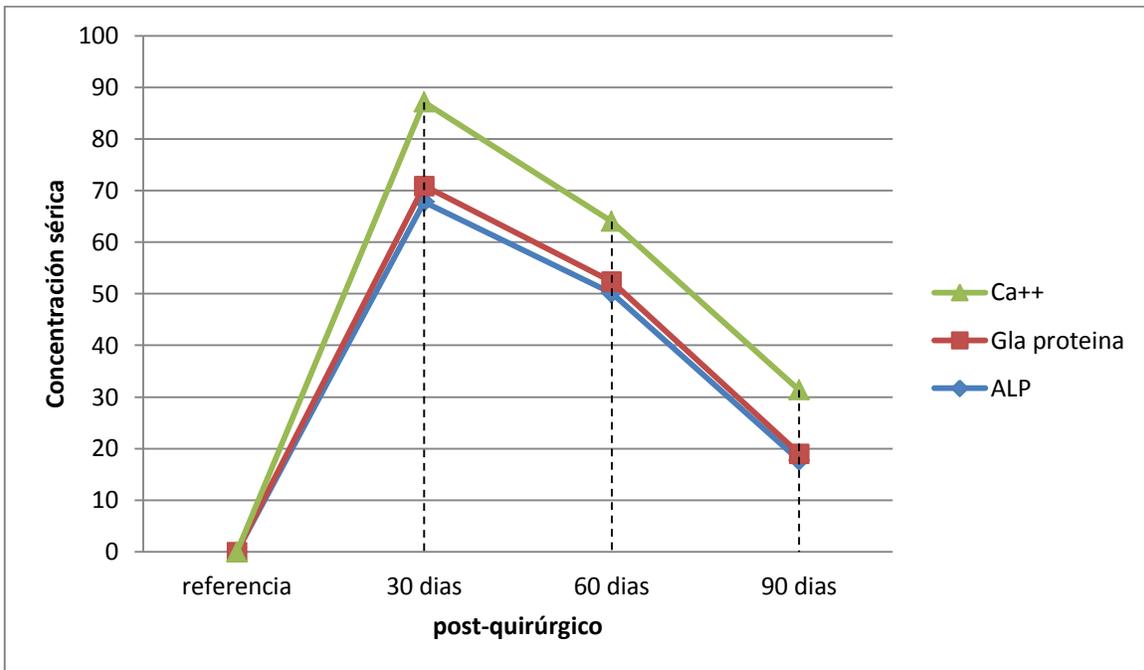


GRAFICO 2. Actividad de los marcadores de la reparación ósea expresados en el conejo "B"

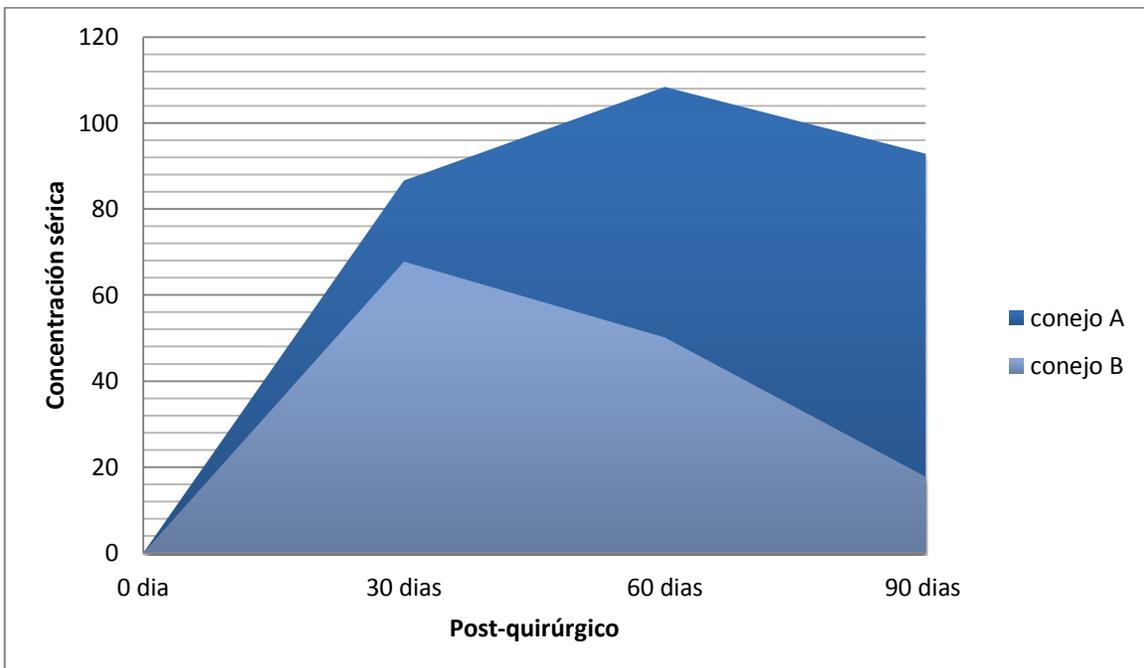


GRAFICO 3. Comparativo entre la actividad de la fosfatasa alcalina expresados en el conejo "A" respecto conejo "B"

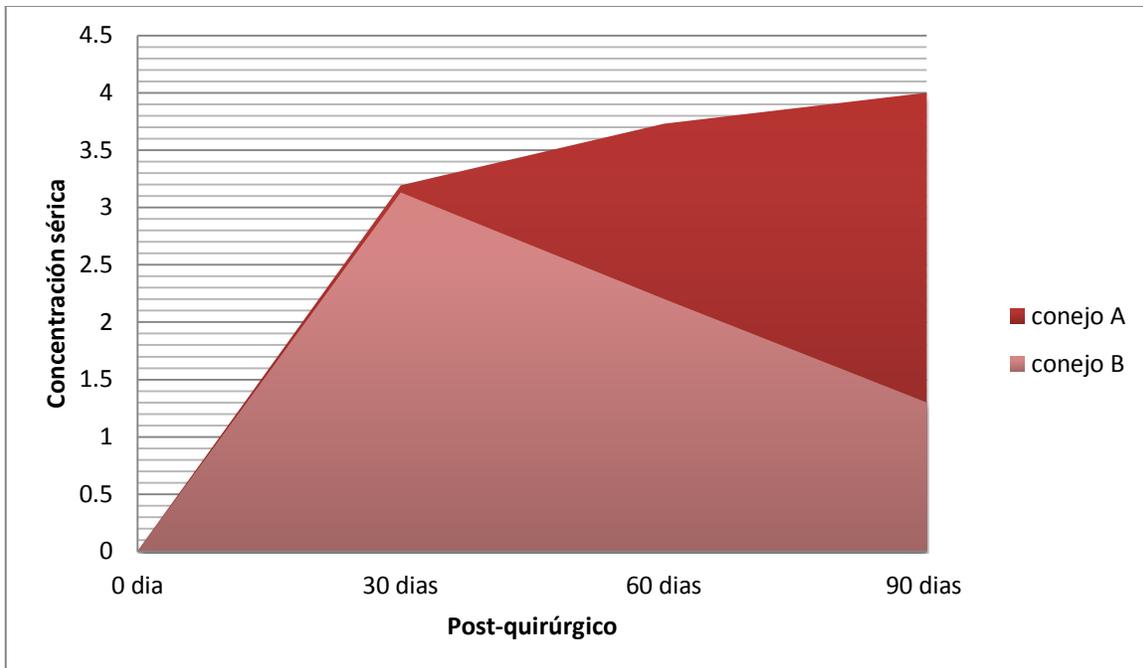


GRAFICO 4. Comparativo entre la actividad de la osteocalcina expresada en el conejo "A" respecto conejo "B"

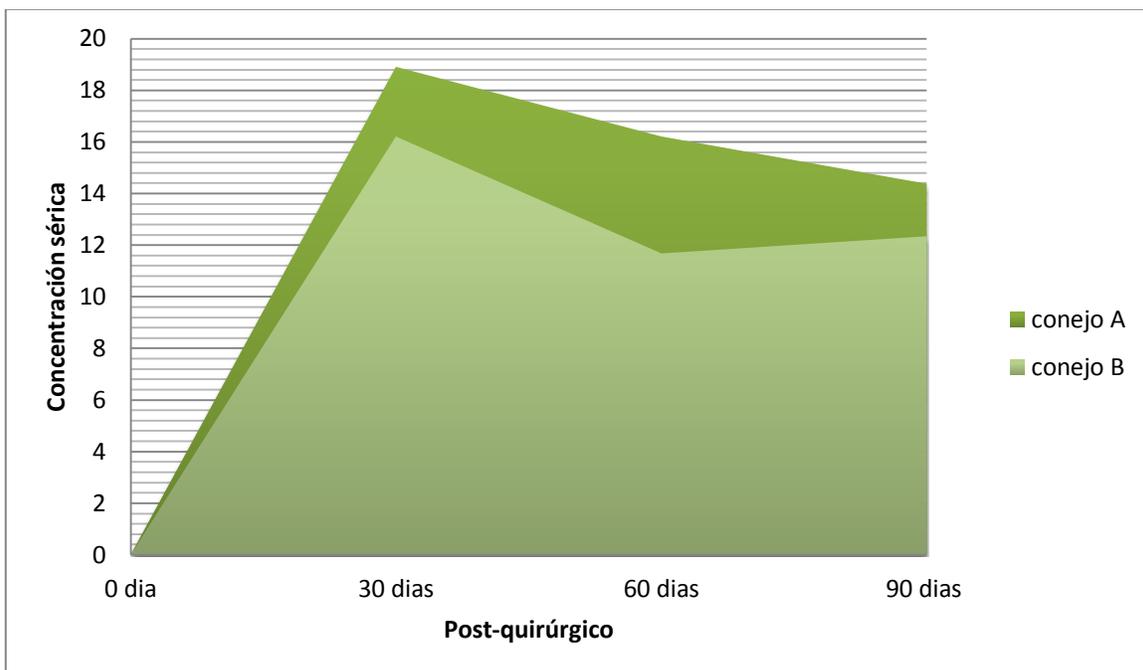


GRAFICO 5. Comparativo entre la actividad del Calcio expresado en el conejo "A" respecto conejo "B"

3. ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA

Se pudo visualizar en los cortes macroscópicos de ambas tibias donde se encontraban los grupos de implantes, formación de tejido óseo (trabecular y medular) alrededor del implante, sin embargo en los cortes realizados a la tibia del conejo A que fue tratada con el láser, se observa un mayor contacto del tejido óseo alrededor de todo el implante de titanio.

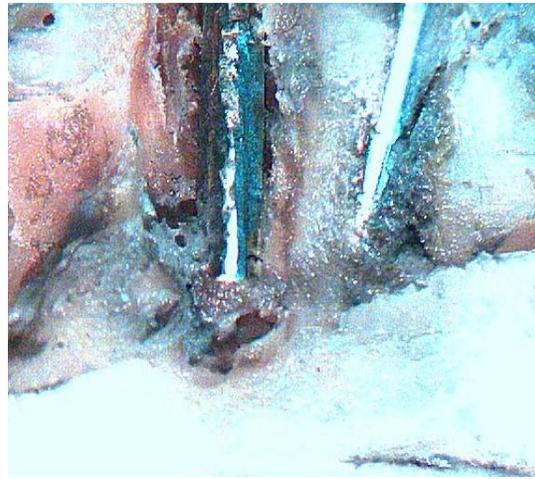
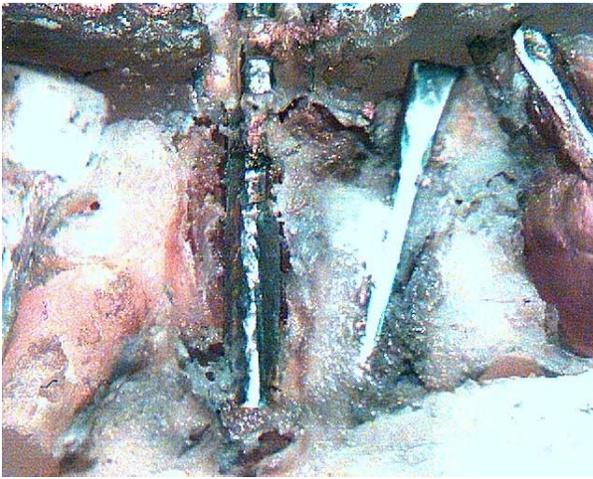
Cabe señalar, que el Zirconio y el Titanio de ambos conejos, mostraron clínicamente una mayor Osteoinducción ya que presentaban tejido óseo de neoformación envolviendo la parte del implante que se hallaba en contacto con el tejido medular y además en el conejo B (el implante de zirconio se observa mayor vascularización, lo cual podría estar indicando un proceso de neo formación de vasos a partir de los existentes lo cual favorece la expansión ósea y a su vez reparación ósea.



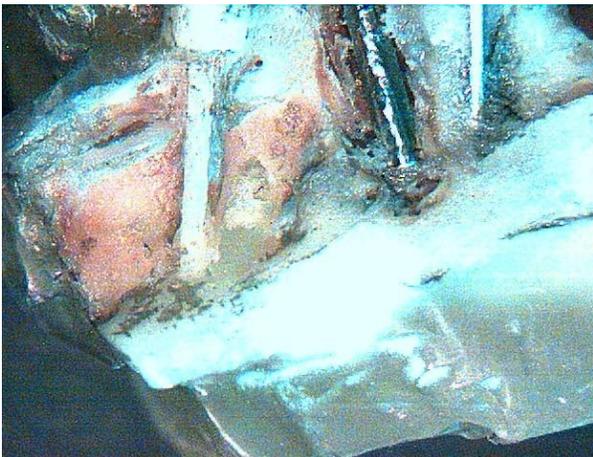
Figuras 60a y b. Titanio A. microfotografía de estereomicroscopía: se puede apreciar la integración que tuvo el biomaterial con los tejidos neoformados



Figuras 61a y b. Zirconio A. microfotografía de estereomicroscopía: se puede apreciar la integración que tuvo el biomaterial con los tejidos neoformados.



Figuras 62a y b. Titanio B. microfotografía de estereomicroscopía: se puede apreciar la integración a tejidos neoformados pero llama la atención en la zona apical del implante tejido óseo perfectamente osteointegrado en zona del canal medular.



Figuras 63a y b. Zirconio B. microfotografía de estereomicroscopía: se puede apreciar la integración que tuvo el biomaterial con los tejidos neoformados.



Figuras 64a y b. NiTi B. microfotografía de estereomicroscopía: se puede apreciar la integración que tuvo el biomaterial con los tejidos neoformados.



Figuras 65a y b. TiN B. microfotografía de estereomicroscopía: se puede apreciar la integración que tuvo el biomaterial con los tejidos neoformados.



Figuras 66 a y b. Oro B. microfotografía de estereomicroscopía: se puede apreciar la integración que tuvo el biomaterial con los tejidos neoformados.

Una vez obtenidas las microfotografías de microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-6380LV) y las laminillas obtenidas de las biopsias de tejido periimplantario, se identificaron los tipos de tejidos que se formaron alrededor del implante y se les asignó la puntuación de acuerdo a tres parámetros histológicos, siguiendo el modelo propuesto por Heiple²⁹⁵

Grado de madurez ósea

0. Ausente.
1. Presencia de células indiferenciadas.
2. Proliferación y diferenciación de las células indiferenciadas a células formadoras de hueso.
3. Presencia de islotes aislados de hueso inmaduro.
4. Espículas óseas uniendo los islotes de hueso inmaduro conformando un patrón heterogéneo.
5. Hueso maduro compacto.

Continuidad del biomaterial-hueso normal (unión ósea)

0. Ausencia de formación ósea en el reborde del material.
1. Escasa formación ósea.
2. Moderada formación ósea; 1/3 del material sin relleno óseo.
3. Elevada formación ósea; 2/3 del material sin relleno óseo.
4. formación ósea casi total sobre el biomaterial (mayor de 2/3 del defecto).
5. Continuidad del biomaterial con el hueso normal del 100%.

Formación ósea periférica

0. Ausente.
1. Escasa.
2. Moderada.
3. Elevada.

Solo el parámetro de grado de madurez incluía doble puntaje debido a que se tomó en cuenta las muestras de periostio (tejido periimplantario superficial) de cada implante y el tejido neoformado directo sobre el implante.

GRUPO A: tejido irradiado con terapia Laser durante 12 sesiones (3 meses)

-TITANIO (Ti) No se observa hueso solo se observan fibras de colágeno pero hay presencia de células en proceso de diferenciación. (FIGURA 67)

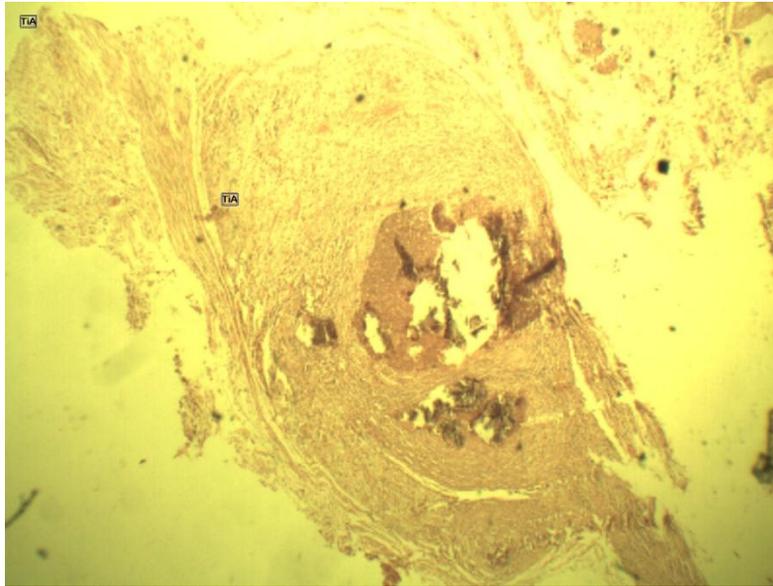


Figura 67. Laminilla histopatológica del tejido periimplantario formado alrededor del implante de Titanio grado V.

-ZIRCONIO (Zr) Se observa la presencia de fibras de colágeno con algunos fragmentos de hueso en fase de maduración. (fig. 68)

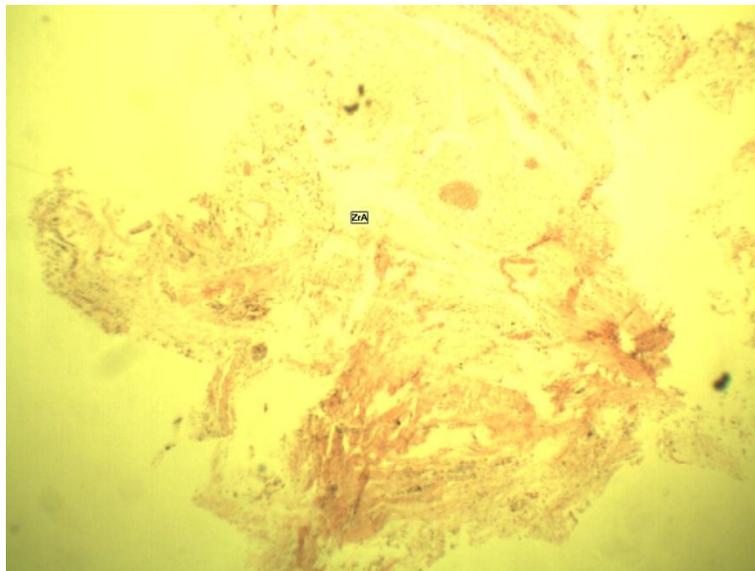


Figura 68. Laminilla histopatológica del tejido periimplantario formado alrededor del implante de Zirconio.

-NIQUEL- TITANIO (NITi) Se observa la presencia de fibras de colágeno con algunos fragmentos de hueso inmaduro. (fig. 69)

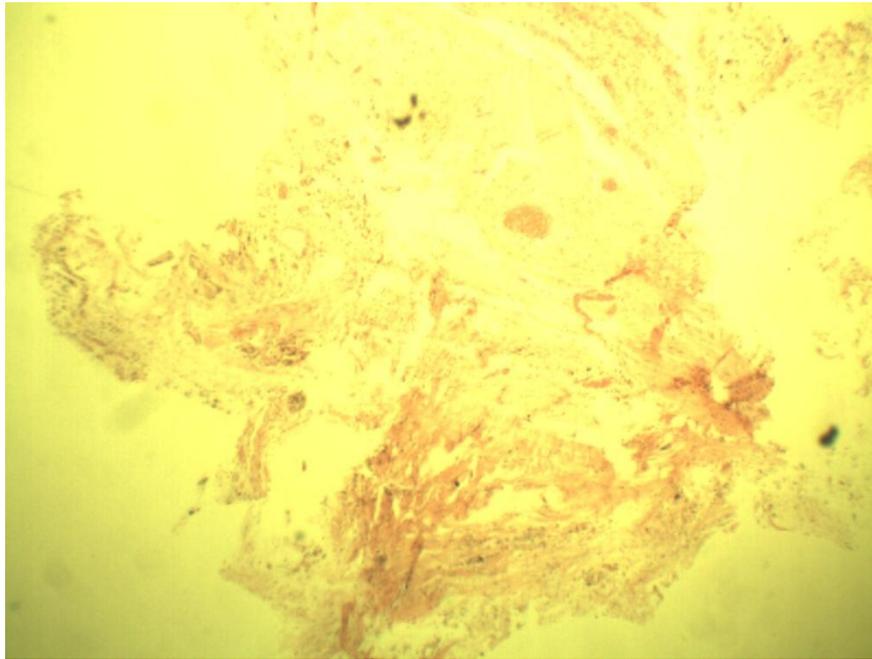
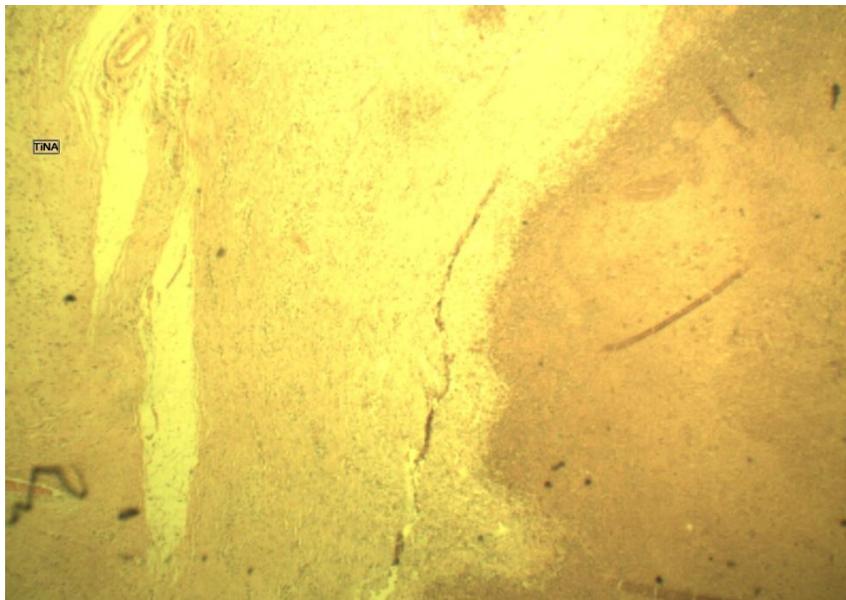


Figura 69. Laminilla histopatológica del tejido periimplantario formado alrededor del implante NiTi que fue retirado una vez que fue excluido antes de 30 días.

-NITRURO DE TI (TiN) Se observa la presencia de fibras de colágeno, con un centro hematopoyético, y con presencia de islotes aislados de hueso inmaduro. (fig. 70)



-ORO (Au) Se observan fibras de colágeno con presencias de células indiferenciadas (poco tejido). (fig. 71)

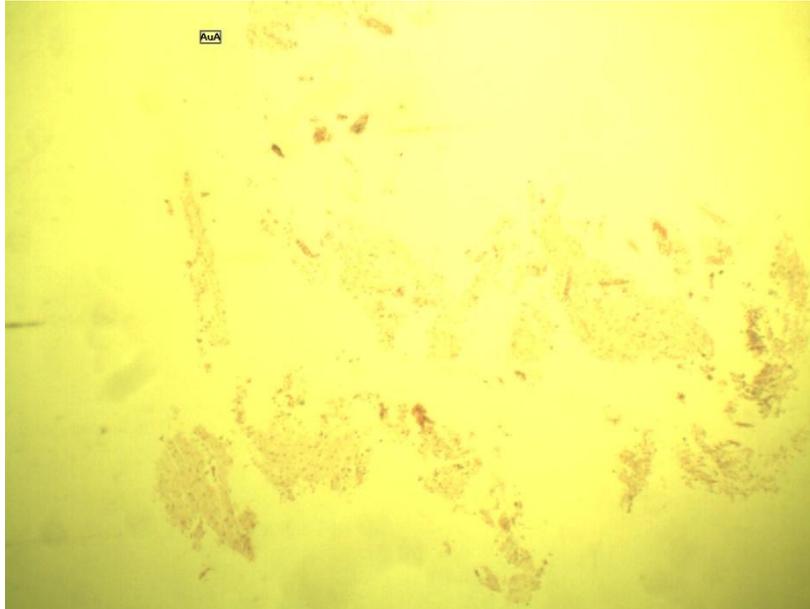


Figura 71. Laminilla histopatológica del tejido periimplantario formado alrededor del implante Oro que fue retirado una vez que fue excluido antes de 15 días.

TABLA 11. PUNTUACION DE ESCALA DE HEIPLE EN CONEJO A (LASER)

CONEJO A	Grado madurez Ósea	Unión Ósea	Formació n Ósea Periférica
TITANIO	1 5	4	2
ZIRCONIO	1 4	3	1
NITI	1 0	0	1
NITRURO Ti	3 0	0	1
ORO	2 0	0	0

GRUPO B: tejido bioestimulado con ozono durante 12 sesiones (3 meses)

TITANIO (Ti) Se observan fibras de colágeno y la presencia de células indiferenciadas a células formadoras de hueso inmaduro. (fig. 72)

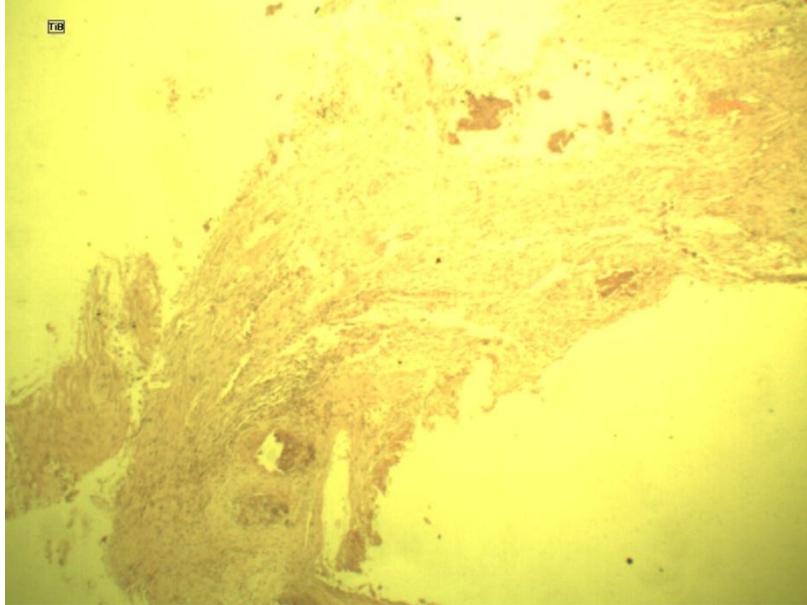


Figura 72. Laminilla histopatológica del tejido periimplantario formado alrededor del implante de Titanio grado V.

ZIRCONIO (Zr) Se observa la presencia de fibras de colágeno con algunos fragmentos de hueso en fase de maduración. (fig. 73)

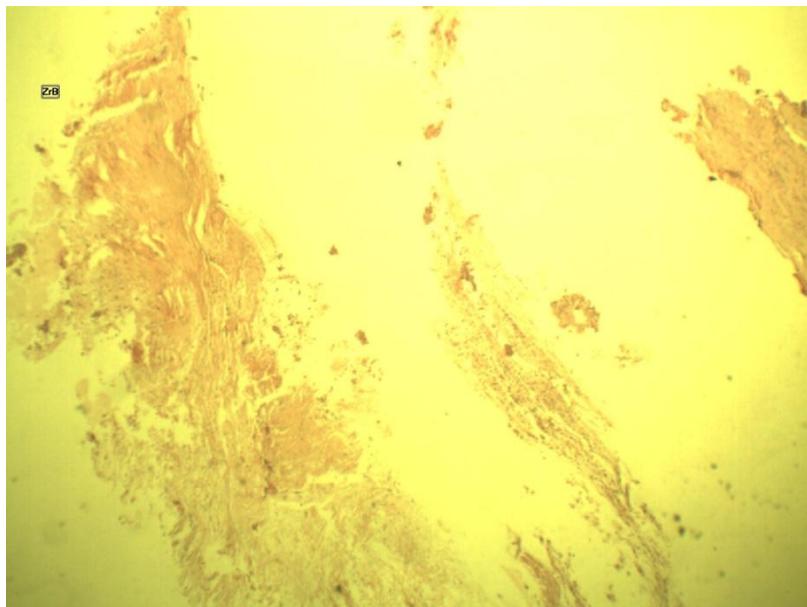


Figura 73. Laminilla histopatológica del tejido periimplantario formado alrededor del implante de Zirconio.

NIQUEL- TITANIO (NITi) Se observa la presencia de fibras de colágeno con algunos fragmentos de hueso inmaduro. (fig. 74)

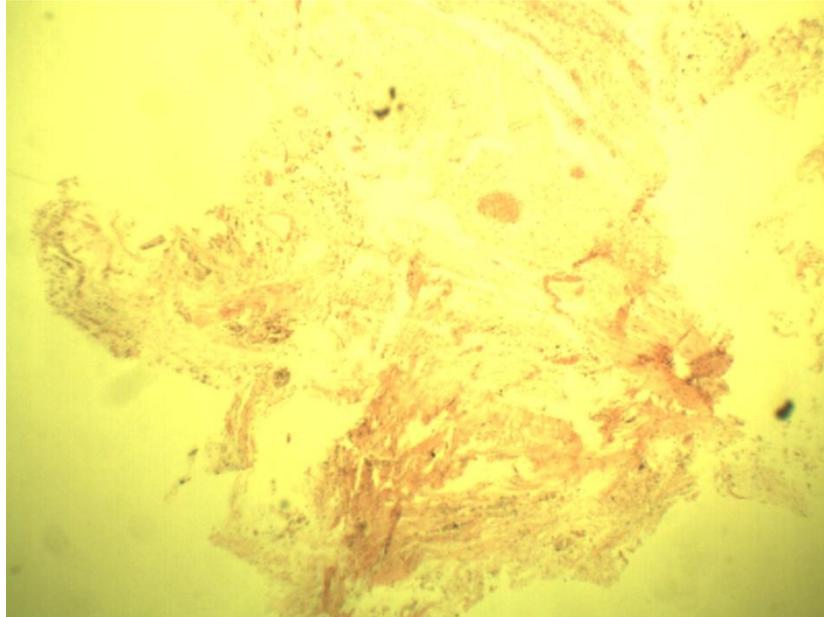


Figura 74. Laminilla histopatológica del tejido periimplantario formado alrededor del implante de NiTi.

NITRURO DE TI (TiN) Se observan fibras de colágeno con presencias de fragmentos de hueso maduro. (fig. 75)

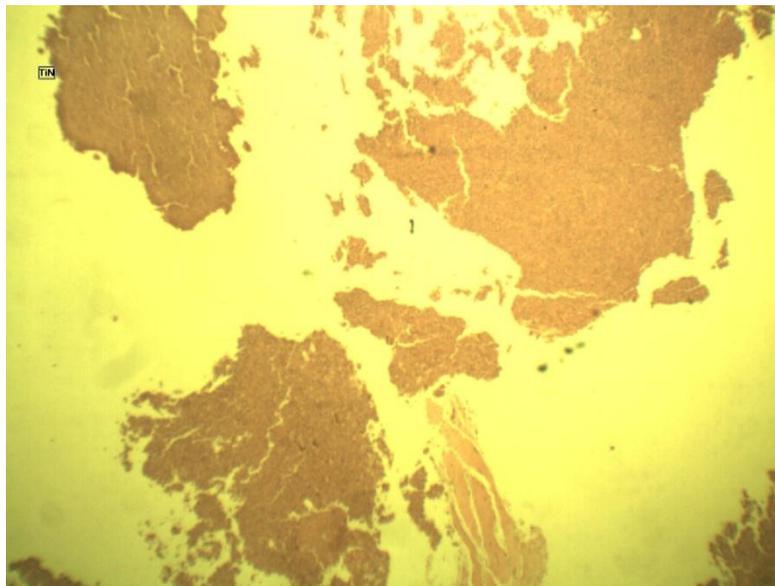


Figura 75. Laminilla histopatológica del tejido periimplantario formado alrededor del implante de TiN.

ORO (Au) Se observa fibras de colágeno y la presencia de células indiferenciadas a células formadoras de hueso inmaduro. (fig. 76)

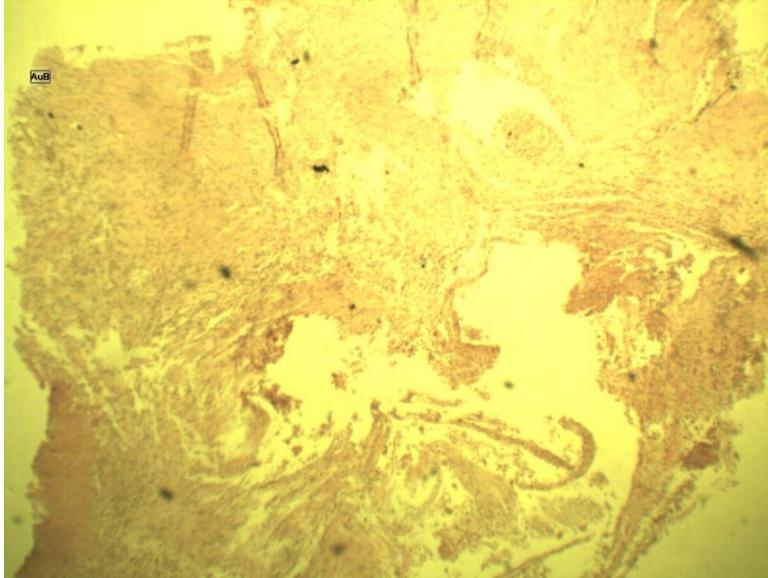


Figura 76. Laminilla histopatológica del tejido periimplantario formado alrededor del implante de Oro.

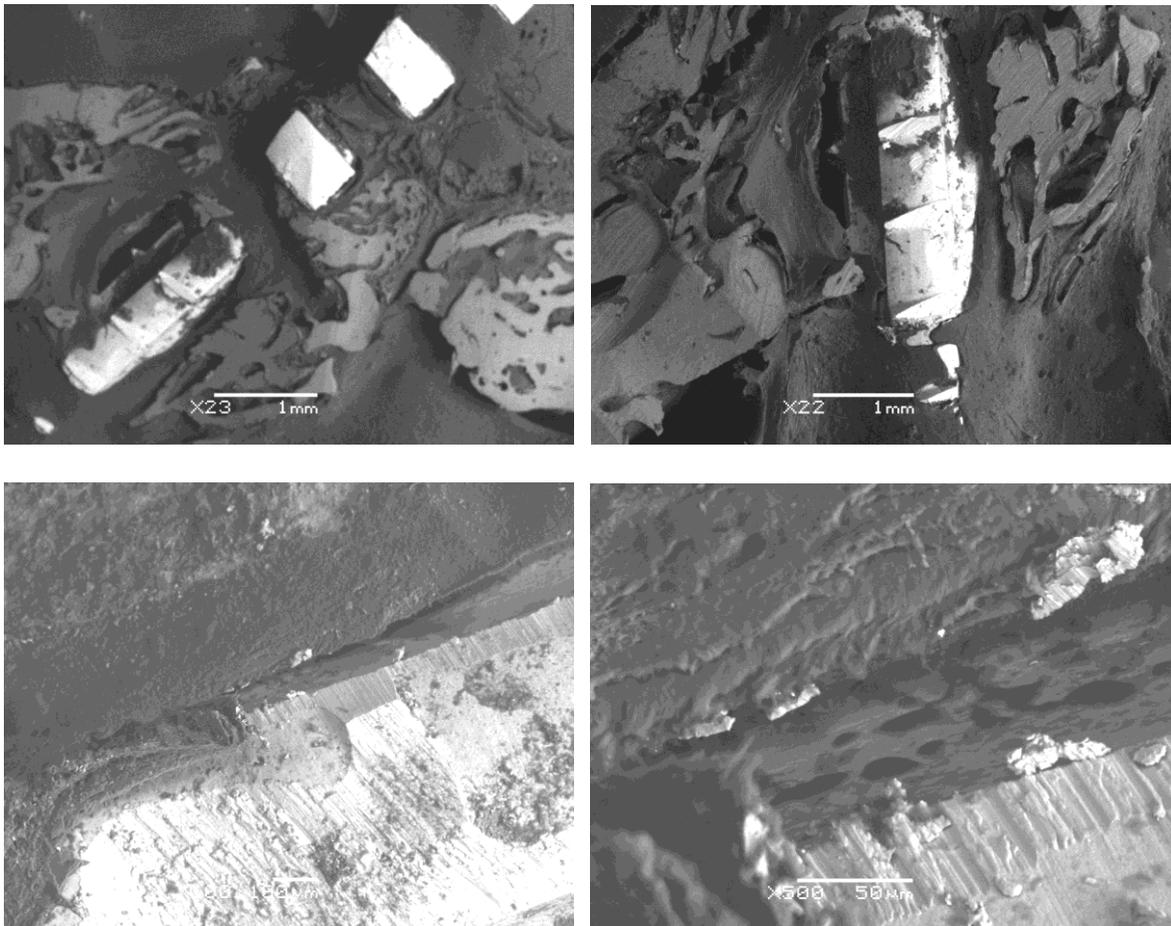
TABLA 12. PUNTUACION DE ESCALA DE HEIPLE EN CONEJO B (OZONO)

CONEJO B	Grado madurez Ósea	Unión Ósea	Formación Ósea Periférica
TITANIO	2 5	3	2
ZIRCONIO	2 5	2	2
NITI	1 5	3	1
NITRURO Ti	3 5	3	1
ORO	2 5	2	1

4. PORCENTAJE DE CONTACTO ÓSEO

Los estudios ultra estructurales se realizaron con el microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-6380LV) para hacer la caracterización topográfica y morfológica de la interfase hueso implante, mediante imágenes de alta y baja resolución, además se realizó un microanálisis químico elemental semicuantitativo (estequiometría) con el fin de obtener la cantidad relativa de carbono (C), fósforo (P), calcio (Ca) y titanio (Ti). Y de esta forma obteníamos el porcentaje de hueso formado sobre la superficie del biomaterial (ver ANEXOS).

MICROFOTOGRAFIA MEB DEL TITANIO IMPLANTADO EN LA CORTICAL OSEA DEL CONEJO "A"

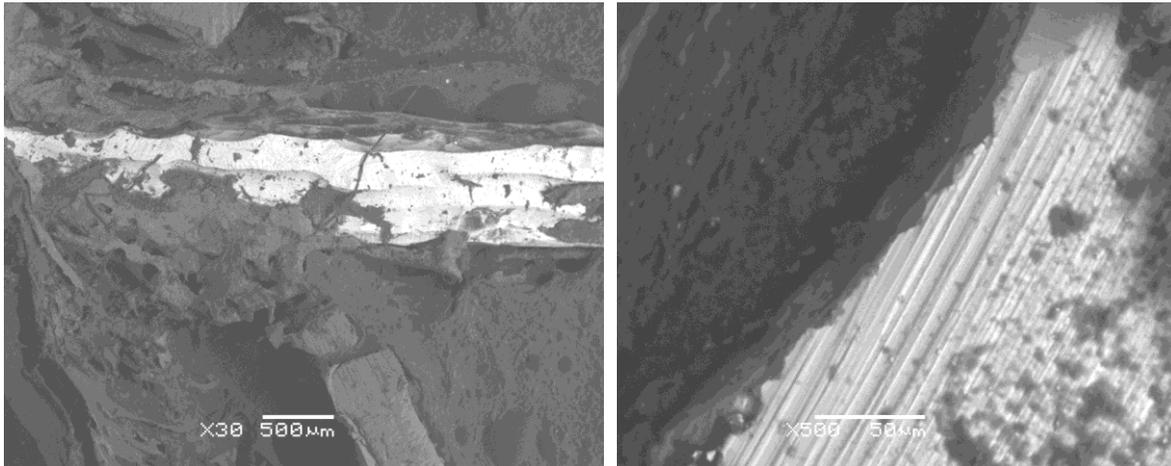


Figuras 77 ABCD. Se observan estas formaciones trabeculares, muy delgadas, constituidas por tejido condroide, que presenta su aspecto característico de un tejido fuertemente calcificado, con una matriz escasa, irregular y en ocasiones

surcada de estrías que corresponden a la inserción de fibras colágenas. Las lagunas celulares de este tejido son grandes, irregulares y confluentes. Se aprecia el aspecto del hueso fibrorreticular, más regular, con una matriz extracelular menos calcificada y con lagunas celulares no excesivamente grandes, poligonales y aisladas, situado sobre las trabéculas de Tejido Condroide preexistentes.

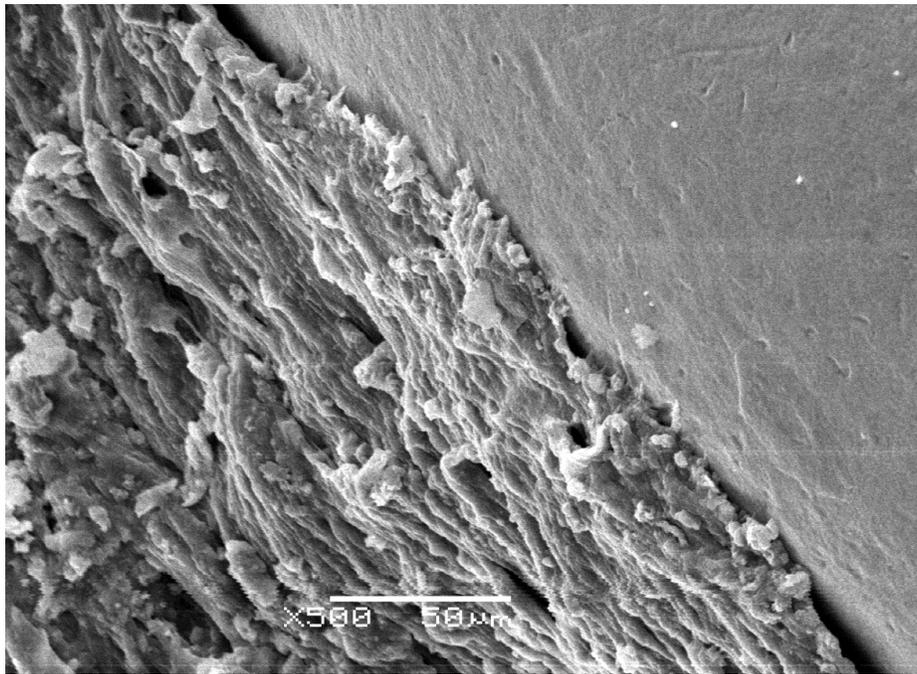
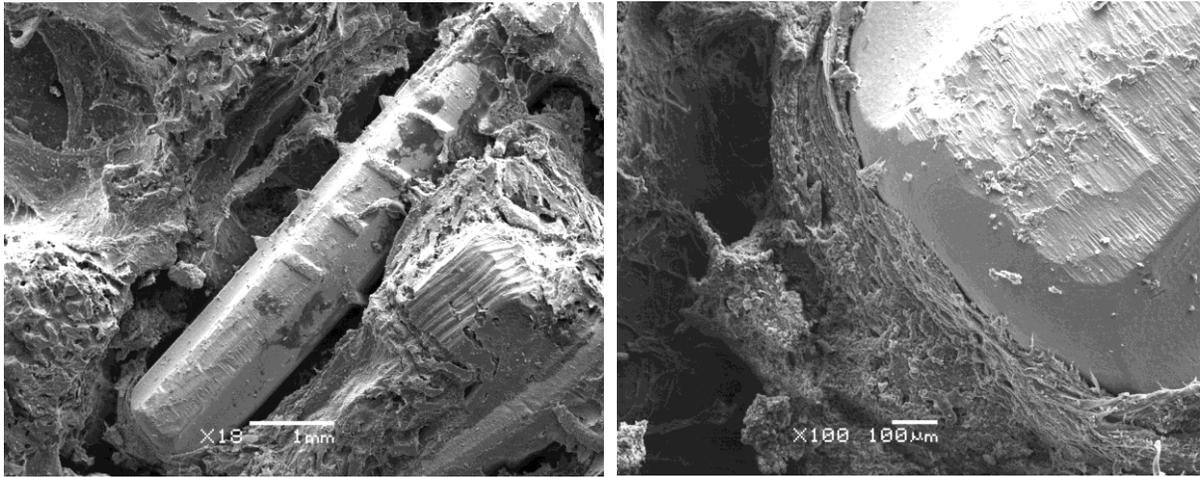
Las muestras irradiadas evidencian la formación de tejido óseo compacto y de armaduras óseas mineralizadas con señales de neoformación y de reabsorción indicando claramente el efecto del laser.

MICROFOTOGRAFIA MEB DEL ZIRCONIO IMPLANTADO EN LA CORTICAL OSEA DEL CONEJO "A"



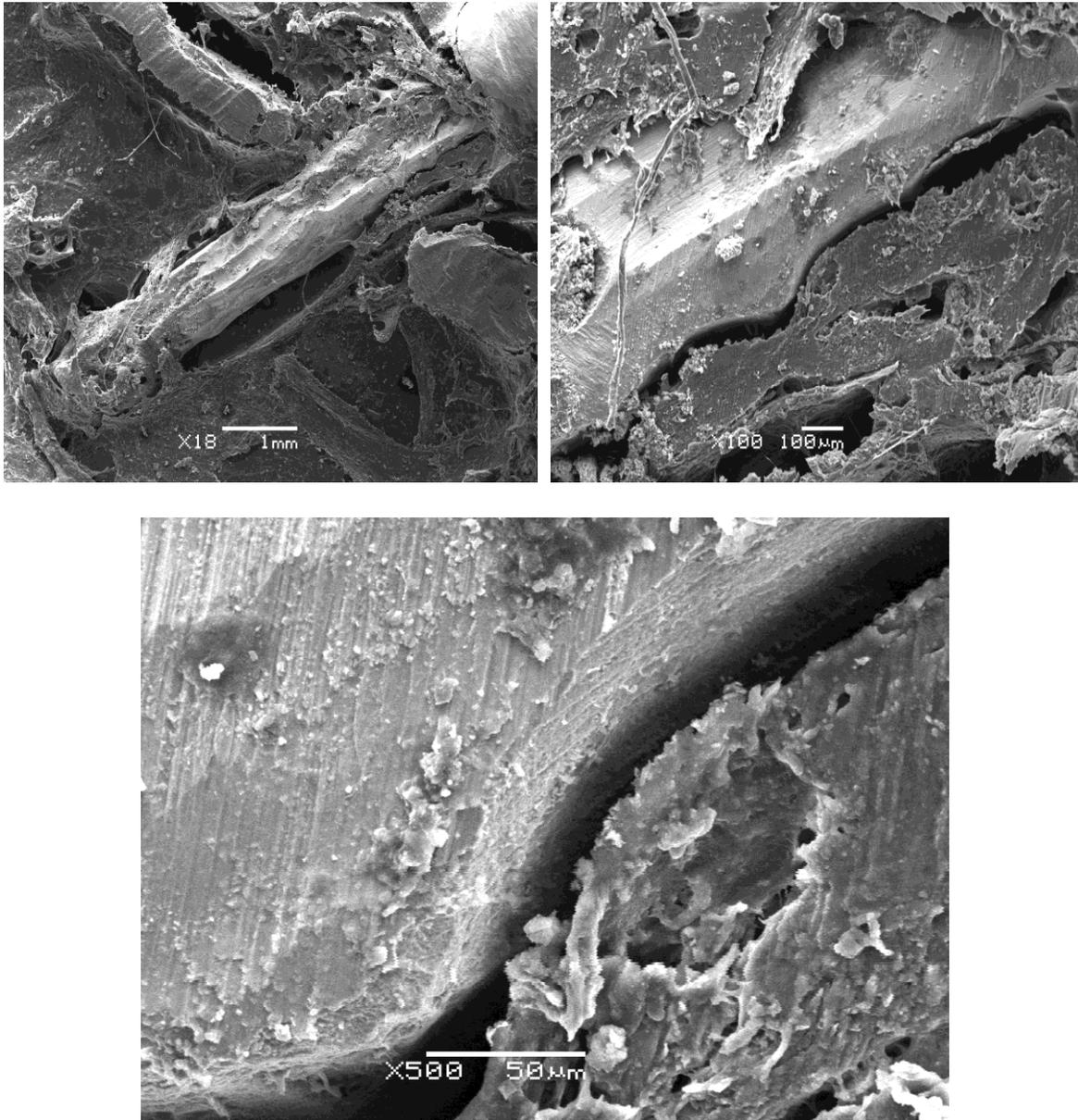
Figuras 78 AB. La interfase hueso-implante en tibia de conejos muestra evidencia de la formación de tejido óseo compacto y de armaduras óseas mineralizadas con señales de neoformación, indicando claramente el efecto del láser en los cortes analizados por microscopia de barrido. La diferente orientación del hueso fibrorreticular, visibles en las está relacionada con la diferente osteoconductividad del implante de Zirconio.

MICROFOTOGRAFIA MEB DEL TITANIO IMPLANTADO EN LA CORTICAL OSEA
DEL CONEJO "B"



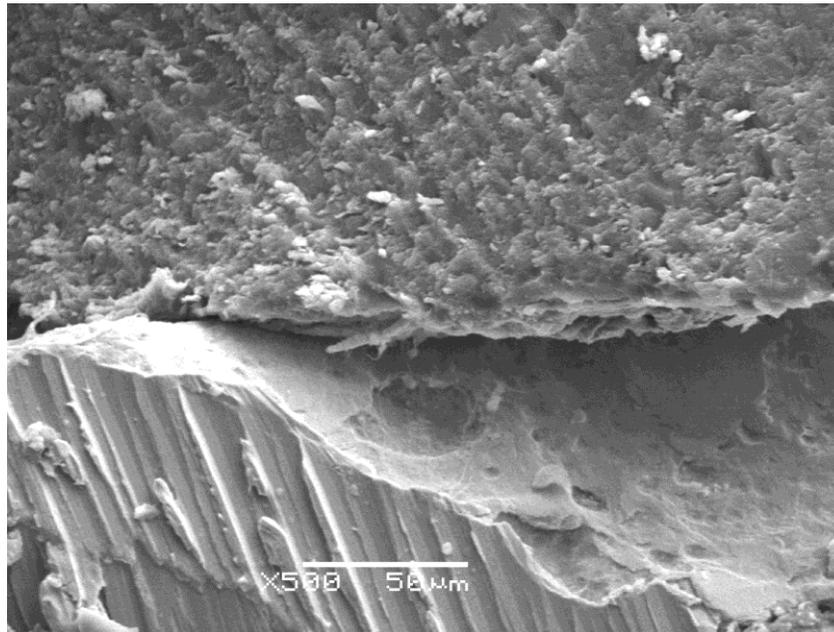
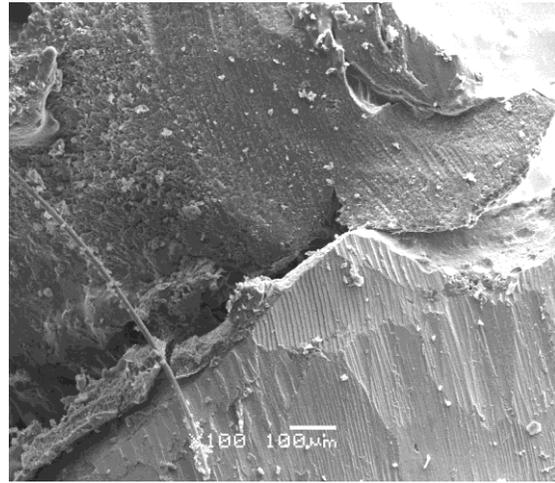
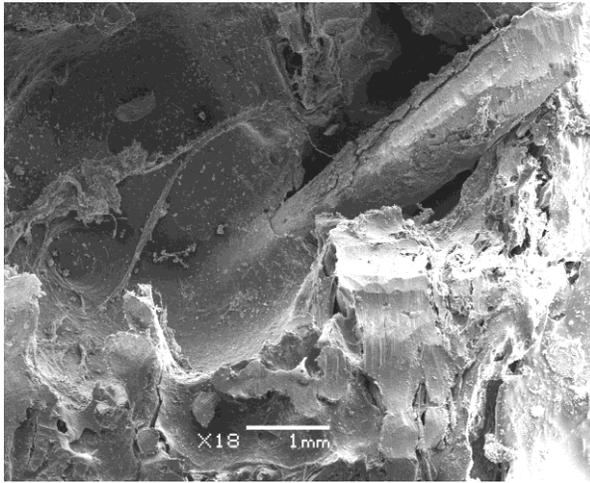
Figuras 79 ABC. La aposición de hueso laminar, que se deposita en un plano paralelo al de la interfaz hueso-implante, por lo tanto orientada en perpendicular a las osteonas de la cortical ósea preexistente, tal y como se observa en la imagen.

MICROFOTOGRAFIA MEB DEL ZIRCONIO IMPLANTADO EN LA CORTICAL
OSEA DEL CONEJO "B"



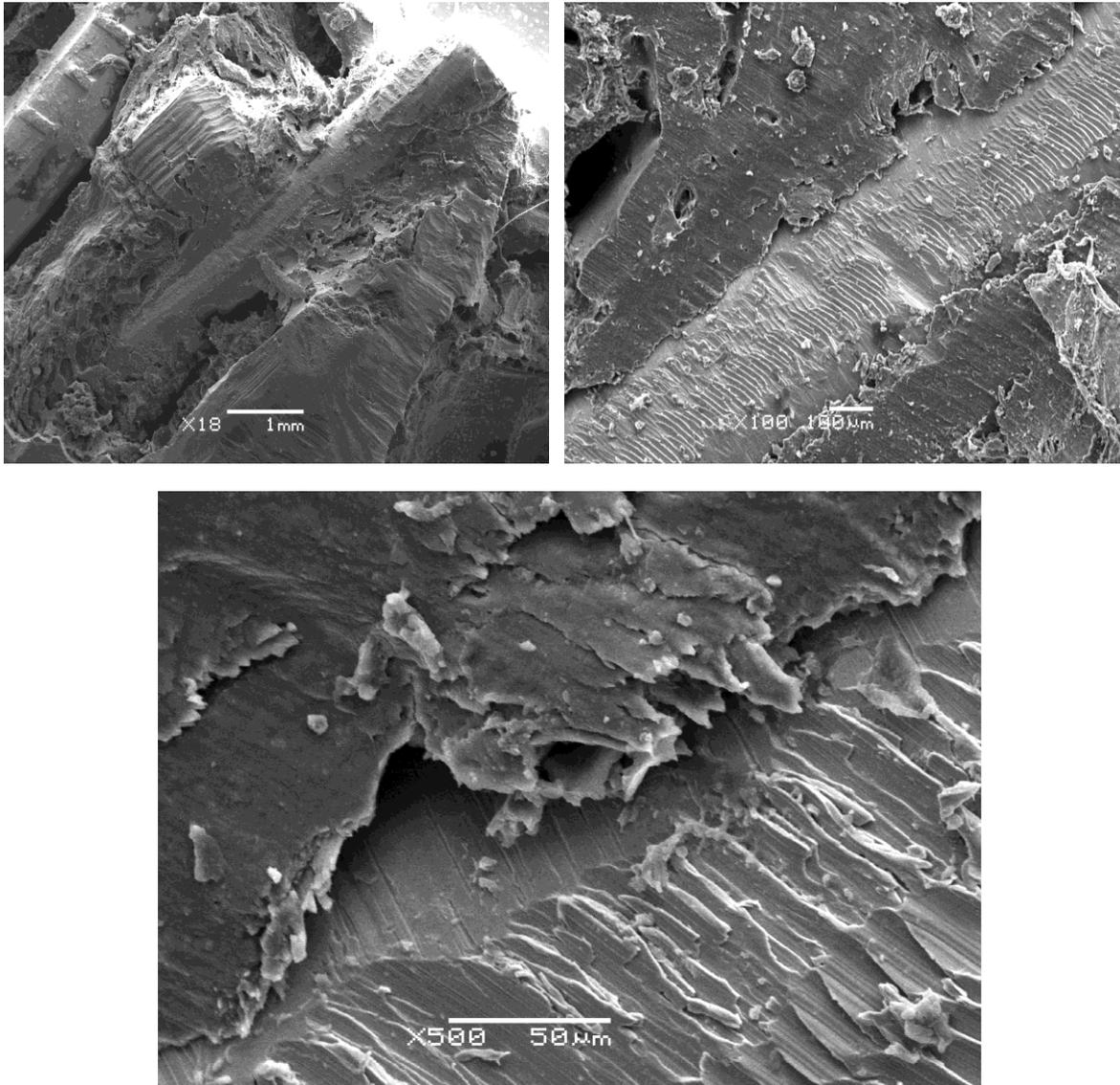
Figuras 80 ABC. Una vez se produce la oseointegración y la estabilización del implante, se reanudan los procesos naturales de remodelación ósea, y la cortical ósea experimenta la última y definitiva fase de diferenciación, con la formación de hueso corticalizado, como el que observamos en la imagen.

MICROFOTOGRAFIA MEB DEL NITI IMPLANTADO EN LA CORTICAL OSEA DEL CONEJO "B"



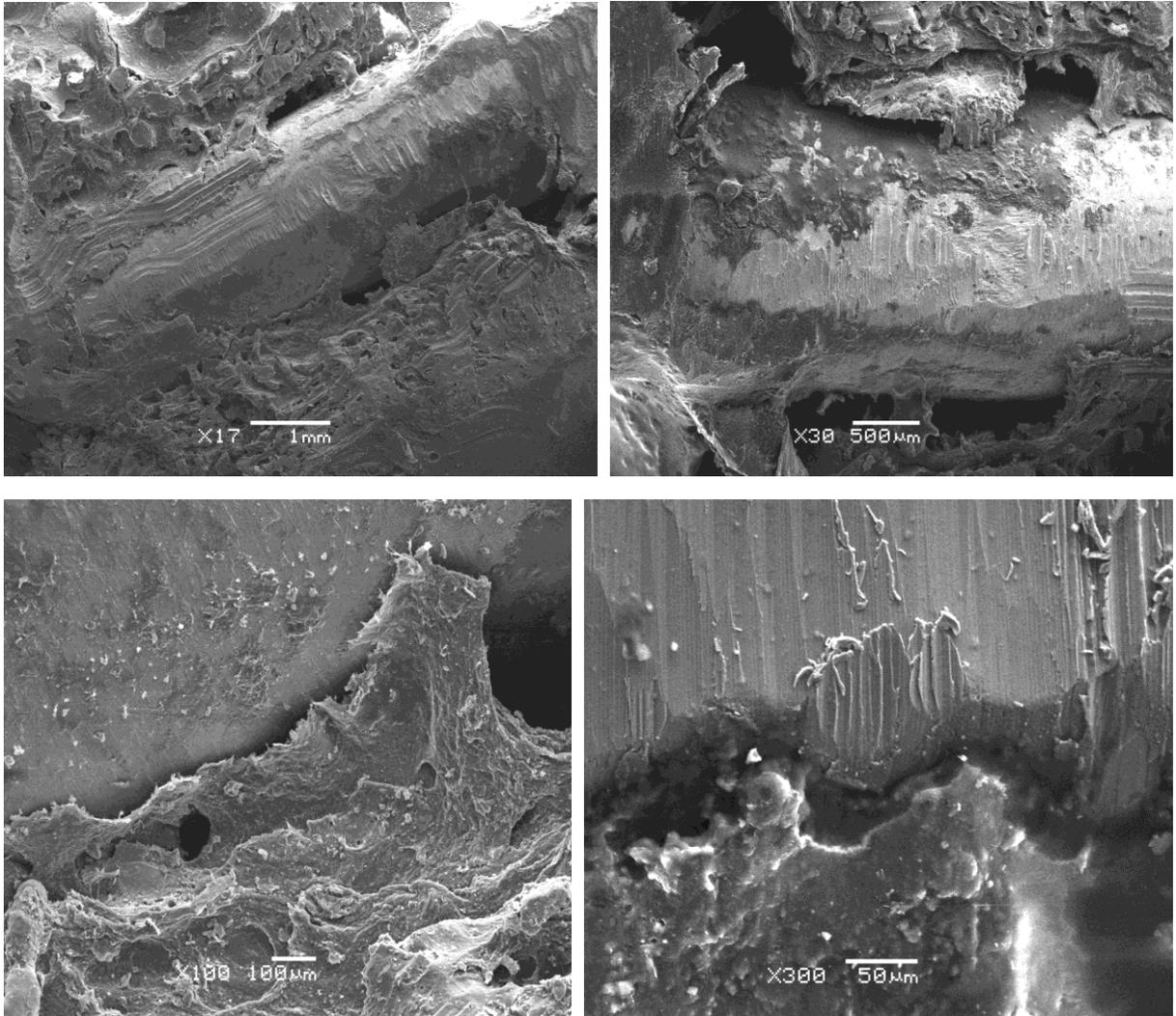
Figuras 81 ABC. El hueso fibroreticular, cuya calcificación es más lineal, contribuye a estabilizar el callo periimplantario, aunque sus propiedades mecánicas no le permitan soportar las fuerzas del mismo modo que el hueso laminar. En la imagen observamos la aposición de hueso laminar.

MICROFOTOGRAFIA MEB DEL ORO IMPLANTADO EN LA CORTICAL OSEA DEL CONEJO "B"



Figuras 82 ABC. Se observa claramente la oseointegración, por la presencia de tejido mineralizado a lo largo de una parte significativa de su perímetro externo, los detalles de microscopia electrónica demuestran una diferencia ultra estructural.

MICROFOTOGRAFIA MEB DEL NITRURO DE TITANIO IMPLANTADO EN LA CORTICAL OSEA DEL CONEJO "B"



Figuras 83 ABCD. La fase final de la oseointegración comprende la remodelación tanto de la interfaz hueso-implante, de la cortical preexistente como del callo subperióstico, como puede verse en la figura.

TABLA 13. Porcentaje de contacto hueso-implante para el conejo A (LASER)

CONEJO A	% contacto Hueso Implante
TITANIO	69.46
ZIRCONIO	47.76
NITI	N/A
NITRURO Tí	N/A
ORO	N/A

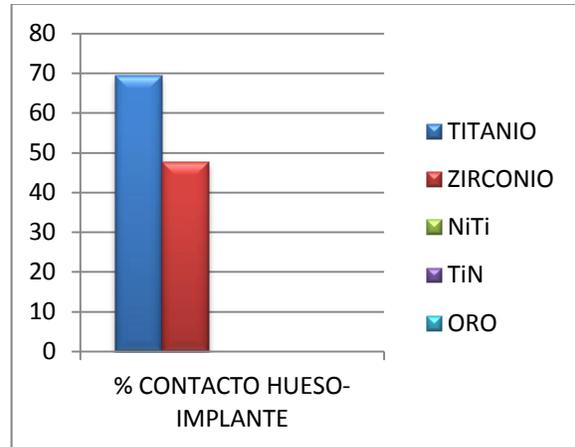


Grafico 6. Expresa los niveles de porcentaje contacto hueso-implante para el conejo A (LASER)

TABLA 14. Porcentaje de contacto hueso-implante para el conejo B (OZONO)

CONEJO B	% contacto Hueso Implante
TITANIO	45.38
ZIRCONIO	25.06
NITI	43.94
NITRURO Tí	39.75
ORO	21.54

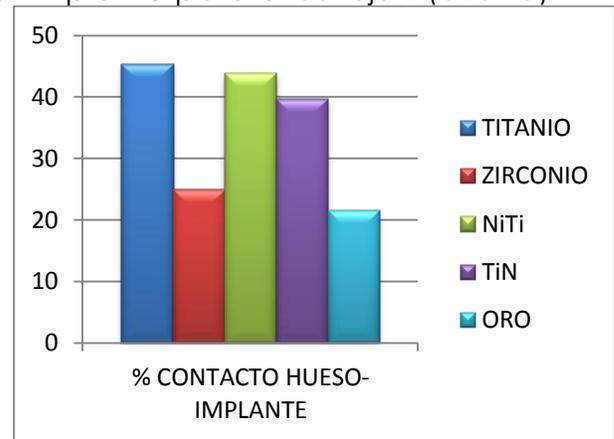


Grafico 7. Expresa los niveles de porcentaje contacto hueso-implante para el conejo B (OZONO)

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó mediante el software estadístico SPSS para Windows. Cada parámetro fue estudiado según descriptores estadísticos básicos, utilizando medidas de tendencia central y de dispersión. Finalmente se correlacionaron los datos de los diferentes análisis en una prueba ANOVA de un factor. En los test estadísticos usados para contrastar hipótesis el nivel de significación estadística elegido fue el 5%.

A los 90 días de evolución, aparecen diferencias significativas ($p < 0,01$) en los biomateriales del grupo A (Laser): Titanio y Zirconio con respecto al grupo B (Ozono). El implante de Titanio alcanzó el mayor porcentaje de madurez ósea, unión ósea y formación periférica, en el conejo A siendo muy evidente la diferencia numérica. Todos estos datos correlacionan adecuadamente en los niveles de porcentaje de contacto hueso-implante. Y que resulto representativa en las mediciones de densidad ósea.

A continuación se presenta la correlación monofactorial en Análisis de Varianza (ANOVA) para los análisis: histomorfométrico, histológicos, radiológicos y bioquímicos.

TABLA 15. Se presentan los datos de los análisis (histomorfométrico, radiológico, bioquímico) correlacionados en ANOVA

Análisis de varianza de un factor						
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Columna 1	22	820.37	37.2895455	1725.73237		
Columna 2	22	775.67	35.2577273	1671.83661		
Columna 3	22	592.91	26.9504545	1835.5104		
Columna 4	22	706.91	32.1322727	1803.44227		
Columna 5	22	556.91	25.3140909	1863.48772		
Columna 6	22	641.42	29.1554545	1220.37163		
Columna 7	22	613.1	27.8681818	1195.3987		
Columna 8	22	637.98	28.9990909	1223.48738		
Columna 9	22	629.79	28.6268182	1205.07286		
Columna 10	22	607.58	27.6172727	1193.88669		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2867.60547	9	318.622831	0.21329361	0.99234295	1.924666
Dentro de los grupos	313702.759	210	1493.82266			
Total	316570.365	219				

XIII.

DISCUSIÓN

El proceso de oseointegración implica, del mismo modo que lo hace la cicatrización de cualquier trauma o fractura, a varios componentes estructurales de hueso, por otro lado la oseointegración es un proceso de reparación ósea que avanza siguiendo fases preprogramadas y que implica diversos tipos de tejidos a medida que va avanzando.

Durante este estudio los animales aceptaron el procedimiento quirúrgico sin complicaciones. Los materiales implantológicos fueron considerados biocompatibles y de buena tolerancia desde el punto de vista clínico, ya que no tuvieron problemas en relación a su comportamiento biológico. Los implantes, mostraron una adecuada integración en los tejidos periimplantarios, sin desplazamientos y sin tendencia al colapso. Cabe señalar la pérdida de los implantes del grupo A (oro, NiTi, TiN) suponemos que el diseño del implante ocasiono la pérdida de los mismos ya que en los estudios histopatológicos y radiográfico no muestra alguna evidencia de anti compatibilidad, pero si el desalojo del material. Además resaltamos la presencia y muy buena tolerancia clínica a los implantes de Titanio grado V y Zirconio en ambos grupos experimentales.

RESPUESTA DEL TEJIDO Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS SUPERFICIES DE LOS MATERIALES IMPLANTOLÓGICOS

Los principales hallazgos morfológicos en el presente estudio fueron que la cantidad de hueso y el grado de contacto hueso-implante fueron menor en los implantes de oro y zirconio, en comparación con el titanio y sus aleaciones.

A juzgar por las observaciones de microscopía electrónica y óptica, la morfología alrededor de los implantes de titanio y sus aleaciones fue similar. Sin embargo, las observaciones ultraestructurales mostraron que la capa de tejido en contacto los implantes de titanio fue más gruesa en comparación con los demás biomateriales, por ejemplo una capa amorfa de tejido calcificado, también estuvo presente en el contacto con el de oro, sin embargo no estaba en íntimo contacto hacia la superficie del metal y, mal mineralizada.

Comparando estos resultados con estudios anteriores encontramos lo siguiente: Albrektsson y cols³⁰³ previamente han comparado la respuesta ósea del titanio y oro, mediante el uso de implantes de polímero que habían sido recubierto por películas delgadas de estos metales. Donde se observaron diferencias cualitativamente similares entre oro y titanio como en este trabajo.

El mismo Albrektsson³⁰⁴ estudió la ultraestructura del hueso adyacente a los 6 meses después de la inserción de implantes de zirconio y titanio en la tibia de un conejo. Los autores no encontraron tejidos blandos en la interfaz, ni reacciones adversas y se llegó a la conclusión que ambos metales fueron "bien aceptados". Sin embargo, consideraron que el Titanio ofrecía una mejor biocompatibilidad frente al Zirconio debido al espesor de capa de tejido calcificado alrededor de los implantes de

Titanio. Por lo tanto, los hallazgos morfológicos en este trabajo están de acuerdo con otros estudios.

Como se señaló anteriormente, el titanio y el zirconio tienen varias características en común. Ambos son metales de transición y se encuentran en el mismo grupo en la tabla periódica de los elementos, lo que significa que tienen estructuras similares en su configuración electrónica. Sin embargo, Los resultados sugieren que el titanio y sus aleaciones (NiTi y Nitruro de Titanio) tienen un efecto positivo en la interacción con el tejido óseo.

Se observaron respuestas muy diferentes entre los implantes comparados de este estudio; el Oro inducía la formación ósea significativamente menor alrededor de los implantes y la formación de los tejidos no calcificados, en comparación con los implantes de titanio y sus aleaciones. Mientras que estos últimos, el Titanio grado V dio lugar a una mayor cantidad de contacto estructural de tejido calcificado sobre su superficie. Las diferencias observadas en la respuesta del hueso son consistentes con las similitudes y las diferencias conocidas en las propiedades físicas y químicas de la superficie entre los cinco materiales estudiados.

Un hecho notable en nuestro estudio fue que todos los materiales implantológicos lograron oseointegrarse, el fenómeno que marcó la diferencia a nivel ultraestructural fueron los tipos de tejidos calcificados que se identificaron, y que en buena medida dependieron de la terapia de bioestimulación así como del comportamiento biológico de cada biomaterial y que estos hechos finalmente redundaran en un mayor porcentaje de hueso- implante.

En nuestro trabajo, no hemos observado oseointegración completa de los biomateriales en ninguno en de los grupos experimentales a los 90 días, tan sólo se obtuvo del 60%, lo que coincide con los resultados de otros autores en relación al porcentaje de contacto hueso-implante de biomateriales implantológicos en estudios comparativos aplicados a biomodelos.³⁰⁵ En el conejo "A" se observó un aumento aparente de la densidad ósea principalmente en Zr, Ti y aleaciones de Ti durante la progresión del estudio; es decir a los 15, 30, 60 y 90 días.

Se observó que la radiotransparencia de las radiografías, en la periferia del implante se apreciaba la transición hacia una radiopacidad, lo cual nos sugiere una aposición de materia orgánica mineral menormente calcificada.

Mientras que en el conejo "B" se observa conforme a el avance de días, un aumento de la radiopacidad en la periferia de los implantes sugiriendo actividad de formación ósea; cabe mencionar que se muestra en la imagen de escala RGB que el implante de Ti parece ser el más próspero, a partir de la nivelación equilibrada de densidades estructurales, mostrándose uniforme respecto de los tipos de tejido óseo adyacentes.

En concordancia con los trabajos de Hämmerle,³⁰⁶ sobre reparación histológica, dieron lugar a una formación ósea mayor en áreas periféricas; lo que concuerda con los resultados radiológicos, donde la radiopacidad aumenta de forma centrípeta desde los bordes del lecho implantario.

Nuestros resultados coincidieron con las descripciones histológicas clásicas de Urist³⁰⁷ de osteoinducción ectópica, en relación al proceso de osificación mediante la formación cartilaginosa intermedia de los biomateriales.³⁰⁸

Radiográficamente, al primer mes los lechos periimplantarios aparecían con niveles de radiopacidad homogéneos, aunque con cierta falta de continuidad con el hueso adyacente; sin embargo a los 60 días pudimos comprobar mediante el perfil de densidad ósea una reparación entre el 60% del defecto, con alta homogeneidad y continuidad radiológicas, posiblemente debido a que histológicamente se constató la existencia de un tejido óseo inmaduro poco calcificado, que no se registra en el análisis radiológico.

Curiosamente, a los 90 días, el estudio radiológico si mostró diferencias estadísticamente significativas con el control preoperatorio, lo que podría contradecir los resultados histológicos. No obstante, estos resultados también se han producido en otros trabajos, como el de Dorea³⁰⁹ en el que defectos femorales en gatos implantados con vidrio bioactivo eran regenerados radiológicamente a las 6 semanas pero sin producirse concordancia histológica. Por ello, la radiopacidad por sí sola no debe ser utilizada como único criterio para evaluar la regeneración ósea, debiendo correlacionarse, como ya se ha sugerido, con los hallazgos histológicos o bioquímicos.³¹⁰

Con ello se concluye que el nivel de densidad óseo radiográfico está estrechamente relacionado con los valores dados por los marcadores bioquímicos de la remodelación ósea.

Al análisis de los marcadores bioquímicos de la remodelación ósea obtuvimos que; el aumento del calcio, osteocalcina en los conejos durante las etapas de oseointegración nos hace suponer que a nivel del callo en formación también existe aumento de los mismos. Estos elementos están en equilibrio constante y al variar uno varía el otro. Por otro lado, los días que aumentaron, coincidieron con la descripción histológica de las etapas de oseointegración.

Los niveles de osteocalcina correlacionan positivamente con el cociente de formación ósea, medida por histomorfometría. Es interesante notar que la actividad de la fosfatasa alcalina, permaneció elevada durante todas las etapas medidas, sugiriendo que el proceso de oseointegración continúa aún después de formado el callo óseo.

Estos resultados concuerdan con lo observado en un estudio experimental de la consolidación ósea en ratas y se demuestra la relación directa que poseen los marcadores de remodelación ósea con los procesos de cicatrización del hueso.³¹¹

La valoración del calcio sérico expresa el estado de mineralización del hueso y durante los 90 días de fase experimental; los conejos A y B mostraron un incremento en los valores de este, con diferencias estadísticamente significativas en las que evidentemente se ven influenciados por el tipo de bioestimulación

En cuanto al análisis bioquímico en el conejo "B" podemos mencionar como puntos relevantes que existió de manera generalizada un aumento exponencial de los valores en nuestros parámetros bioquímicas (calcio, fosfatasa alcalina y osteocalcina) en los primeros 15 días postoperatorios,

lo que nos sugiere una respuesta potencializada por lograr un equilibrio homeostático en nuestro biomodelo, con el fin de activar procesos de cicatrización.

Posteriormente a los 30, 60 y 90 días los valores adquieren una tendencia a mantenerse en rangos o parámetros normales sin verse afectados o modificados por la OZONOTERAPIA.

En contraparte, el conejo "A", de los puntos relevantes a destacar es el aumento de las concentraciones de calcio sérico durante los 90 días; esto nos indica que la utilización de Láser tuvo efecto en la estimulación de factores que promueven el desarrollo y formación de tejido óseo como lo es el calcio en la mineralización de tejidos. Respecto a la fosfatasa alcalina nótese que existieron valores elevados, permitiéndonos saber que también la actividad de formación y adhesión de materia de carácter ósea estaban activadas y estimuladas debido al uso del LASER DE BAJA POTENCIA.

LASERTERAPIA VS OZONOTERAPIA: PAPEL EN LA OSEOINTEGRACIÓN DE IMPLANTES

A pesar de la mejora continua de los biomateriales (diseño, propiedades tales como la porosidad y rugosidad, etc.), la regeneración ósea intrínseca puede ser estimulada con terapias adyuvantes para procedimientos quirúrgicos estándar, a fin de acelerar y maximizar el crecimiento del hueso.

Lograr el implante mejor osteointegrado en el hueso adyacente es de significado clínico importante y para ello diversas modalidades farmacológicas o biofísicos han sido prueba. Tales terapias adyuvantes

que mejoran la interfaz de crecimiento óseo a nivel local, incluyen materiales de injerto óseo, agentes farmacológicos, factores de crecimiento y proteínas morfogenéticas óseas.

En cuanto a la estimulación Biofísica de la oseointegración; el Laser de Baja Potencia y Ozono terapia constituyen dos métodos no invasivos, exógenos y de aplicación local, y cuentan con respaldo de estudios donde confirman sus efectos benéficos.³¹²⁻³¹⁴ Durante de este estudio no se observaron efectos secundarios sistémicos o locales de su aplicación hasta el fin de la fase experimental.

El efecto del Laser de Baja Potencia en la interacción ósea de los implantes de la tibia del conejo "A" se demuestra en las observaciones macroscópicas de los cortes dado que se pudo visualizar en el contacto hueso-implante de titanio una mayor formación de tejido óseo alrededor de este material, a diferencia del conejo "B" que fue tratado con Ozono. Favoreciendo la formación ósea y a su vez la oseointegración, caso similar al reportado por *Khadra* y cols. En 2004, en el artículo Estimulación de la terapia laser de baja potencia en la interacción hueso implante.

Al determinar histológicamente en las imágenes obtenidas por MEB el porcentaje en la interfase hueso-implante; con la aplicación de láser se observa presencia locotisular de *tejido fibroreticular, condroide y laminar* en aposición sobre la superficie de los implantes siendo más evidente en el implante de titanio; ya que muestra un mayor porcentaje de neoformación de hueso en la tibia irradiada con LÁSER.

La tibia del conejo B bioestimulada con OZONO mostró una formación hueso-implante en un porcentaje menor en todos sus implantes siendo Titanio nuevamente quien mejor porcentaje de contacto logró, pues en

las imágenes de MEB observamos presencia de tejido óseo laminar en íntimo contacto con la superficie del Titanio. La presencia de hueso maduro en aposición sobre el implante de Titanio es un hallazgo importante pues aunque se encontró en menor porcentaje a diferencia del Titanio irradiado, suponemos que si el ozono estimula la capacidad orgánica de trasladar altas concentraciones de oxígeno vital a los tejidos y compartimentos corporales a través de los eritrocitos, llegando por este mecanismo a todo el organismo, de esta forma, el OZONO mejora el metabolismo del oxígeno combatiendo el stress oxidativo; mediante la liberación de radicales libres.

Entonces, reaccionó positivamente sobre la capa de TiO₂ que coadyuvó para actuar como catalizadora de algunas reacciones químicas.

Pese lo anterior, la tibia irradiada del conejo A presenta la formación de tejido óseo compacto y de armaduras óseas mineralizadas con señales de neoformación indicando que el efecto del LASER puede determinar la formación ósea en la interfase hueso-implante y puede reducir el tiempo necesario para la oseointegración.

Resultados similares a los presentados por Khadra y cols. ³¹⁵ en 2005, donde se concluye que el láser terapéutico aumenta la unión y proliferación de tejidos periimplantarios en implantes de titanio.

La tibia del conejo A presentó en la descripción histológica de MEB la presencia locotisular de hueso maduro e inmaduro y tejido condroide, en aposición directa con los implantes de Titanio y Zirconio esto puede ser explicado ya que el LASER al poseer propiedades fotoquímicas sobre la microcirculación favorece la producción de los procesos de reparación

que contribuye a la regeneración la velocidad y calidad de los fenómenos reparativos: Trofismo Celular.

De manera que, el Láser de Baja Potencia tiene un efecto favorable sobre la unión funcional del implante de Titanio al hueso lo que favorece como un tratamiento potencial para acelerar la cicatrización ósea sobre el implante.

De tal manera que, en esta investigación el aumento del trofismo celular tuvo efectos sobre la oseointegración de los implantes de la tibia A, mediante la presencia *locotisular* de los tejidos calcificados. De acuerdo a la literatura, Los tejidos calcificados del hueso proceden de un origen común, el llamado *mesénquima esqueletogénico indiferenciado*, que puede provenir tanto de estructuras de origen mesodérmico como de origen mesectodérmico³¹⁶.

Dependiendo de la influencia de factores muy variados, como pueden ser el nivel de irrigación o de oxigenación de la zona, las fuerzas que se apliquen sobre la misma o la presencia de factores de crecimiento, se produce una diferenciación del mesénquima en los diversos tipos de tejido calcificado: cartílago calcificado, *tejido condroide*, *hueso fibrorreticular* o *hueso laminar*. El tejido condroide aparece en localizaciones en las que el crecimiento óseo está acelerado y que están además sometidas a sollicitaciones mecánicas: en el embrión, la sínfisis mandibular³¹⁷, las suturas craneales³¹⁸ y la pared membranosa de los huesos largos del esqueleto ³¹⁷, a las que hay que sumar en la vida postnatal el callo de fractura³¹⁹, la erupción dentaria³²⁰, la esqueletogénesis inducida por distracción ósea y la oseointegración de implantes.

Parece evidente que aplicación de LÁSER es un factor exógeno que orienta la diferenciación de las células osteoprogenitoras hacia la producción de tejido condroide, así como la que determina la orientación de sus trabéculas. Basándonos en que Khadra (2005), realizó el estudio del efecto de la irradiación de láser blando de baja potencia en la interacción tejido implante en estudios in vivo e in vitro, encontró que el efecto del láser blando puede acelerar el metabolismo y mineralización durante la temprana cicatrización ósea.³²²

Además, nuestros resultados en implantes, a diferencia de lo descrito por Roberts³²³, no forman hueso laminar sino que forman tejido condroide, en forma de finas trabéculas. Y el láser parece ser la única razón ya que el grupo experimental B tuvo neoformación de hueso laminar en toda la interfaz hueso-implante. En nuestros resultados al depósito acelerado de tejido condroide que proporciona al implante un lecho mineralizado y estable, le sigue la aposición, de hueso fibroreticular.

Las particulares características del tejido condroide en cuanto a su mineralización, es que es un proceso más intenso y veloz que en los restantes tejidos esqueléticos³²⁴. De tal manera que, adquiere rápidamente estabilidad, muy útil para la aposición ulterior de tejidos como el hueso fibroreticular o bien, hueso laminar.³²⁴

En este rubro concluimos que, la participación del tejido condroide en la oseointegración de los implantes metálicos, redundará en una mayor estabilidad y velocidad de calcificación del callo periimplantario. Por sus características biomecánicas, el tejido condroide confiere al callo periimplantario una mayor estabilidad y un mayor contenido en sales cálcicas que los otros tejidos calcificados. El tejido condroide es

rápidamente sustituido por remodelación osteonal, contribuyendo significativamente a la estabilización definitiva del implante³¹⁷.

La presencia y el rol principal del tejido condroide en la oseointegración estimulada por Láser de Baja Potencia, nos inclinan a considerarla como un proceso en el que el mecanismo implicado es la osificación membranosa.

La investigación adicional es necesaria por lo tanto, para establecer sus efectos benéficos en estudios experimentales, para dilucidar los mecanismos de estímulo a nivel molecular, y determinar los parámetros óptimos para estos dos métodos de bioestimulación.

Por tanto, es esencial diseñar un buen control estudios clínicos y experimentales aleatorizados para evaluar y confirmar la eficacia de su uso clínico que se traduciría en un aumento de la longevidad implante cuando se aplica inicialmente o bien, en el retraso de la cicatrización periimplantaria o incluso en la inhibición del proceso de aflojamiento aséptico, lo que representa una complicación grave en cirugía implantológica.

XIV.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos y en la discusión podemos concluir que:

1. El Titanio V presenta el mejor comportamiento en el sistema biológico (oseointegración) comparado con los biomateriales implantológicos de nuestro estudio.
2. La radiopacidad por sí sola no debe ser utilizada como único criterio para evaluar la oseointegración, debiendo correlacionarse con hallazgos histológicos y/o bioquímicos.
3. Los biomarcadores de remodelación ósea correlacionan positivamente con el cociente de formación ósea, medida por histomorfometría.
4. La correlación entre el análisis radiológico y la valoración bioquímica del remodelado óseo es una exploración útil y eficaz para efectuar el seguimiento de la actividad metabólica en la interfase de los implantes en este modelo de experimentación animal.
5. El Láser de Baja Potencia tiene un efecto favorable sobre la cicatrización periimplantaria al mejorar la interfaz de crecimiento óseo en el implante de Titanio en este estudio.

6. El efecto del LASER puede determinar la formación ósea en la interfase hueso-implante y puede reducir el tiempo necesario para la oseointegración.

XV.

ANEXOS



Project Notes:
PRESENCIA DE TITANIO EN TEJIDO OSEO

Sample Notes:

Customer Notes:

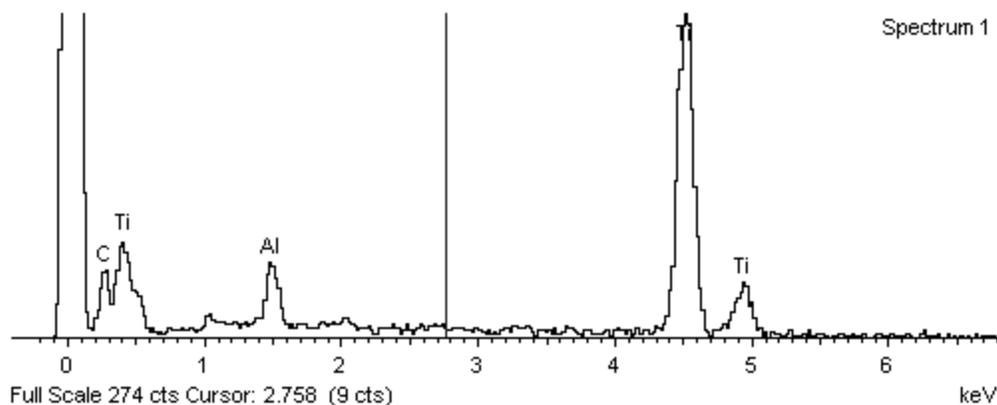
Comment:
CONEJO A

Spectrum processing :
No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)
Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula
Number of iterations = 3

Standard :
C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM
Al Al2O3 1-Jun-1999 12:00 AM
Ti Ti 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corr.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	73.04	0.9442	8.34	1.29	14.64	30.55	CO2	1.77
Al K	18.78	0.8895	2.28	0.31	1.78	4.30	Al2O3	0.21
Ti K	312.74	0.8628	39.06	1.40	17.21	65.16	TiO2	2.07
O			50.33	1.60	66.37			8.00
Totals			100.00					
							Cation sum	4.05



Signature _____



Project Notes:
 MICROANALISIS DE ELEMENTOS EN MUESTRA DE HUESO SIN
 DESCALCIFICAR

Sample Notes:

Customer Notes:

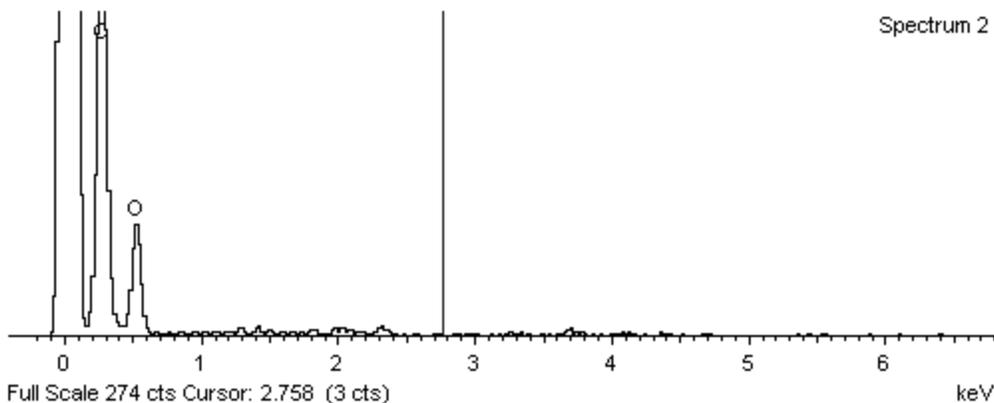
Comment:
 CONEJO A

Spectrum processing :
 No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)
 Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula
 Number of iterations = 2

Standard :
 C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corr.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	486.42	1.1776	27.29	1.06	33.33	100.00	CO2	4.00
O			72.71	1.06	66.67			8.00
Totals			100.00				Cation sum	4.00



Signature _____



Project Notes:
 MICROANALISIS DE ELEMENTOS EN MUESTRA DE HUESO SIN
 DESCALCIFICAR

Sample Notes:

Customer Notes:

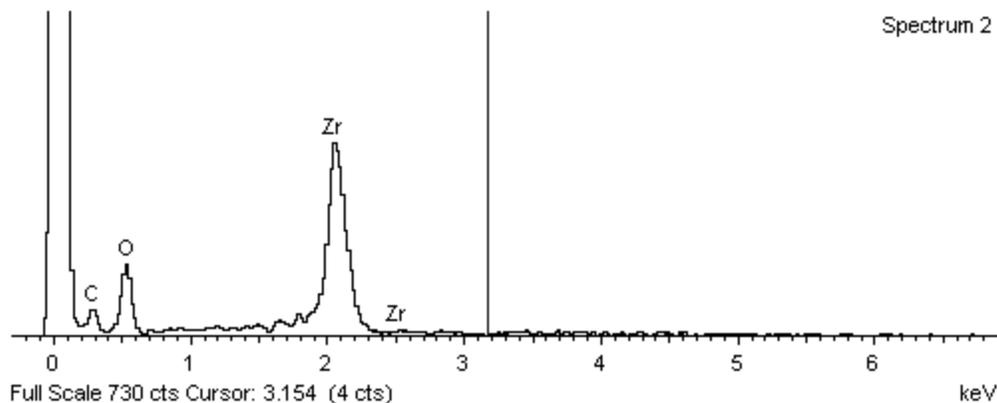
Comment:
 CONEJO A

Spectrum processing :
 No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)
 Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula
 Number of iterations = 7

Standard :
 C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM
 Zr Zr 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corr.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	63.03	0.4041	14.26	2.56	25.13	52.24	CO2	3.02
Zr L	317.51	0.8207	35.36	2.31	8.21	47.76	ZrO2	0.98
O			50.38	2.94	66.67			8.00
Totals			100.00					
Cation sum								4.00



Signature _____



Project Notes:
PRESENCIA DE ZIRCONIO EN TEJIDO OSEO

Sample Notes:

Customer Notes:

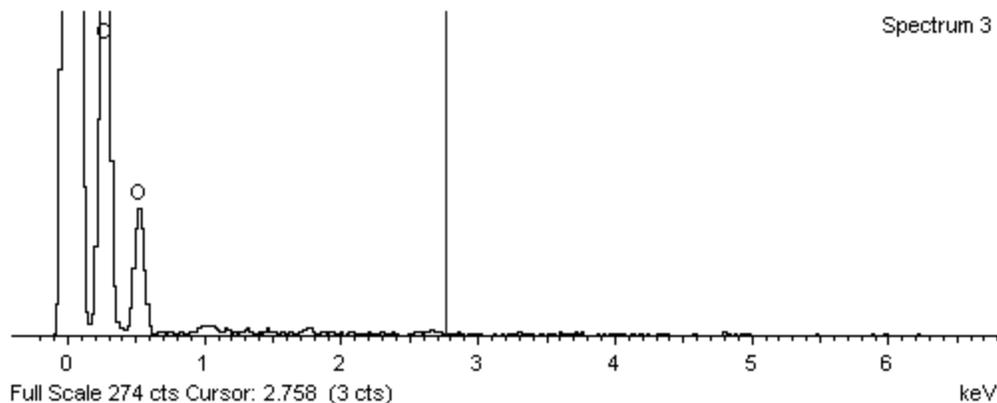
Comment:
CONEJO A

Spectrum processing :
No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)
Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula
Number of iterations = 2

Standard :
C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corr.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	577.38	1.1776	27.29	0.96	33.33	100.00	CO2	4.00
O			72.71	0.96	66.67			8.00
Totals			100.00				Cation sum	4.00



Signature _____



Project Notes: uno
 MICROANALISIS DE ELEMENTOS EN MUESTRA DE HUESO SIN
 DESCALCIFICAR

Sample Notes:
 CONEJO B

Customer Notes:

Comment:
 CONEJO B

Spectrum processing :

No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)

Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula

Number of iterations = 5

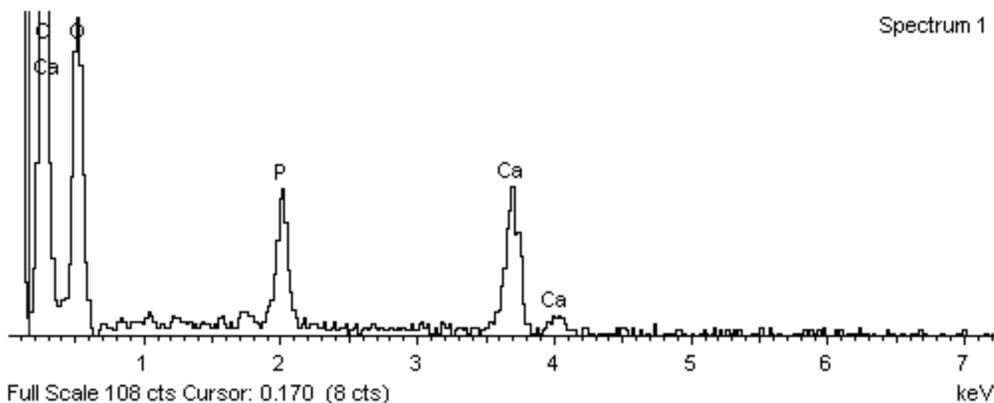
Standard :

C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM

P GaP 1-Jun-1999 12:00 AM

Ca Wollastonite 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corrn.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	211.63	0.9952	24.13	1.55	30.82	88.40	CO2	3.72
P K	29.39	1.3363	2.50	0.31	1.24	5.72	P2O5	0.15
Ca K	35.80	0.9651	4.21	0.43	1.61	5.89	CaO	0.19
O			69.17	1.59	66.34			8.00
Totals			100.00				Cation sum	4.06



Signature _____



Project Notes:
PRESENCIA DE ZIRCONIO EN TEJIDO OSEO

Sample Notes:

Customer Notes:

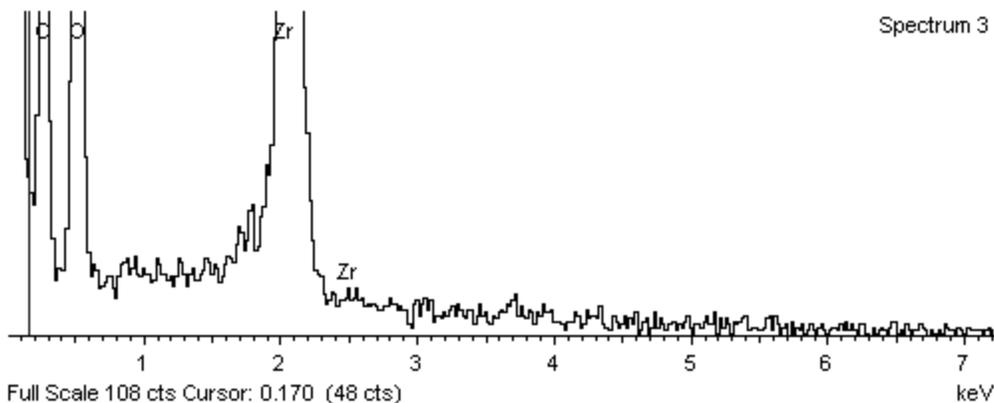
Comment:
CONEJO B

Spectrum processing :
 No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)
 Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula
 Number of iterations = 9

Standard :
 C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM
 Zr Zr 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corrn.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	206.65	0.5854	20.45	1.71	29.78	74.94	CO2	3.57
Zr L	250.20	0.7814	18.55	1.14	3.56	25.06	ZrO2	0.43
O			61.00	1.87	66.67			8.00
Totals			100.00					
Cation sum								4.00



Signature _____



Project Notes: dos
PRESENCIA DE TITANIO EN TEJIDO OSEO

Sample Notes:

Customer Notes:

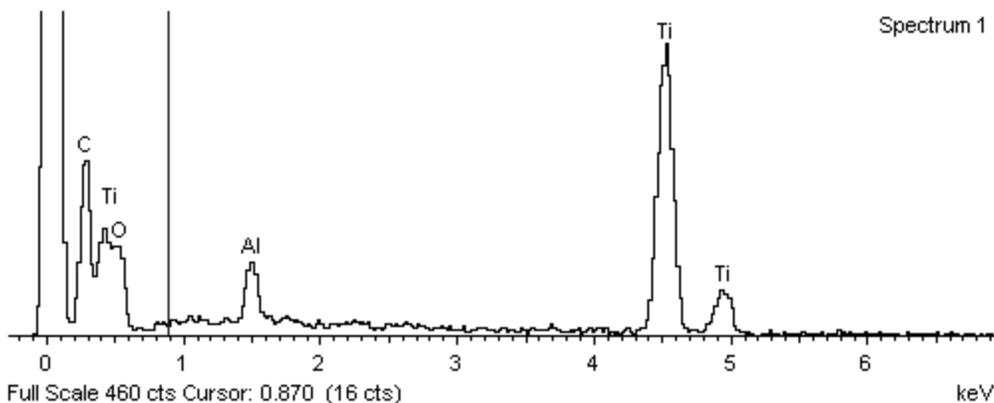
Comment:
CONEJO B

Spectrum processing :
No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)
Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula
Number of iterations = 3

Standard :
C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM
Al Al2O3 1-Jun-1999 12:00 AM
Ti Ti 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corr.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	316.40	1.0059	14.89	0.91	22.70	54.57	CO2	2.73
Al K	32.10	0.8881	1.71	0.18	1.16	3.23	Al2O3	0.14
Ti K	445.31	0.8336	25.30	0.75	9.67	42.19	TiO2	1.16
O			58.10	1.05	66.47			8.00
Totals			100.00					
							Cation sum	4.03



Signature _____



Project Notes:
 MICROANALISIS DE ELEMENTOS EN MUESTRA DE HUESO SIN
 DESCALCIFICAR

Sample Notes:

Customer Notes:

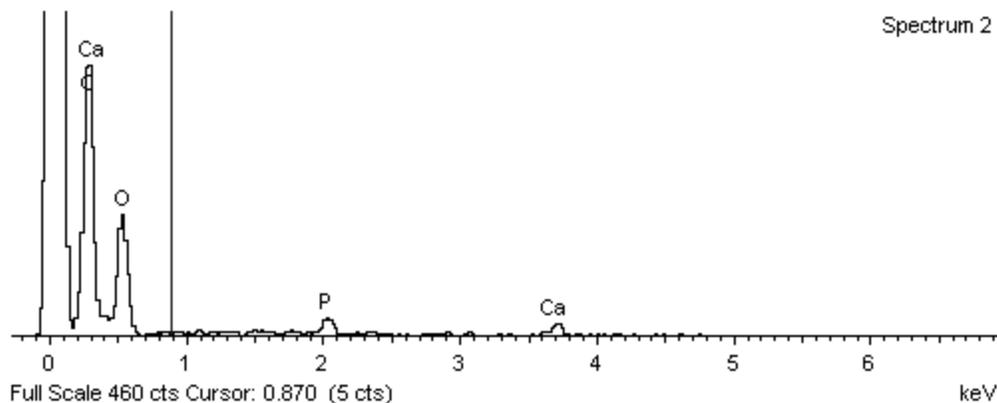
Comment:
 CONEJO B

Spectrum processing :
 No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)
 Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula
 Number of iterations = 4

Standard :
 C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM
 P GaP 1-Jun-1999 12:00 AM
 Ca Wollastonite 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corrn.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	479.62	1.1186	26.53	1.12	32.73	97.22	CO2	3.93
P K	15.60	1.3245	0.73	0.13	0.35	1.67	P2O5	0.04
Ca K	12.35	0.9601	0.80	0.15	0.29	1.11	CaO	0.04
O			71.94	1.12	66.63			8.00
Totals			100.00					
							Cation sum	4.01



Signature _____



Project Notes: tres
 MICROANALISIS DE ELEMENTOS EN MUESTRA DE HUESO SIN
 DESCALCIFICAR

Sample Notes:

Customer Notes:

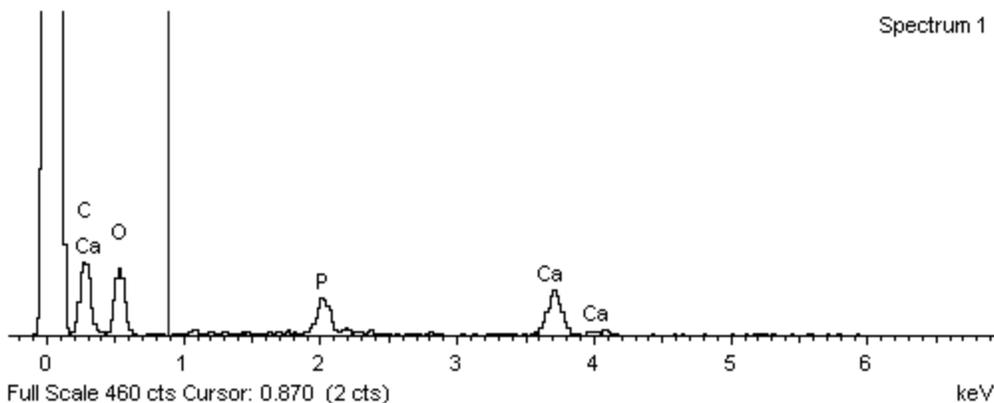
Comment:
 CONEJO B

Spectrum processing :
 No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)
 Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula
 Number of iterations = 5

Standard :
 C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM
 P GaP 1-Jun-1999 12:00 AM
 Ca Wollastonite 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corr.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	141.75	0.9242	22.17	1.79	29.19	81.22	CO2	3.54
P K	34.52	1.3458	3.71	0.44	1.89	8.49	P2O5	0.23
Ca K	49.34	0.9699	7.35	0.65	2.90	10.29	CaO	0.35
O			66.77	1.86	66.01			8.00
Totals			100.00					
							Cation sum	4.12



Signature _____



Project Notes:

PRESENCIA DE ORO EN TEJIDO OSEO

Sample Notes:

Customer Notes:

Comment:

CONEJO B

Spectrum processing :

No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)

Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula

Number of iterations = 5

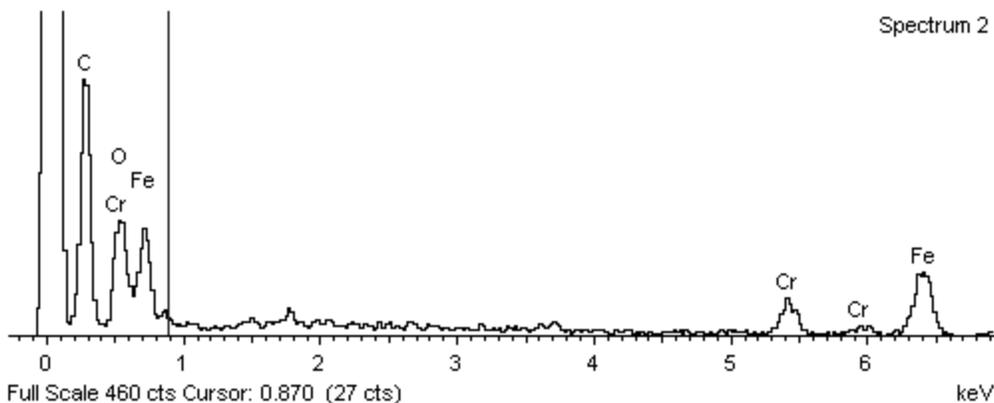
Standard :

C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM

Cr Cr 1-Jun-1999 12:00 AM

Fe Fe 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corr.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	464.25	0.9795	21.41	0.91	29.83	78.46	CO2	3.66
Cr K	71.33	0.8550	3.77	0.37	1.21	5.51	Cr2O3	0.15
Fe K	218.62	0.7924	12.46	0.72	3.73	16.03	FeO	0.46
O			62.35	1.06	65.22			8.00
Totals			100.00					
Cation sum								4.27



Signature _____



Project Notes: cuatro
 PRESENCIA DE NIQUEL-TITANIO EN TEJIDO OSEO

Sample Notes:

Customer Notes:

Comment:
 CONEJO B

Spectrum processing :

No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)

Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula

Number of iterations = 6

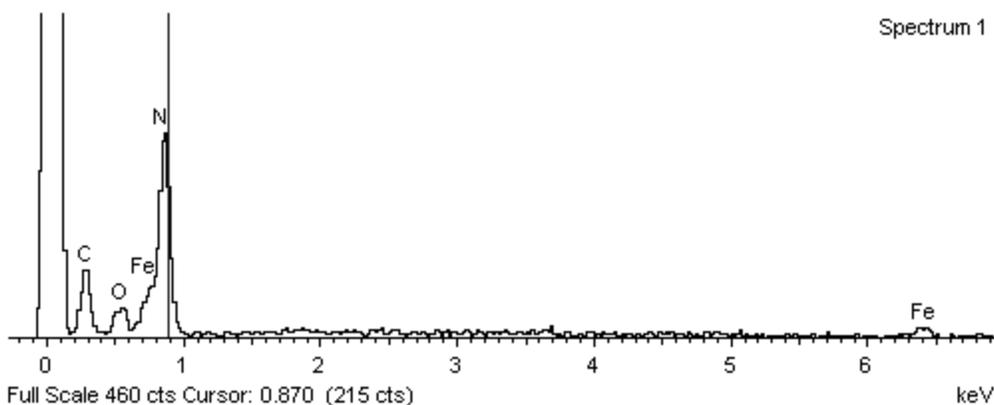
Standard :

C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM

Ti Ti 1-Jun-1999 12:00 AM

Ni Ni 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corr.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	126.85	0.6896	15.32	1.35	25.49	56.15	CO2	3.25
Ti K	31.46	0.9714	2.70	0.53	0.97	3.47	FeO	0.12
Ni K	317.89	0.8346	31.73	1.70	10.80	40.38	NiO	1.38
O			50.25	1.84	62.75			8.00
Totals			100.00					
							Cation sum	4.75



Signature _____



Project Notes:
 MICROANALISIS DE ELEMENTOS EN MUESTRA DE HUESO SIN
 DESCALCIFICAR

Sample Notes:

Customer Notes:

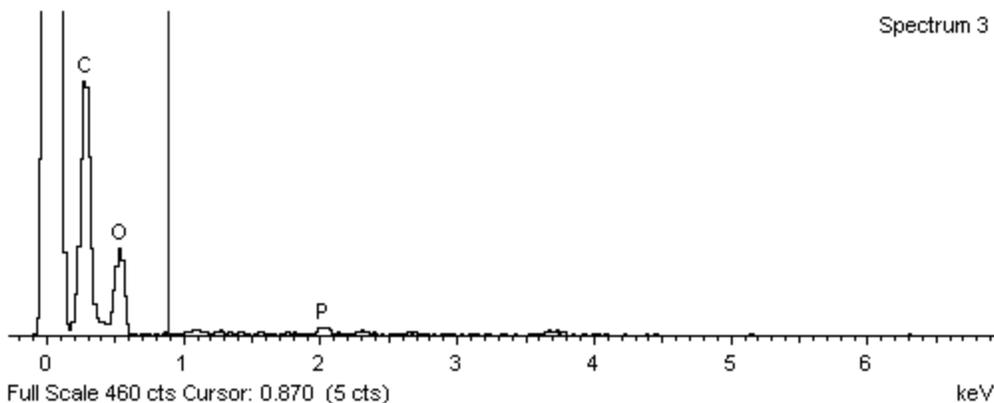
Comment:
 CONEJO B

Spectrum processing :
 No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)
 Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula
 Number of iterations = 4

Standard :
 C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM
 P GaP 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corrn.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	460.01	1.1441	27.04	1.11	33.11	99.07	CO2	3.97
P K	8.00	1.3220	0.41	0.11	0.19	0.93	P2O5	0.02
O			72.56	1.11	66.70			8.00
Totals			100.00					
							Cation sum	3.99



Signature _____



Project Notes:
PRESENCIA DE NITRURO DE TITANIO EN TEJIDO OSEO

Sample Notes:

Customer Notes:

Comment:
CONEJO B

Spectrum processing :

No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)

Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula

Number of iterations = 5

Standard :

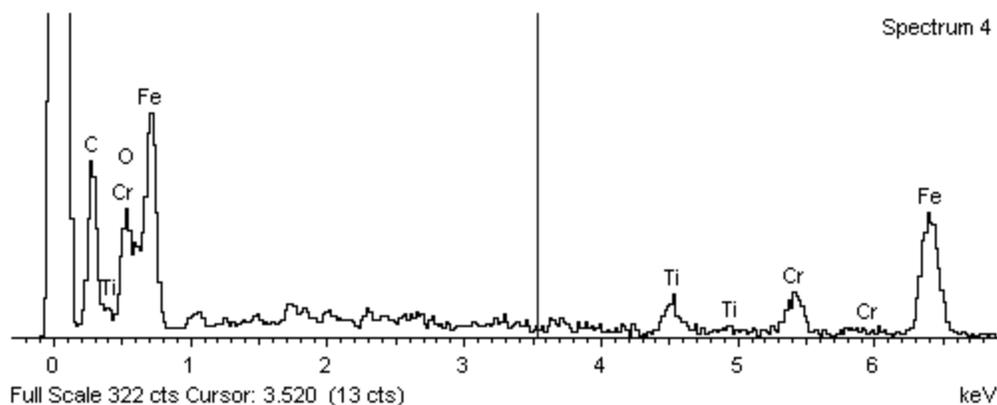
C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM

Ti Ti 1-Jun-1999 12:00 AM

Cr Cr 1-Jun-1999 12:00 AM

Fe Fe 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corr.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	214.73	0.8661	16.45	1.16	25.92	60.26	CO2	3.25
Ti K	31.05	0.8771	2.35	0.36	0.93	3.92	TiO2	0.12
Cr K	54.89	0.8991	4.05	0.50	1.47	5.92	Cr2O3	0.18
Fe K	287.17	0.8194	23.25	1.13	7.88	29.91	FeO	0.99
O			53.91	1.45	63.79			8.00
Totals			100.00				Cation sum	4.54



Signature _____



Project Notes:
 MICROANALISIS DE ELEMENTOS EN MUESTRA DE HUESO SIN
 DESCALCIFICAR

Sample Notes:

Customer Notes:

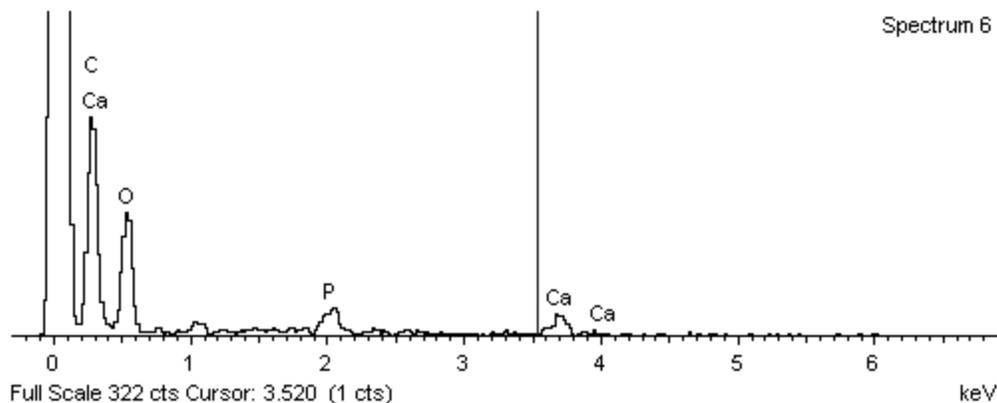
Comment:
 CONEJO B

Spectrum processing :
 No peaks omitted

Processing option : Oxygen by stoichiometry (Normalised)
 Number of ions calculation based on 8.00 anions per formula
 Number of iterations = 4

Standard :
 C CaCO3 1-Jun-1999 12:00 AM
 P GaP 1-Jun-1999 12:00 AM
 Ca Wollastonite 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	App Conc.	Intensity Corrn.	Weight%	Weight% Sigma	Atomic%	Compd%	Formula	Number of ions
C K	271.61	1.0794	25.99	1.47	32.29	95.23	CO2	3.88
P K	16.07	1.3271	1.25	0.25	0.60	2.87	P2O5	0.07
Ca K	12.67	0.9609	1.36	0.28	0.51	1.91	CaO	0.06
O			71.40	1.49	66.60			8.00
Totals			100.00					
							Cation sum	4.01



Signature _____

XVI

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BARON R. **Anatomy and Biology of Bone Matrix and Cellular Elements. Chapter 1. General Principles of Bone Biology.** Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, fifth edition, 2003. American society for bone and mineral research, Washington, DC. Pp1-8.
2. ROBEY PG Y BOSKEY AL. 2003. **Anatomy and Biology of Bone Matrix and Cellular Elements. Chapter 6. Extracellular matrix and biomineralization of bone.** Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, fifth edition, 2003. American society for bone and mineral research, Washington, DC. Pp 38-46.
3. ROSSERT J, TERRAZ C, DUPONT S. Nephrol Dial Transplant. 2000;15 Suppl 6:66-8. **Regulation of type I collagen genes expression.**
4. Tohme JF, SEIBEL MJ, SILVERBERG SJ, ROBINS SP, BILEZIKIAN JP. **Biochemical markers of bone metabolism.** Rheumatol. 1991;50:133-41.
5. GUNDBERG CM, CLOUGH ME. **The osteocalcin propeptide is not secreted in vivo or in vitro.** J Bone Miner Res. 1992;7:73-80.
6. GARNERO P, GRIMAUX M, SEGUIN P, DELMAS PD. **Characterization of immunoreactive forms of human osteocalcin generated in vivo and in vitro.** J Bone Miner Res. 1994;9:255-64.
7. MASI L, BRANDI ML. **Physiopathological basis of bone turnover.** Q J Nucl Med. 2001;45:2-6. Review.
8. HARADA S, RODAN GA. **Control of osteoblast function and regulation of bone mass.** Nature. 2003;423:349-55.
9. MANOLAGAS SC. **Role of cytokines in bone resorption.** Bone. 1995;17:63S-67S.
10. YANG X, KARSENTY G. **Transcription factors in bone: developmental and pathological aspects.** Trens Mol Med. 2002;8:340-5.
1. MUNDY GR. **Local control of osteoclast function.** Osteoporos Int. 1993; 1:126-7.

12. JILKA ROBERT L, WEINSTEIN ROBERT S, BELLIDO TERESITA, PAULA ROBERSON. **Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone.** *J. Clin. Invest.* 1999 .104:439-446
13. HOLLINGER J, BUCK D, BRUDER S. **Biology of bone healing: its impact on clinical therapy.** En: Lynch S, ed. **Tissue ingeneering.** Carol Stream: Quintessence; 1999. p. 17-54.
14. LYNCH S, GENCO R, MARX R. **Tissue ingieneering.** Carol Stream: Quintessence; 1999.
15. BIANCHI A. **Prótesis implantosoportada. Bases biológicas. Biomecánica. Aplicaciones clínicas.** Caracas: Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica; 2001.
16. YOUNG M, KIERR J, IBARAKA K, HEEGAARD A, ROBEY P. **Structure, expression, and regulation of the major noncollagenous matrix proteins of bone.** *Clin Orthop* 1991;281:285-93.
17. URIST M. **Bone: Formation by autoinduction.** *Science* 1965;150:895-9.
18. URIST M, STRATES B. **Bone morphogenetic protein.** *J Dent Res* 1971;50:1392-6.
19. WOZNEY J, ROSEN V, CELESTE A, MITSOCK L, WHITTERS M, KRIZ R, y cols. **Novel regulators of bone formation: Molecular clones and activities.** *Science* 1988;242:15-28.
20. CELESTE A, ROSS B, YAMAJI N, WOZNEY J. **The molecular cloning of human bone morphogenetic proteins -10, -11 and 12, three members of the transforming growth factor-beta superfamily.** *J Bone Miner Res* 1995;10:334-9.
21. NISHITOH H, ICHIJO H, KIMURA M, MATSUMOTO T, MAKISHIMA F, YAMAGUCHI A, Y COLS. **Identification of type I and type II serine/threonine kinase receptors for growth/differentiation factor-5.** *J Biol Chem* 1996;271:213-45.
22. ANITUA E, ANDIA I . **Nuevo enfoque en la regeneración ósea.** Vitoria,: Puesta al día publicaciones; 2000. p.17-92.
23. MEFFERT, RM: **How to treat ailing and failing plants,** *Implant Dent* 1:25-33, 1992
24. LYNCH, S. E.; BUSER, D.; HERNÁNDEZ, R. A.; WEBER, H. P.; STICH, H.; FOX, C. H.; WILLIAMS, R. C.: **Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Result of a pilot study in beagle dogs.** *J Periodontol* 62: 710-716, 1991.
25. HALE, T. M.; BORETSKY, B. B.; SCHEIDT, M. J.; MCQUADE, M. J.; STRONG, S. L.; VAN DYKE, T. E.: **Evaluation of titanium dental implant osseointegration in posterior edentulous areas of micro swine.** *J. Oral. Implantol.* 17(2): 118-24, 1991.
26. BRÄNEMARK, P.: **Osseointegration and its experimental background.** *J Prosthet Dent* 50 (3): 399-410, 1983.

27. SANTAMARÍA, J.; MARTÍNEZ, R.; GOIRIENA, F. J.: **Materiales implantarios de uso más frecuente en el territorio oro-maxilo-facial**. RevEur-Odontoestomatol. 1(2):101-104, 1989.
28. ALBREKTSSON, T.; ERIKSSON, A. R.; JACOBSSON, M.; KÄLEBO, P.; STRID, K-G.; TJELLSTRIM, A.: **Bone repair in implant models: a review with emphasis on the harvest chamber for bone regeneration studies**. Int-JOral-Maxillofac-Implants. 4(1):45-54, 1989.
29. ZARB, G. A.: **Criteria for success of osseointegrated en Odosseous implants**. J Prosthet Dent 62: 567-572, 1989.
30. XIANG, W.; BAOLIN, L.; YAN, J.; YANG, X.: **The effect of bone morphogenetic protein on osseointegration of titanium implants**. J Oral Maxillofac Surg 51: 647-651, 1993.
31. ROHRER, M. D.; BULARD, R. A.; PATTERSON, M. K.: **Maxillary and mandibular titanium implants 1 year after surgery: histologic examination in a cadaver**. Int J Oral Maxillofac Implants 10 (4): 466-473, 1995.
32. KOHRI, M.; COOPER, E. P.; FERRACANE, J. L.; WAÏTE, D. F.: **Comparative study of hydroxyapatite and titanium dental implants in dogs**. J Oral Maxillofac Surg 48: 1265-1273, 1990.
33. GOLEC, T.S.: **Technique for press-fit implants**. JADA 121: 409-412, 1990
34. STEINBERG, A. D.; WILLEY, R.; DRUMMOND, J. L.: **In-vivo comparisons of clot formation on titanium and hydroxyapatite-coated titanium**. J Periodontol 63:990-994, 1992.
35. BUSER, D.; WARRER, K.; KARRING, T.: **Formation of a periodontal ligament around titanium implants**. J-Periodontol. 61(9): 597-601, 1990.
36. LEKHOLM, U.; ZARB, GA. **Patient selection and preparation**. en: Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. Tissue-integrated prostheses: osseointegration in Clinical Dentistry. Chicago: Quintessence; 1985.
37. CARL E. MISH. **Implantología Contemporánea 3ra Edición**. Elsevier Mosby. 2009
38. MACCHI, R. **Materiales Dentales**. Buenos Aires. Argentina: Editorial Médica panamericana. 2002. pp: 357-362
39. LANG, R. WETZEL, A. STICH, H. CAFFESESSER, R. **Oral Implantology. 2 (1)** Illinois: QUINTESSENSE Publishing . 1994. pp: 191-201
40. WILLIAMS D.F., BLACK J., DOHERTY P.J., Second Consensus Conference, **Definitions in Biomaterials**, Chester, England (1991); en Biomaterial-Tissue Interfaces. Advances in Biomaterials, Vol. 10, Doherty P.J., Williams R.L., Williams D.F., Lee A.J.C., eds., Elsevier, Amsterdam, p. 525 (1992)

41. BLACK J. **Biological performance of materials**, 2nd edition, en Fundamentals of biocompatibility, Marcel Dekker, New-York (1999)
42. PROUBASTA I., GIL J., PLANELL J.A. **Fundamentos de Biomecánica y Biomateriales**, ed Ergon S.A., Madrid (1997)
43. RATNER B.D., HOFFMAN A.S., SCHOEN F.J. **Biomaterials Science. An introduction to materials in medicine**, 2nd edition, Elsevier Academic Press (2004)
44. MACCHI, RICARDO LUIS. **Materiales Dentales**. Ed. Médica Panamericana (2007)
45. KENNETH J. ANUSAVICE. **Phillips la ciencia de los materiales dentales**. Elsevier España, (2004)
46. BRUNSKI JB, PULEO DA, NANJI A. **Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments**. Int J Oral Maxillofac Implants 2000; 15: 15-39.
47. TAYLOR TD, AGAR JR, VOGIATZI T. **Implant prosthodontics: current perspective and future directions**. Int J Oral Maxillofac Implants 2000; 15: 66-75
48. BREME J, BIEHL V. **Metallic biomaterials**. En “**Handbook of Biomaterials Properties**”; eds. Black J, Hastings G. Chapman & Hall, London (1998), p.135-137.
49. COLLING EW. “**The Physical Metallurgy of Titanium Alloys**”. American Society for Metals. Metals Park, Ohio, 1984.
50. POLMEAR IJ. “**Light alloys. Metallurgy of the lighth metals**”. Edward Arnold, Londres (1995).
51. [ISO 5832-2] **Implants for surgery. Metallic materials. Part 2: Unalloyed titanium** (1999).
52. [ASTM F67-00] **Standard Specification for Unalloyed Titanium for Surgical Implant Applications** (2002).
53. RATNER BD. **A perspective on titanium biocompatibility**. En “Titanium in Medicine:material science, surface science, engineering, biological responses and medical applications”; eds. Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen, P. Springer Verlag, Berlin (2001), p. 2-12.
54. [ISO10993-1] **Biological evaluation of medical devices. Part 1: Evaluation and testing** (1997).
55. MARTINSON L, GOESSL A, CIRIDON W, PAN YV, SIGLE R, SAVINIT G, LEACH-SCAMPAVIA D, LEACH K, KYRIAKIDES T, SHEN L, BRANCA A, CARTER W, BORSTEIN P, SAGE H, GIACHELLI C, HORBETT T, RATNER B. **Biomaterial implants in the subcutaneous mouse model**. Transactions of the Sixth World Biomaterials Congress, Kamuela, USA (2000), p. 1289.

56. THOMSEN P, LARSSON C, ERICSON LE, SENNERBY L, LAUSMAA J, KASEMO B. **Structure of the interface between rabbit cortical bone and implants of gold, zirconium and titanium.** J Mater Sci: Mater Med 8 (1997) 653-665.
57. DAVIES JE, OTTENSMEYER P, SHEN X, HASHIMOTO M, PEEL SAF. **Early extracellular matrix synthesis by bone cells.** En "The bone-biomaterial interface"; ed. Davies JE. University of Toronto Press, Toronto (1991) 214-228.
58. HANAWA T. **Titanium and its oxide film; a substrate for formation of apatite.** En "The bone-biomaterial interface"; ed. Davies JE. University of Toronto Press, Toronto (1991), p. 49-61.
59. HANAWA T, ASAOKA K, UKAI H, MURAKAMI K. **Calcium phosphate precipitation on titanium in electrolyte and its acceleration by calcium-ion-implantation.** En "Compatibility of biomedical implants. Corrosion and organic and biological electrochemistry divisions. Proc Vol 94-15"; eds. Kovacs P, Istanthanous NS. The Electrochemical Chemistry, Pennington (1994), p. 126-137.
60. STEINEMANN SG. **Titanium-the material of choice?** Periodontology 2000, 17 (1998) 7-21.
61. HANFF G, DANIELSEN N, THOMSEN P. **E-PTFE in rabbit knee-joints.** J Mater Sci: Mater Med 5 (1994) 473-480.
62. THOMSEN P, LARSSON C, ERICSON LE, SENNERBY L, LAUSMAA J, KASEMO B. **Structure of the interface between rabbit cortical bone and implants of gold, zirconium and titanium.** J Mater Sci: Mater Med 8 (1997) 653-665.
63. KASEMO B. **Biological surface science.** Surf Sci 500 (2002) 656-677.
64. RATNER BD. **A perspective on titanium biocompatibility.** En "Titanium in Medicine: material science, surface science, engineering, biological responses and medical applications"; eds. Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen, P. Springer Verlag, Berlin (2001), p. 2-12.
65. BRUNSKI JB. **Biomechanical factors affecting the bone-dental implant interface.** Clinical Mater 10 (1992) 153-201.
66. BOBYN JD, MORTIMER ES, GLASSMAN AH, ENGH CA, MILLER JE, BROOKS CE. **Producing and avoiding stress shielding.** Clin Orthop Rel Res 264 (1992) 79-96.
67. BOYER R, WELSH G, COLLINGS EW (eds.) **"Materials Properties Handbook: Titanium Alloys"**. ASM International, Materials Park (1994).
68. BRUNSKI JB. **Biomechanical factors affecting the bone-dental implant interface.** Clinical Mater 10 (1992) 153-201.
69. MORGAN MJ, JAMES DF, PILLIAR R. **Fractures of the fixture component of an osseointegrated implant.** Int J Oral Maxillofac Implants 8 (1993) 409-414.

70. ESPOSITO M. **Titanium for dental implants** (I). En "Titanium in Medicine: material science, surface science, engineering, biological responses and medical applications"; eds. Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen P. Springer Verlag, Berlin (2001), p. 827-873.
71. KASEMO B, LAUSMAA J. **Surface science aspects on inorganic biomaterials**. CRC Crit RevBiocompat 2 (1986) 335-380.
72. TENGVALL P, LUNDSTRÖM L. **Physico-chemical considerations of titanium as a biomaterial**. Clin Mat 9 (1992) 115-134.
73. KASEMO B. **Biocompatibility of titanium implants: surface science aspects**. J Prosthet Dent 49 (1983) 832-837.
74. HENRICH VE, Cox PA. **"The surface science of metal oxides"**. Cambridge University Press, Cambridge (1994).
75. BREME J, BIEHL V. **Metallic biomaterials**. En "Handbook of Biomaterials Properties"; eds. Black J, Hastings G. Chapman & Hall, London (1998), p.137.
76. ZITTER H, PLENK H. **The electrochemical behaviour of metallic implant materials as an indicator of their biocompatibility**. J Biomed Mater Res 21 (1987) 881-896.
77. DM BRUNETTE, P TENGVALL, M TEXTOR, P THOMSEN. **Titanium in Medicine: Material Science, Surface Science, Engineering, Biological Responses and Medical Applications**; ed springer, (2002) pp. 1478. Kasemo B, Gold J. Implant surfaces and interface processes. Adv Dent Res 1999; 13: 8-20
78. SYKARAS N, IACOPINO M, MARKER VA, TRIPLETT RG, WOODY RD. **Implant materials, designs, and surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review**. Int J Oral Maxillofac Implants 2000; 15: 675-90.
79. GIL F, APARICIO C, PADRÓS A, THAMS U, SAN ROMÁN F, MUÑOZ F. Análisis y diferencias de las superficies de los implantes arenados con óxido aluminio, con otros materiales abrasivos y tratados mediante gravado ácido. Estudio in vitro. Boletín de divulgación científica y técnica de implantología odontológica 2002;11:14-26.
80. WENNERBERG A, ALBREKTSON T, ANDERSSON B. **Desing and surface characteristics of 13 commercially available oral implant systems**. Int J Oral Maxillofac Implants 1993;8:622-33.
81. KLOKKEVOLD P, NISHIMURA R, ADACHI M, CAPUTO A. **Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in rabbit**. Clin Oral Impl Res 1997;8:442-7.
82. BRUNSKI J. **Biomaterials and biomechanics in dental implant design**. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants 1988;3:85-97.

83. BIESBROCK A, EDGERTON M. **Evaluation of the clinical predictability of hidroxyapatite-coated endosseous dental implants: A review of the literature.** The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants 1995;10:712-720.
84. CHANG Y, LEW D, PARK J, KELLER J. **Biomechanical and morphometric analysis of hidroxyapatite-coated implants with varying cristallinity.** Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 1999;57:1096-1108.
85. WEINLAENDER M, KENNEY E, LEKOVIC V, BEUMER J, MOY P, LEWIS S. **Histomorphometry of Bone Apposition Around Three Types of Endosseous Dental Implants.** The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants 1992;7:491-496.
86. GOTTLANDER M, ALBREKTSSON T, CARLSSON L. **A Histomorphometric Study of Unthreaded Hydroxyapatite-Coated and Titanium-Coated Implants in Rabbit Bone.** The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants 1992;7:485-490.
87. KILPADI D, LEMONS J, LIU J, RAIKAR G, WEIMER J, VOHRA Y. **Cleaning and Heat-Treatment Effects on Unalloyed Titanium Implant Surfaces.** Int J Oral Maxillofac Implants 2000;15:219-230.
88. FRANCESCO MP , PIERFRANCESCO R I, RAFFAELLI L. **An overview of zirconia ceramics: Basic properties and clinical applications.** journal of dentistry 35 (2007) 819– 826
89. PICONI C, MACCAURO G. **Zirconia as a ceramic biomaterial.** Biomaterials 1999;20:1–25.
90. HELMER JD, DRISKELL TD. **Research on bioceramics. Symposium on Use of Ceramics as Surgical Implants.** South Carolina, USA: Clemson University; 1969.
91. HULBERT SF, MORRISON SJ, KLAWITTER JJ. **Tissue reaction to three ceramics of porous and non-porous structures.** Journal of Biomedical Materials Research 1972;6:347–74.
92. GARVIE RC, URBANI C, KENNEDY DR, MCNEUER JC. **Biocompatibility of magnesia partially stabilized zirconia (Mg-Psz) ceramics.** Journal of Materials Science 1984;19:3224–8.
93. WAGNER W, RIXECKER H, WAHLMANN UW. **Morphometric comparison of histologic bone reactions after implantation of mono- and polycrystalline aluminium oxide pins.** In: Christel P, Meunier A, Lee AJC, editors. Biological and Biomechanical Performance of Biomaterials. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier; 1986. p. 129–34.
94. CHRISTEL P, MEUNIER A, HELLER M, TORRE JP, PEILLE CN. **Mechanical properties and short-term in-vivo evaluation of yttrium-oxide-partially-stabilized zirconia.** Biomedical Materials Research 1989;23:45–61.
95. MACCAURO G, SPECCHIA N, ARENA M, PICONI C, GRECO F. **Biological response to calcia-partially stabilised zirconia ceramics.** 8th Esb Meeting. 1992:110.

96. PICONI C, BURGER W, RICHTER HG, CITTADINI A, MACCAURO G, COVACCI V, ET AL. **Y-TZP ceramics for artificial joint replacements**. *Biomaterials* 1998;19:1489–94.
97. BUKAT A, FASSINA P, GRECO F, PIANTELLI S, PICONI C, ZAGHINI C. **GSP-made Ca-PSZ for Biomedical Applications**. 3rd Symposium on ceramics in medicine. 1990.
98. DION I, BORDENAVE L, LEVEBRE F. **Physico-chemistry and cytotoxicity of ceramics**. *Journal of Materials Science Materials in Medicine* 1994;5:18–24.
99. TORRICELLI P, VERNE E, BROVARONE CV, APPENDINO P, RUSTICHELLI F, KRAJEWSKI A, ET AL. **Biological glass coating on ceramic materials: in vitro evaluation using primary osteoblast cultures from healthy and osteopenic rat bone**. *Biomaterials* 2001;22:2535–43.
100. LOHMANN CH, DEAN DD, KOSTER G, CASASOLA D, BUCHHORN GH, FINK U, ET AL. **Ceramic and PMMA particles differentially affect osteoblast phenotype**. *Biomaterials* 2002;23:1855–63.
101. SILVA VV, LAMEIRAS FS, LOBATO ZI. **Biological reactivity of zirconia-hydroxyapatite composites**. *Journal of Biomedical Materials Research* 2002;63:583–90.
102. 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;20:371–6.
103. WARASHINA H, SAKANO S, KITAMURA S, YAMAUCHI KI, YAMAGUCHI J, ISHIGURO N, ET AL. **Biological reaction to alumina, zirconia, titanium and polyethylene particle implanted onto murine calvaria**. *Biomaterials* 2003;24: 3655–61.
104. DEGIDI M, ARTESE L, SCARANO A, PERROTTI V, GEHRKE P, PIATTELLI A. **Inflammatory infiltrate, microvessel density, nitric oxide synthase expression, vascular endothelial growth factor expression, and proliferative activity in peri-implant soft tissues around titanium and zirconium oxide healing caps**. *Journal of Periodontology* 2006;77:73–80.
105. SWAB JJ. **Low temperature degradation of Y-TZP materials**. *Journal of Materials Science* 1991;26:6706–14.
106. LUTHARDT RG, HOLZHUTER M, SANDKUHL O, HEROLD V, SCHNAPP JD, KUHLISCH E, ET AL. **Reliability and properties of ground Y-TZP-zirconia ceramics**. *Journal of Dental Research* 2002;81: 487–91.
107. KOSMAC T, OBLAK C, JEVNIKAR P, FUNDUK N, MARION L. **The effect of surface grinding and sandblasting on flexural strength and reliability of Y-TZP zirconia ceramic**. *Dental Materials* 1999;15:426–33.
108. 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(Suppl 1):S13-20.

109. PICONI C, MACCAURO G, MURATORI F, BRACH DEL PREVER E: **Alumina and zirconia ceramics in joint replacements.** *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics* 2003, **1**:19-32.
110. KOHAL RJ, WENG D, BACHLE M, STRUB JR: **Loaded custom-made zirconia and titanium implants show similar osseointegration: an animal experiment.** *J Periodontol* 2004, **75**:1262-8.
111. AKAGAWA Y, HOSOKAWA R, SATO Y, KAMAYAMA K: **Comparison between freestanding and tooth-connected partially stabilized zirconia implants after two years' function in monkeys: a clinical and histologic study.** *J Prosthet Dent* 1998, **80**:551-8.
112. DUBRUILLE JH, VIGUIER E, LE NAOUR G, DUBRUILLE MT, AURIOL M, LE CHARPENTIER Y: **Evaluation of combinations of titanium, zirconia, and alumina implants with 2 bone fillers in the dog.** *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999, **14**:271-7.
113. 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.
114. 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(Suppl 1)**:S13-20.
115. BACHLE M, BUTZ F, HUBNER U, BAKALINIS E, KOHAL RJ: **Behavior of CAL72 osteoblast-like cells cultured on zirconia ceramics with different surface topographies.** *Clin Oral Implants Res* 2007, **18**:53-9.
116. GAHLERT M, GUDEHUS T, EICHHORN S, STEINHAUSER E, KNIHA H, ERHARDT W: **Biomechanical and histomorphometric comparison between zirconia implants with varying surface textures and a titanium implant in the maxilla of miniature pigs.** *Clin Oral Implants Res* 2007, **18**:662-8.
117. LI J, FARTASH B, HAMMARSTRÖM L, HERMANSSON L: **Effect of macrotecture produced by laser beam machining on the retention of ceramics implant in bone in vivo.** *Mater in Medicine* 1994, **5**:760-763.
118. DEPPRICH R, ZIPPRICH H, OMMERBORN M. **Osseointegration of zirconia implants compared with titanium: an *in vivo* study.** *Head & Face Medicine* 2008, **4**:30
119. BANSIDDHI A., SARGEANT T.D., STUPP S.I., DUNAND D.C.. **Porous NiTi for bone implants: A review** *Acta Biomaterialia*. 4 (2008) 773–782
120. KAUFFMAN, GEORGE B.; MAYO, ISAAC, "The Story of Nitinol: The Serendipitous Discovery of the Memory Metal and Its Applications", *The Chemical Educator* 1997; **2**: 1
121. http://en.wikipedia.org/wiki/Nickel_titanium

122. THIERRY B, MERHI Y, BILODEAU L, TREPANIER C, TABRIZIAN M. **Nitinol versus stainless steel stents: acute thrombogenicity study in an ex vivo porcine model.** *Biomaterials* 2002;23:2997–3005.
123. GIL FJ, PLANELL JA. **Properties and clinical applications of shape memory alloys.** *Biomaterials and bioengineering handbook.* Wise DL; 2000.
124. RYHANEN J, KALLIOINENM, TUUKKANEN J, JUNILA J, NIEMELA E, SANDVIK P, et al. **In vivo biocompatibility evaluation of nickel–titanium shape memory metal alloy: muscle and perineural tissue responses and capsule membrane thickness.** *J Biomed Mater Res* 1998;41:481–8.
125. SHABALOVSKAYA SA. **On the nature of the biocompatibility and on medical applications of NiTi shape memory and superelastic alloys.** *Bio-Med Mater Eng* 1996;6:267–89.
126. ITIN VI, GYUNTER VE, SHABALOVSKAYA SA, SACHDEVA RLC. **Mechanical- properties and shape-memory of porous nitinol.** *Mater Charact* 1994;32:179–87.
127. FISCHER H, VOGEL B, WELLE A. **Applications of shape memory alloys in medical instruments. Minim Invasive Therapy Allied Technol** 2004;13:248–53.
128. AYERS R, BURKES D, GOTTOLI G, YI HC, MOORE JJ. **The application of self-propagating high-temperature synthesis of engineered porous composite biomedical materials.** *Mater Manufact Proc* 2007;22:481–8.
129. PONSONNET L, TREHEUX D, LISSAC M, JAFFREZIC N, GROSGOGEAT B. **Review of in vitro studies on the biocompatibility of NiTi alloys.** *Int J Appl Electromag Mech* 2006;23:147–51.
130. ES-SOUNI M, ES-SOUNI M, FISCHER-BRANDIES H. **Assessing the biocompatibility of NiTi shape memory alloys used for medical applications.** *Anal Bioanal Chem* 2005;381:557–67.
131. ASSAD M., LEMIEUX N., RIVARD C.H., YAHIA L'H. **"Comparative *in vitro* biocompatibility of nickel-titanium, pure Ni, pure Ti, and stainless steel: genotoxicity and atomic absorption evaluation"**, *Bio-Medical Materials Engineering*, 1999; 9:1-12
132. ASSAD M., YAHIA L'H., RIVARD C.H., LEMIEUX N. **"In vitro biocompatibility assessment of a nickel-titanium alloy using electron microscopy in situ end-labeling (EM-ISEL)"**, *Journal of Biomedical Materials Research* 1998; 41:154-161
133. KAPANEN A., KINNUNEN A., RYHÄNEN J., TUUKKANEN J. **"TGF- β 1 secretion of ROS-17/2.8 cultures on NiTi implant material"**, *Biomaterials* 2002; 23:3341-3346
134. ROCHER P., EL MEDAWAR L., HORNEZ J.C., TRASNEL M., BREME J., HILDEBRAND H.F. **"Biocorrosion and cytocompatibility assessment of NiTi shape memory alloys"**, *Scripta Materialia* 2004; 50:255-260

135. RYHÄNEN J, NIEMI E., SERLO W., NIEMELÄ E., SANDVIK P., PERNU H., SALO T. **"Biocompatibility of Nickel-titanium shape memory metal and its corrosion behavior in human cell cultures"**, *Journal of Biomedical Materials Research* 1997; 35:451-457
136. WEVER D.J., VELDHIJZEN A.G., SANDERS M.M., SCHAKENRAAD J.M., VAN HORN J.R. **"Cytotoxic, allergic and genotoxic activity of a nickel-titanium alloy"**, *Biomaterials* 1997; 18:1115- 1120
137. KAPANEN A., DANILOV A., LEHENKARI P., RYHÄNEN J., JÄMSÄ T., TUUKANEN J. **"Effect of metal alloy surface stresses on the viability of ROS-17/2.8 osteoblastic cells"**, *Biomaterials* 2002; 23:3733-40
138. WIRTH C., COMTE V., LAGNEAU C., EXBRAYAT P., LISSAC M., JAFFREZIC-RENAULT N., PONSONNET L. **"Nitinol surface roughness modulates in vitro cell response: a comparison between fibroblasts and osteoblasts"**, *Materials Science and Engineering C* 2005; 25:51-60
139. SHABALOVSKAYA S. **Surface, corrosion and biocompatibility aspects of Nitinol as an implant material**. *Bio-Medical Materials and Engineering* 2002; 12: 69–109
140. H. FUNAKUBO, **Shape Memory Alloys**, Cordon and Breach Science Publishers, 1984.
141. V. GYUNTER, P. SISOLYATIN AND P. TOMERKHANOVA, **Superelastic and shape memory implants**, in: *Maxillofacial Surgery, Traumatology, Orthopaedics, and Neurosurgery*, M. Mirgazizov and R. Ziganshin, eds, Tomsk University Publishing, Tomsk, 1995.
142. MCD. SCHETKY, **Shape memory alloys**, en: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol. 21, John Wiley & Sons, Inc., 1997, pp. 962–976.
143. S. SHABALOVSKAYA, **On the nature of the biocompatibility and medical applications of NiTi shape memory and superelastic alloys**, *BioMed. Mater. Eng.* 6 (1996), 267–289.
144. R. MICHEL, **Trace metal analysis in biocompatibility testing**, *CRC, Crit. Rev. Biocompat.* 3 (1987), 235–317.
145. D. WILLIAMS, en: **Biocompatibility of Clinical Implant Materials**, CRC Press, Boca Raton, FL, 1981, pp. 9–44.
146. S. ROGERS, C. HOWIE, S. GRAVES, M. REARCY AND D. HAYNES, **In vitro human monocyte response to wear particles of Ti alloy containing vanadium or niobium**, *J. Bone Jt. Surg.* 79B (1997), 311–315.
147. J. WANG, B. MWICKLAND, R. GUSTILO AND D. TSUKAYAMA, **Ti, Cr, and Co ions modulate the release of bone-associated cytokines by human monocytes/mackrophages in vitro**, *Biomaterials* 17 (1996), 2233–2240.

148. U. RIEDE, T. RUEEDI, Y. ROHNER, S. PERREN AND R. GUGGENHEIM, **Quantitative and morphologisheerfassung der geweberreaction auf metallimplante, I**, *Arch. Orthop. Unfall. Chir.* 78 (1974), 199–214.
149. U. RIEDE, T. RUEEDI AND F. LIMACHER, **Quantitative and morphologisheerfassung der geweberreaction auf metallimplante, II**, *Arch. Orthop. Unfall. Chir.* 78 (1974), 215–220.
150. ASSAD M, JARZEM P, LEROUX MA, COILLARD C, CHERNYSHOV AV, CHARETTE S, et al. **Porous titanium–nickel for intervertebral fusion in a sheep model: part 1. Histomorphometric and radiological analysis.** *J Biomed Mat Res Part B – Appl Biomat* 2003;64B:107–20.
151. LIKIBI F, ASSAD M, COILLARD C, CHABOT G, RIVARD CH. **Bone integration and apposition of porous and non porous metallic orthopaedic biomaterials.** *Annales De Chirurgie* 2005;130:235–41.
152. UNGER RE et al. **Tissue-like self-assembly in cocultures of endothelial cells and osteoblasts and the formation of microcapillary-like structures on three-dimensional porous biomaterials.** *Biomaterials* 2007;28:3965–76.
153. DUERIG T., PELTON A., STOCKEL D.. **An overview of nitinol medical applications.** *Materials Science and Engineering A* 273-275 (1999) 149-160
154. LÉVY F., P. HONES, P.E. SCHMID, R. SANJINÉS, M. DISERENS, C. WIEMER, *Surf. Coat. Technol.* 120–121 (1999) 284–290.
155. RESTREPO-PARRA E., S. AMAYA-RONCANCIO, C.M. BEDOYA-HINCAPIE, J.C. RIAÑO-ROJAS, *Superlattices and Microstructures*, 43 (2008) 559-563.
156. GALASSO F. S., **Structure and Properties of Inorganic Solids**, Pergamon Press, New York (1970)
157. KISLY P. S., **The Chemical Bond Strength and the Hardness of High Melting Point Compounds**, in *Science of Hard Materials*, Institute of Physics Conf. Series No. 75, Adam Hilger Ltd., Bristol, UK (1984).
158. RESTREPO PARRA, ELISABETH, ARANGO ARANGO, PEDRO JOSE y CASANOVA TRUJILLO, SIMEÓN. **Algunos conceptos sobre nitruro de titanio y el carburo de titanio.** *Dyna rev.fac.nac.minas, ene./abr.* 2009, vol.76, no.157, p.213-224.
159. L. IPAZ, W. APERADOR, J. C. CAICEDO, L. YATE, G. ZAMBRANO, M. E. GÓMEZ. **Caracterización Electroquímica de Bicapas de Ti/TiN Depositadas Sobre Acero RUS-3 por el Método de Magnetron Sputtering** *Revista Colombiana de Física*, vol. 40, No. 1, Marzo 2008
160. H. A. JEHN, *Surf. Coat. Technol.* 125, 212 (2000)
161. H. -H. HUANG et al. / *Applied Surface Science* 244, 252-256 (2005)
162. C. LIU et al. / *Surf. Coat. Technol.* 200, 4011-4016 (2006)

163. http://www.corriere.it/salute/reumatologia/11_gennaio_28/protesi-tumore-femore-gemelli_d6d6dc7a-2ad5-11e0-ade0-00144f02aabc.shtml
164. BAUMGART R, HINTERWIMMER S, KRAMMER M, MUENSTERER O, MUTSCHLER W. **The bioexpandable prosthesis: a new perspective after resection of malignant bone tumors in children.** *J Pediatr Hematol Oncol.* 2005 Aug;27(8):452-5.
165. PER-ULF TUNN. **Treatment of Bone and Soft Tissue Sarcomas.** Springer, 2008.
166. SCARANO A, PIATTELLI M, VRESPA G, PETRONE G, IEZZI G, PIATTELLI A. **Bone healing around titanium and titanium nitride-coated dental implants with three surfaces: an experimental study in rats.** *Clin Implant Dent Relat Res.* 2003;5(2):103-11
167. SCARANO A, PIATTELLI M, VRESPA G, PETRONE G, IEZZI G, PIATTELLI A. **Bacterial adhesion on titanium nitride coated and uncoated implants: an invivo human study.** *Journal of Oral Implantology* .Vol. XXIX No.2. 2003
168. GOLD, G. G. & J. JUBANY CASANOVAS. **Atlas de mineralogía.** s.l., Colección de ATLAS DE CIENCIAS, EDIBOOK,
169. KLOCKMANN, F. & RAMDOHR, P. **Tratado de Mineralogía,** Barcelona. Edit. Gustavo Gili S.A. 1955.
170. MOTTANA, A., R. CRESPI & G. LIBORIO. **Minerales y Rocas, guías de la naturaleza.** Baecelona, Editorial GRIJALBO.1999, 608 p.
171. KEAN W.F., FORESTIER F., KASSAM Y., BUCHANAN W.W., RONEY P.J. **The history of gold therapy in rheumatoid disease.** *Semin Arthritis Rheum.* 1985;14:180
172. RODNAN G.P., BENEDEK T.G. **The early history of antirheumatic drugs.** *Arthritis Rheum* 1970; 13: 145.
173. <http://scielo.isciii.es/pdf/cpil/v34n3/original4.pdf>
174. RAJA KUMMOONA, **Chrome cobalt and gold implant for the reconstruction of a traumatized orbital floor.** *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology.* Volume 41, Issue 3, March 1976, Pages 293-299
175. ABRAHAMSSON I, CARDAROPOLI G. **Peri-implant hard and soft tissue integration to dental implants made of titanium and gold.** *Clin. Oral Impl. Res.* 18, 2007; 269–274
176. P. THOMSEN, C. LARSSON, L. E. ERICSON. **Structure of the interface between rabbit cortical bone and implants of gold, zirconium and titanium.** *Journal of materials science: materials in medicine.* 8 (1997) 653-665

177. BRANEMARK P, ZARB G, ALBREKTSON T. **Prótesis tejido-integradas. La oseointegración en la Odontología clínica.** Barcelona: Quintessence; 1999.
178. MC KINNEY RJ, STEFLIK D, KOTH D. **The biological tissue response to dental implants.** En: McKinney RJ, ed. Endosteal dental implants. St. Louis.: Mosby Year Book; 1991. p. 37-50.
179. SCHENK RK, BUSER D. **Osseointegration: a reality.** Periodontology 2000 1998; 17: 22-35.
180. ALBREKTSSON T, JOHANSSON C. **Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration** Eur. Spine J. 2001; 10: S96-S101.
181. COOPER L. **Biological determinants of bone formation for osseointegration: Clues for future clinical improvements.** J. Prosthet. Dent. 1998; 80 (4): 439-449.
182. MATSUNO H, YOKOYAMA A, WATARI F, UO M, KAWASAKI T. **Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium.** Biomaterials 2001; 22: 1253-1262.
183. GAPSKI R, WANG HL, MASCARENHAS P, LANG N. **Critical review of immediate implant loading.** Clin. Oral Impl. Res. 2003; 14: 515-527.
184. BRANEMARK PI. **Osseointegration and its experimental background.** J. Prosthet Dent. 1983; 50 (3): 399-410.
185. JOOS U, MEYER U. **New paradigm in implant osseointegration.** Head and Face Medicine 2006; 2 (19): 1-2.
186. ADELL R, LEKHOLM U, ROCKLER B, BRANEMARK PI. **15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw.** Int. J. Oral Surg. 1981; 10: 387-416.
187. BRANEMARK R, BRANEMARK PI, RYDEVIK B, MYERS R. **Osseointegration in skeletal reconstruction and rehabilitation. A review.** J. Rehab. Reseach Dev. 2001; 38 (2): 175-181.
188. HANSSON HA, ALBREKTSSON T, BRANEMARK PI. **Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants.** J. Prosthet. Dent. 1983; 50 (1): 108-113.
189. LINDHE J, KARRING T, ARAUJO M. **Anatomy of the periodontium.** En: Lindhe J, Karring T, Lang N, eds. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Blackwell Munksgaard, 2003: 3-49.
190. SAFFAR JL, LASFARGUES JJ, CHERRUAU M. **Alveolar bone and the alveolar process: The socket that is never stable.** Periodontology 2000 1997; 13: 76-90.
191. DAVIES J. **Understanding peri-implant endosseous healing.** Journal of dental education 2003; 67 (8): 932-949.

192. PULEO DA, NANJI A. **Understanding and controlling the bone-implant interface.** Biomaterials 1999; 20: 2311-2321.
193. DAVIES J. **Bone bonding at natural and biomaterial surfaces.** Biomaterials 2007; 28: 5058-5067.
194. ELLINGSEN J, THOMSEN P, LYGSTADAAS P. **Advances in dental implant materials and tissue regeneration.** Periodontology 2000 2006; 41: 136-156.
195. SIKAVITSAS V, TEMENOFF J, MIKOS A. **Biomaterials and bone mechanotransduction.** Biomaterials 2001; 22: 2581-2593.
196. SCHWARTZ Z, LOHMANN CH, COCHRAN DL, SYLVIA VL, DEAN DD, BOYAN BD. **Bone regulation mechanism on implant surfaces.** En: Lang NP, Karring T, Lindhe J (eds.). proceedings of the 3rd European Workshop on Periodontology. Implant Dentistry. Berlin: Quintessence publishing Co,1999; 6:55-61
197. DAVIES J. **Mechanisms of endosseous integration.** Int J Prosthodont 1998;11:391-401.
198. OSBORN J, NEWESLEY H. **Dynamics aspect of the implant-bone interface.** En: Heimke G, ed. Dental implants- Materials and Systems. Munich: Carl Hanser; 1980. p. 111-23.
199. KUPP L. **Superficies de implante y formación de hueso.** Insight 2000;3:10-2.
200. HOLLINGER J, BUCK D, BRUDER S. **Biology of bone healing: its impact on clinical therapy.** En: Lynch S, ed. Tissue ingeneering. Carol Stream: Quintessence; 1999. p. 17-54.
201. SHIBATA Y, HOSAKA M, KAWAI H, MIYAZAKI T. **Glow discharge plasma treatment of titanium plates eshances adhesion of osteoblast-like cells to plates through the integrin-mediated mechanism.** Int J Oral Maxillofac Implants 2002;17:771-7.
202. MEYER U, JOOS H, WIESSMANN J. **Biological and biophysical principles in extracorporeal bone tissue engineering.** Part I. Int J Oral Maxillofac Surg 2004;33:325-32.
203. LAVOS-VALERETO I, DEBONI M, AZAMBUJA N, MARQUES M. **Evaluation of the titanium Ti-6Al-7Nb alloy with and without plasma-sprayed hydroxyapatite coating on growth and viability of cultured osteoblast-like cells.** J Periodontol 2002;73:900-5.
204. SENNERBY L. **On the bone tissue response to titanium implants.** Gothemburg: University of Gothemburg; 1991.
205. BIANCHI A. Prótesis implantosoportada. **Bases biológicas. Biomecánica. Aplicaciones clínicas.** Caracas: Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica; 2001.

206. ALBREKTSSON T, BRANEMARK P, HANSSON H, IVARSSON B, JONSSON U. **Ultrastructural analysis of the interface zone of titanium and gold implants.** Adv Biomater 1982;4:167-77.
207. HANSSON H, ALBREKTSON T, BRANEMARK P. **Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants.** J Prosthet Dent 1983;50:109-13.
208. MANERO J, SALSENCH J, NOGUERAS J, APARICIO C, PADRÓS A, BALCELLS M, Y COLS. **Growth of bioactive surfaces on dental implants.** Impl Dent 2002;11:170-3.
209. MANERO J, SALSENCH J, NOGUERAS J, APARICIO C, PADRÓS A, BALCELLS M, Y COLS. **Crecimiento de las superficies bioactivas en implantes dentales.** Rev Esp Odontoestomatol Impl 2002;10:224-8.
210. BRUNSKI J. **Influence of biomechanical factors at the bone-biomaterial interface.** En: Davis J, ed. The bone-biomaterial interface. Toronto: Univ Toronto Press; 1991. p. 391-405.
211. SEPA (sociedad española de periodoncia y osteointegración). **manual sepa de periodoncia y terapéutica de implantes fundamentos y guía práctica.** ed. prensa medica panamericana. 2005. pp. 275
212. PEÑARROCHA DIAGO M, OLTRA MOSCARDÓ M, SANCHÍS BIELSA J. **Conceptos generales de implantología.** En: Peñarrocha Diago M, ed. Implantología Oral. Barcelona: Medicina stl Editores; 2001. p. 3-17
213. RODRIGUEZ RIUS D, GARCÍA SABAN F. **Caracterización fisico-química de la superficie de 9 implantes dentales con 3 distintos tratamientos de superficie.** Med Oral Pathol Oral Cir Bucal 2005;10:58-65.
214. ERICSSON I, NILSON H, NILNER K. **Immediate functional loading of Branemark single tooth implants. A 5-year clinical follow-up study.** Applied Osseoint Res 2001;2:12-6.
215. ADRIAENSSENS P, HERMANS M. **Immediate implant function in the anterior maxilla: a surgical technique to enhance primary stability for branemark MkIII and MkIV implants. A randomised, prospective clinical study at the 1-year follow up.** Applied Osseoint Res 2001;2:17-21.
216. ALBREKTSON T, ZARB G, WORTHINGTON P, ERIKSSON A. **The long-term efficacy of currently used dental implants: And review and proposed criteria for succes.** Int J Oral Maxillofac Implants 1987;1:11-26.
217. TEERLINCK J, QUIRYNEN M, DARIUS P, VAN STEENBERGHE D. **Periotest: an objective clinical diagnosis of bone apposition toward implants.** Int J Oral Maxillofac Implants, 1991;6:55-61.

218. MEREDITH N, ALLEYNE D, CAWLEY P. **Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis.** Clin Oral Implant Res, 1996;7:261-267.
219. MANZANARES M, FRANCH J, CARVALHO P, MONTESDECOA J, GARCÍA J, GRECO Y, Y COLS. **El papel de los tejidos calcificados en la osteointegración de los implantes metálicos.** Dentum 2003;3:6-14.
220. STEFLIK D, HANES P, SISK A, PARR G, SONG M, LAKE F, Y COLS. **Transmission electron microscopic and high voltage electron microscopic observations of the bone and osteocyte activity to unloaded dental implants placed in dogs.** J Periodontol 1992;63:443-52.
221. TRESGUERRES I, ALOBERA M, BACA R, TRESGUERRES J. **Histologic, morphometric, and densitometric study of peri-implant bone in rabbits with local administration of growth hormone.** Int J Oral Maxillofac Implants 2005;20:193-202.
222. TRISI P, RAO W, REBAUDI A. **A histometric comparison of smooth and rough titanium implants in human low-density jawbone.** Int J Oral Maxillofac Implants 1999;14:689-98.
223. HAYAKAWA T, KIBA H, YASUDA S, YAMAMOTO H, NEMOTO K. **Valoración histológica e histomorfométrica de dos tipos de implantes de titanio recuperados en seres humanos.** Rev Int Odontol Res Periodon 2002;6:169-75.
224. GOTTLANDER M, ALBREKTSSON T, CARLSSON L. **A histomorphometric study of unthreaded hydroxyapatite-coated and titanium-coated implants in rabbit bone.** Int J Oral Maxillofac Implants 1992;7:485-90.
225. PERIS J. L., PRAT J., COMIN M., R. DEJOZ, I. ROGER y P. VERA. **Técnica histológica para la inclusión en metilmetacrilato de muestras óseas no descalcificadas.** Rev Esp Cir Osteoart 1993; 28: 231-238.
226. LÓPEZ-VIDELA G, RUDOLPH M, GUZMÁN CL. **Valoración digital de índices de atenuación radiológica de estructuras anatómicas normales y materiales dentales observables en imágenes panorámicas.** Rev Fac Odontol Univ Antioq 2009; 20(2):119-128. 1 semestre, 2009
227. BARBIERI PETRELLI G, FLORES GUILLÉN J, ESCRIBANO BERMEJO M, DISCEPOLI N. **Actualización en radiología dental. Radiología convencional Vs digital.** Av. Odontoestomatol 2006; 22-2: 131- 139.
228. GÓMEZ E. **Método de análisis de coincidencias de imágenes médicas y/o de microscopia.** World Intellectual Property Organization WIPO [Documento en línea] 2000; URL disponible en:
<http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?IA=ES1999000385&DISPLAY=DESC>.
229. FREDERIKSEN NL. **Diagnostic imaging in dental implantology.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1995;80:540-554.

230. GRÛNDAHL, K.; EKESTUBE, A. **Radiography in Oral Endosseous prosthetics**. Nobel Biocare, 1a Ed., 1996.
231. CICERO DINATO J, DAUT POLIDO V. **Implantes Óseointegrados, Cirugía y Prótesis**. Artes Medicas Latinoamérica. 2003
232. TAL H, MOSES O. **A comparison of panoramic radiography with computed tomography in the planning of implant surgery**. Dentomaxillofacial Radiology. 1991; 20:1:40-41.
233. DREISEIDLER TIMO, MISCHKOWSKI ROBERT. [Comparison of cone-beam imaging with orthopantomography and computerized tomography for assessment in presurgical implant dentistry](#). The International Journal of Maxillofacial Implants.2002; 24:2
234. MUPPARAPU M, SINGER SR. **Implant imaging for the dentist**. J Can Dent Assoc. 2004;70: 32.
235. VICTORIA UNIVERSITY OF MANCHESTER. **Radiation Protection 136. European guidelines on radiation protection in dental radiology**. Luxemburg: European Commission, 2004.
236. HARRIS D, BUSER D, DULA, K Y COLS. **E.A.O. guidelines for the use of diagnostic imaging in implant dentistry. A consensus workshop organized by the European Association for Osseointegration in Trinity College Dublin**. Clin Oral Implants Res. 2002;13:566-70.
237. KRAUT RA. **Acase for routine computed tomography imaging of the dental alveolus before implant placement**. J Oral Maxillofac Surg. 2001;59:64-7.
238. HANAZAWA T, SANO T, SEKI K, OKANO T. **Radiologic measurements of the mandible: a comparison between CT-reformatted and conventional tomographic images**. Clin Oral Implants Res. 2004;15:226-32.
239. TYNDALL AA, BROOKS SL. **Selection criteria for dental implant site imaging: a position paper of the American Academy of Oral and Maxillofacial radiology**. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2000;89:630-7.
240. KLINGE B, PETERSON A. **Location of mandibular canal, comparison of macroscopic findings, conventional radiography and computed tomography**. International Journal of Oral and Maxillofacial Implants. 1989;4:327-332.
241. ARANA-FERNÁNDEZ DE MOYA E, BUITRAGO-VERA P, BENET-IRANZO F, TOBARRA-PÉREZ E. **Tomografía computerizada: introducción a las aplicaciones dentales**. RCOE, 2006, Vol 11, N°3, 311-322.
242. SCRIBANO E, ASCENTI G, MAZZIOTTI S, BLANDINO A, RACCHIUSA S, GUALNIERA P. **Computed tomography in dental implantology: médico- legal implications**. Radiol Med (Torino); 2003: 105:92-9.

243. CODY DD. **AAPM/RSNA physics tutorial for residents: topics in CT. Image processing in CT.** Radiographics. 2002;22:1255-68.
244. http://classivlasers.com/about/laser_history.asp
245. <http://www.bersant.cl/bibliotecas/tekin/terapia-laser.html>
246. MATAMALA, F, VEUTHEY, C, MOLINA, B *et al.* **Efecto del láser infrarrojo de uso clínico sobre el perineuro de nervio isquiático de conejo.** *Arch. med. vet.* 2001, vol.33, no.2
247. <http://www.terapiasenergeticas.net/Laser.htm>
- 248 <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacion/laserterapia.pdf>
249. DORTBUDAK O, HAAS R, MAILATH-POKORNY G. **Effect of low-power laser irradiation on bony implant sites.** *Clin Oral Implants Res* 2002;13:288-92.
250. GUZZARDELLA GA, TORRICELLI P, NICOLI-ALDINI N, GIARDINO R. **Osseointegration of endosseous ceramic implants after postoperative low-power laser stimulation: An *in vivo* comparative study.** *Clin Oral Implants Res* 2003;14:226-32.
251. KREISLER M, KOHEN W, MARINELLO C Y COLS. **Antimicrobial efficacy of semiconductor laser irradiation on implant surfaces.** *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:706-11.
252. DICKSON GR, CLINGEN H, JORDAN GR, LINTON T. **The effect of low level laser therapy on alkaline phosphatase expresion during fracture repair.** *Laser Ther* 1994;6:16-7.
253. GLINKOWSKI W, ROWINSKY J. **Effect of low incident levels of infrared laser energy on the healing of experimental bone fracture.** *Laser Ther* 1995;7:67-70.
254. CHEN J, ZHOU Y. **Effect of low level carbon dioxide laser radiation on biochemical metabolism of rabbit mandibular bone callus.** *Laser Ther* 1989;1:83-7.
255. TRELLES MA, MAYAYO E. **Bone fracture consolidates faster with low power laser.** *Lasers Surg Med* 1987;7:36-45.
256. AUSSEL A, LE BRUN JC, BADOUX JC. **Generating acoustic waves by laser: theoretical and experimental study of the emission source.** *Ultrasonic* 1988;26:245-55.
257. PILLA AA, NASSER PR, KHAN SA, FIGUEIREDO M, KAVFMAN JJ, SIFFERT RS. **Non-invasive low-intensity pulse ultrasound accelerates bone healing in the rabbit.** *J Orthop Traum* 1990;4:246-53.
258. SILVA JÚNIOR, A. N.; PINHEIRO, A. L.; OLIVEIRA, M. G.; WEISMANN, R.; RAMALHO, L. M. & NICOLAU, R. A. **Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study.** *J. Clin. Laser Med. Surg.*, 20(2):83-7, 2002.

- 259.** BARUSHKA, O.; YAAKOBI, T. & ORON, U. **Effect of low-energy laser (He-Ne) irradiation on the process of bone repair in the rat tibia.** *Bone*, 16(1):47-55, 1995.
- 260.** DICKSON, G. R.; CLINGEN, H.; JORDAN, G. R. & LINTON, T. **The effect of low level laser therapy on alkaline phosphatase expression during fracture repair.** *Laser The.*, 6:16-7, 1994.
- 261.** LIRANI, A. P. & LAZARETTI-CASTRO, M. **Evidences of physical agents action on bone metabolism and their potential clinical use.** *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, 49(6):891-6, 2005.
- 262.** STEIN, A.; BENAYAHU, D.; MALTZ, L. & ORON, U. **Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro.** *Photomed. Laser Surg.*, 23(2):161-6, 2005.
- 263.** MARTINASSO, G.; MOZZATI, M.; POL, R.; CANUTO, R. A. & MUZIO, G. **Effect of superpulsed laser irradiation on bone formation in a human osteoblast-like cell line.** *MinervaStomatol.*, 56(1-2):27-30, 2007.
- 264.** MERLI, L. A.; SANTOS, M. T.; GENOVESE, W. J. & FALOPPA, F. **Effect of low-intensity laser irradiation on the process of bone repair.** *Photomed. Laser Surg.*, 23(2):212-5, 2005.
- 265.** POURZARANDIAN, A.; WATANABE, H.; AOKI, A.; ICHINOSE, S.; SASAKI, K. M.; NITTA, H. & ISHIKAWA, I. **Histological and TEM examination of early stages of bone healing after Er:YAG laser irradiation.** *Photomed. Laser Surg.*, 22(4):342-50, 2004.
- 266.** LIRANI, A. P. & LAZARETTI-CASTRO, M. **Evidences of physical agents action on bone metabolism and their potential clinical use.** *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, 49(6):891-6, 2005.
- 267.** OZAWA, Y.; SHIMIZU, N.; KARIYA, G. & ABIKO, Y. **Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells.** *Bone*, 22(4):347-54, 1998.
- 268.** PEDEMONTE, S. M. E; SUAZO, G. I. C.; CANTÍN L. M. & SCHNEEBERGER, L. D. C. **Low level laser in odontostomatology practice, a critical review.** *Int. J. Odontostomat.*, 2(1):53-60, 2008.
- 269.** R. DIMITRIOU AND G.C. BABIS: **Osseointegration-Biophysical stimulation.** *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2007; 7(3):253-265
- 270.** MARIN ESCOBAR, Et al. **Efecto del láser blando de he-ne de 2mw en la formación de la interfase hueso implante en tibia de conejos.** *Revista Colombiana de Investigación en Odontología* 2009;1(1):97-105
- 271.** TEIXEIRA S, QUEIROZ AC, MONTEIRO FJ. **Osteoblast Proliferation and Morphology Analysis on Laser Modified Hydroxyapatite Surfaces: Preliminary Results.** *Key Engineering Materials Vols. 309-311 (2006) pp. 105-108*

272. FREITAS *et al.* **Laser effects on osteogenesis.** *Applied Surface Science* 154–155 (2000) 548–554
273. GUZZARDELLA GA, TORRICELLI P, NICOLI-ALDINI N, GIARDINO R. **Osseointegration of endosseous ceramic implants after postoperative low-power laser stimulation: an in vivo comparative study.** *Clin. Oral Impl. Res.* 14, 2003; 226–232
274. OLTRA-ARIMON D, ESPAÑA-TOST AJ, BERINI-AYTÉS L, GAY-ESCODA C. **Aplicaciones del láser de baja potencia en Odontología.** *RCOE* 2004;9(5):517-524.
275. LANDAETA, B. M. J.; SUAZO, G. I. C.; CANTIN, L. M.; ROA, H. I. J.; ZAVANDO, M. D. A. **Efecto de la terapia láser de baja potencia sobre el hueso alveolar dañado.** *Int. J. Morphol.*, 26(3):639-642, 2008.
276. MIER M. **Laserterapia y sus aplicaciones en Odontología.** *Práctica Odontológica* 1989; 10:9-16.
277. BASFORD JR. **Low intensity laser therapy. Still not an established clinical tool.** *Lasers Surg Med* 1995;16:331-42.
278. <http://www.pressingdental.com/index.php/mod.eventos/mem.homeAgenda/idmenu.14/chk.0b055f29b67e9755a54b35035bec1319.html>
279. ¿Qué es la ozonoterapia? Promédica. Generadores de ozono para su uso en medicina. 2002. <http://www.prodmedica.com/contactar.html>
280. ESPERANZA S. Ozonoterapia (2000).<http://www.juanborzi.com.ar>
281. GORBUNOV SN. The use of ozone in the treatment of children suffered due to different catastrophies. Stamford, CT: International Ozone Association, 1993:31-3.
282. KRAMER F. Ozone in the dental practice. Medical applications of ozone. Norwalk, CT: International Ozone Association, 1983: 258-65.
283. VELÁSQUEZ F. **El ozono una revisión histórica.** Ed. Mc Graw Hill Professional. 1996; Vol. 2: 34-38
7. FDA Aprueba uso de Ozono (<http://www.fda.gov/OHRMS/Dockets98/fr/062>)
284. Ozonoterapia y productos naturales ozonizados. Naturozone 2003. <http://www.naturozone.com/español/index.html>
285. ANTÚNEZ GF. **El ozono y la ozonoterapia.** revista ozonoterapia. Vol. 1, Núm. 1 Enero-Diciembre 2008 pp 5-6
286. NAGAYOSHI M, FUKUIZUMI T, KITAMURA C, YANO J, TERASHITA M, NISHIHARA T: **Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms.** *Oral Microbiol Immunol* 2004a; 19: 240-246

287. MACHIAVELLI PELÁEZ RH. Métodos o procedimientos terapéuticos. Otras posibilidades médicas. <http://www.salud-sin-dolor.com/tofm30/index.html>
288. ARANO JM. Propuesta experimental para el mantenimiento en periodoncia mediante oxigenoterapia. <http://www.odontologia-online.com>
289. ILZARBE LM. Nuevo método para el blanqueamiento de dientes vitales mediante gases hiperoxidantes naturales. <http://www.electrozono.com/formulario-blanqueamiento.asp>
290. ILIZARBE LM. Generalidades. Aplicaciones en medicina y odontología. <http://www.icqmed.com/ilz.htm>
291. VILLEGAS C.A. **Las aplicaciones del ozono en odontología.** Trabajo presentado en el "XI ENCUENTRO ESTUDIANTIL DE LA CARRERA DE CIRUJANO DENTISTA" FES Iztacala 2009.
292. DAHLIN, C.; SENNERBY, L.; LEKHOLM, U.; LINDE, A.; NYMAN, S.: **Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique:** an experimental study in rabbits. *Int-J-Oral-MaxillofacImplants*.4(1): 19-25, 1989.
293. ARCHUNDIA,ABEL. **Educación quirúrgica para el estudiante de la salud.** Mendez editores. Mexico, 1997
294. **NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.**
295. KINGSBURY G. HEIPLE, SAMUEL W. CHASE and CHARLES H. HERNDON. **A Comparative Study of the Healing Process Following Different Types of Bone Transplantation.** *J Bone Joint Surg Am.* 1963;45:1593-1616
296. KASEMO B.. LAUSMAA, *CRC Crit Rev. Biocomp.* (1986) 335.
297. RATNER B. D., *J. Biomed. Mater. Res.* 27 (1993) 837.
298. BAIER R. E., A. E. MEYER and J. R. NATIELLA, **Tissue integration in oral, orthopedic and maxillofacial reconstruction.** *Quintessence.*1992 pp. 240-249.
299. ADELL R., U. LEKHOLM, PI. BRANEMARK. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* (1990) 347.
300. BRANEMARK, G. A. ZARB, T. ALBREKTSSON. **Tissue integrated prostheses: Osseointegration in clinical practice.** *Quintessence.* 1985.
301. WILLIAMS D. F., *J. Med. Eng. Technol.* 1 (1977) 266.
302. HEINRICH V. E.. **The surface science of metal oxides.** Cambridge University Press, 1994.

303. ALBREKTSSON, TI. BRANEMARK. *Advances in biomaterials*, Vol. 4, Wiley, Chichester, 1982, 335 pp.
304. ALBREKTSSON T, HANSSON H.A, IVARSSON B. **Interface analysis of titanium and zirconium bone implants.** *Biomaterials*. Vol. 6, No. 2. 1985, pp 97-101
305. DE MAEZTU, M. A., ALAVA, J. I. AND GAY-ESCODA, C. **Ion implantation: surface treatment for improving the bone integration of titanium and Ti6Al4V dental implants.** *Clinical Oral Implants Research* 2003; 14: 57–62.
306. HÄMMERLE CHF, SCHMID J, LANG NP, OLAH AJ. **Temporal dynamics of healing in rabbit cranial defects using guided bone regeneration.** *J Oral Maxillofac Surg* 1995;53:167-74.
307. URIST MR. **Bone-Formation by autoinduction.** *Science* 1965;150:893-9.
308. KABAN LB, GLOWACKI J. **Induced osteogenesis in the repair of experimental mandibular defects in rats.** *J Dent Res* 1981;60:1356-64.
309. DOREA HC, MCLAUGHLIN RM, CANTWELL HD, READ R, ARMBRUST L, POOL R, et al. **Evaluation of healing in feline femoral defects filled with cancellous autograft, cancellous allograft or Bioglass.** *Vet Comp Orthop Traumatol* 2005;18:157-68.
310. LASA C, HOLLINGER J, DROHAN W, MACPHEE M. **Delivery of demineralized bone power fibrin sealant.** *Plast Reconstr Surg* 1995;96:1409-18.
311. DIEZ GARCIA, CHAVEZ ARIAS, Et al. **modelo experimental de fracturas y consolidación ósea.** *Rev Mex Ortop* 2002; 16(3): may-jun 113-117.
312. LOPES CB, SATHAIAH S, PINHEIRO ALB, DUARTE J, MARTINS MC; **Laser biomodulation in bone implants: a raman spectral study.** *SPIE* (2003); 4950:347-354.
313. FREITAS et al. **Laser effects on osteogenesis.** *Applied Surface Science* (2000) 548–554
314. NAGASAWA A, KATO K, NEGISHI A, **Bone regeneration effect of low level lasers including argon laser.** *Laser Therapy*;1991. 3:59-62.
315. KHADRA M. **The effect of low level laser irradiation on implant-tissue interaction. In vivo and in vitro studies.** *Swed Dent J Suppl*(2005), 172: 1-63.
316. DIXON AD, SARNAT G, HOYTE DAN. **Fundamentals of Bone Growth: Methodology and Applications.** CRC Press, 1991;35-49
317. GORET-NICAISE M, DHEM. A. **Presence of chondroid tissue in the symphyseal region of the growing human mandible.** *Acta Anat* 1982;113:189-95.

318. MANZANARES MC, GORET-NICAISE M, DHEM A. **Metopic sutural closure in the human skull.** *J Anat* 1988;161:203-15.
319. MIZOGUCHI I, NAKAMURAM, TAKAHASHI I, SASANO Y, YAGAYAMA M, MITANI H. **Presence of chondroid bone on rat mandibular cartilage.** *Anat Embryol* 1993 187:9-15.
320. DONATH K. **The diagnostic value of the new method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissue.** *Path. Res.Pract.* 1985;179:631-3.
321. MANZANARES MC, GORET-NICAISE M, DHEM A. **Differentiation of mesenchyme in chondroid tissue: a biomechanical hypothesis.** *Arch Biol (Suppl 1)*1986;75.
322. KHADRA M, KASEM N, LYGSTADAAS SP, HAANAES HR, MUSTAFA K. **Laser therapy accelerates initial attachment and subsequent behaviour of human oral fibroblasts cultured on titanium implant material. A scanning electron microscope and histomorphometric analysis.** *Clin Oral Implants Res.* 2005 Apr;16(2):168- 75.
323. ROBERTS EW, GARETTO LP, BREZNIAK N. **Bone physiology and Metabolism.** En: *Misch CE Contemporary Implant Dentistry.* Mosby, 1998;327-68.
324. SCHRÖDER U. **Effects of calcium-hydroxyde-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation and differentiation.** *J Dent Res* 1985;64:541-8.
325. OLATE, S.; DE OLIVEIRA, G. R.; JAIMES, M. & BARBOSA J. R. A. **Cicatrización ósea en procedimientos de reconstrucción y colocación de implantes.** *Int. J. Morphol.,* 25(3):649-657, 2007.
326. PERIS J. L., PRAT J, M. COMIN, R. DEJOZ, I. ROGER y P. VERA. **Técnica histológica para la inclusión en metilmetacrilato de muestras óseas no descalcificadas.** *Rev Esp Cir Osteoart* 1993; 28: 231-238
327. OLATE, S.; CHAVES-NETTO, H. D. M.; JAIMES, M.; MAZZONETTO, R. & ALBERGARIA-BARBOSA, R. J. **Análisis descriptivo de la reparación ósea asociada a implantes dentales endóseos instalados en perros con técnica sumergida en dos periodos de evaluación.** *Int. J. Morphol.,* 27(2):453-458, 2009.
328. FERNÁNDEZ-TRESGUERRES-HERNÁNDEZ-GIL I, ALOBERA GRACIA MA, DEL CANTO PINGARRÓN M, BLANCO JEREZ L. **Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue.** *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:E47-51.
329. FERNÁNDEZ-TRESGUERRES-HERNÁNDEZ-GIL I, ALOBERA-GRACIA MA, DEL CANTO-PINGARRÓN M, BLANCO-JEREZ L. **Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process.** *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:E151-7.
330. MANDALUNIS P. M. **Remodelación ósea.** *Actualiz Osteología* 2(1): 16-18, 2006

331. CONS MOLINA FIDENCIO .**Marcadores Bioquímicos de Remodelado Óseo**. *Metab Oseo Min* 2003; 1(3):91-98.
332. GOLDBERG P y cols.**Bases científicas de la implantología** .*Revista ADM* 2003;LX(3):110-114
333. TREVIÑO BE. **Lasers en odontología**. *Revista ADM* 2000;LVII(4):137-142
334. LANDAETA, B. M. J.; SUAZO, G. I. C.; CANTIN, L. M.; ROA, H. I. J.; ZAVANDO, M. D. A. **Efecto de la terapia láser de baja potencia sobre el hueso alveolar dañado**. *Int. J. Morphol.*, 26(3):639-642, 2008.
335. GUERCIO E. DINATALE E. **Consideraciones estructurales y biológicas en la oseointegración. Revisión de la literatura**. *Acta Odontológica Venezolana - VOLUMEN 47 N1*. 2009
336. OLTRA-ARIMON D, ESPAÑA-TOST AJ, BERINI-AYTÉS L, GAY-ESCODA C. **Aplicaciones del láser de baja potencia en Odontología**. *RCOE* 2004;9(5):517-524.
337. FREITAS ET AL. **Laser effects on osteogenesis**. *Applied Surface Science* 154–155 (2000) 548–554
338. ESPAÑA-TOST AJ, ARNABAT-DOMÍNGUEZ J, BERINI-AYTÉS L, GAY-ESCODA C. **Aplicaciones del láser en Odontología**. *RCOE* 2004;9(5):497-511.
339. STEFLIK DE, MCKINNEY RV. **Historia de la implantología**. En: **McKinney RV, ed. Implantes dentales endoóseos**. Barcelona: Mosby, 1993: 8-18.
340. PEÑARROCHA M, OLTRA MJ, SANCHÍS JM. **Conceptos generales de implantología**. En: **Peñarrocha M, ed. Implantología oral**. Barcelona: Ars Medica, 2006: 3-18.
341. GARCÍA-ROCO PÉREZ O, MÉNDEZ MARTÍNEZ M J. **Breve historia de la cirugía bucal y máxilofacial**. *Rev Humanidades Médicas* [serie en Internet] 2002 [citado 24 Abril 2010]; 2(4):[aprox. 13 p.]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/humanidades/vol2_4_02/rh302.htm
342. CAMPANIONI FA. **Contribución a la historia de la estomatología cubana**. Ciudad de La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 2000:11-162.
343. RING ME. **Historia ilustrada de la odontología**. Barcelona:Doyma, 1989.
344. GÓMEZ M, AVILA R, LANDA S. **Evolución histórica de la implantología dental**. *Rev Esp Estomatol* 1988; 36(30): 303-10.
345. SANZ J. **Historia de la odontología española**. Barcelona: Masson, 1998:29-34.
346. BRÅNEMARK P, ZARB G, ALBREKTSSON T. **Tissue integrated prostheses: Osseointegration in clinical dentistry**. Chicago: Quintessence Publishing, 1985.

347. ADELL R, ERIKSSON B, LEKHOLM U, BRÅNEMARK P-I, JEMT T. **Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws.** *Int J Oral Maxillofac Implants* 1990;5:347-59.
348. RUIZ MILLARES S, BECERRA TROYA M. **Algunos aspectos de la historia de la estomatología en Cuba.** *Rev Cubana Estomatol* 1989; 26(3): 148-55.
349. LÓPEZ ESPINOSA JA. **Bosquejo histórico de la bibliografía cubana sobre estomatología.** *Rev Cubana Estomatol* 1999; 36(1): 5-16.
350. GAY ESCAODA C, BERINI L. **Cirugía bucal.** Madrid: Ergon, 1999: 352-8.
351. USTRELL JM. **Historia de la odontología.** Barcelona: Ed. UB, 1997: 23-45.
352. GAY ESCODA C. **Fuentes de la cirugía bucal y máxilofacial y selección bibliográfica.** 3era ed. Barcelona: Gráficas Signo, 1998: 15-109.
353. DONADO M, GUIADO B, DONADO A. **Implantes dentales aloplásticos.** En: Donado M, ed. **Cirugía bucal, patología y técnica.** Madrid: Masson, 1998: 511-22.
355. CASTRO RUZ F. **Discursos seleccionados.** Ciudad de La Habana: Edit. Consejo de Estado, 2004: 23-41.
356. ASSAEL LA. **Translating science: from idea to research to clinical practice.** *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63(6): 729-33.
357. DZHOROV A, DZHOROVA I. **Maxillofacial surgery: history, present, perspective.** *Khirurgiia* 2003; 59(6): 30-5.
358. STELLINGSMA C, VISSINK A, MEIJER HJ, KUIPER C, RAGHOEBAR GM. **Implantology and the severely resorbed edentulous mandible.** *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15(4): 240-8.
359. WOO VV, CHUANG SK, DAHER S, MUFTU A, DODSON TB. **Dentoalveolar reconstructive procedures as a risk factor for implant failure.** *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62(7): 773-80.
360. RÍO J, FRAILE A, GHISE S, GARCÍA M, SELNIC C. **Planificación en implanto-prótesis.** *Rev Int Prot Estomatol* 2003; 5(4): 293-303.
361. DELGADO BUENROSTRO, NORMA LAURA, MARÍA ESTHER REVUELTA MIRANDA. **Guía práctica para el manejo de animales de laboratorio.** 1ª edición. UNAM-FES-Cuautitlán (1993), México. Págs: 80-83

*"I'd like to say 'thank you' on behalf of the group and ourselves, and I hope we passed the audition!"
(The Beatles. Rooftop concert, 1969)*