

7

Respuesta *in vivo* de implantes dentales de Ti c.p. rugosos y bioactivos

“El camino es la meta”

Proverbio japonés

7.1. Introducción

7.1.1. Ámbito

El éxito de los implantes dentales se evalúa en función de la consecución de la osteointegración, cuya definición es ampliamente examinada en el Capítulo 1 de esta Tesis Doctoral. Existen diferentes perspectivas que han influenciado el concepto de osteointegración que, como consecuencia, se ha definido desde diversos puntos de vista. Estos incluyen la descripción de resultados clínicos, la morfología y la ultraestructura de la interfaz entre el hueso y el implante, así como la determinación y evaluación de la capacidad mecánica interfacial [BLT95] y de la velocidad de los procesos de crecimiento e interacción del tejido óseo con el implante.

La mayor confianza y la mayor precisión del comportamiento de un implante se consigue con los resultados de los estudios clínicos. Está claro que, debido a la incertidumbre que los nuevos diseños de implantes generan respecto a su posible respuesta biológica, previa a la colocación y análisis de los nuevos implantes en pacientes, es conveniente trabajar con otros modelos del comportamiento de los mismos que permitan tomar decisiones de la validez del nuevo producto o de su mejora con respecto a los productos ya existentes en la práctica clínica. Sin embargo, la extrapolación de los resultados de los modelos experimentales (incluyendo los modelos animales) a los resultados clínicos es, obviamente, difícil. Tal y como dicen Larsson y col. [LEL01]: “Las variaciones entre el humano y las diferentes especies animales, la ubicación de los implantes y el estado del tejido receptor rara vez se analizan e interrelacionan de manera completamente comprensible”. No obstante, es importante el desarrollo y el empleo de modelos experimentales apropiados [RSA89], como pueden ser la tibia del conejo y de oveja, o la mandíbula de perro, de mono y de cerdo, por citar los más empleados para el análisis de la respuesta de los implantes dentales [BUS01].

Así pues, la osteointegración de los diferentes tipos de superficies se ha venido ensayando en múltiples estudios *in vivo*, empleando diferentes modelos animales, a través de diferentes respuestas. Las respuestas de la calidad de la osteointegración que se analizan son, en la mayoría de los casos [BUS01]:

- 1.- El análisis cualitativo de la respuesta histológica de curación del hueso tras la colocación del implante;
- 2.- El análisis cuantitativo histomorfométrico, principalmente del porcentaje de hueso en contacto directo con el implante; y/o
- 3.- La evaluación de la fijación biomecánica del implante, principalmente con la determinación del par de torsión necesario para su aflojamiento, o ensayos *pull-out* o *push-out*.

En los últimos años se han publicado trabajos en los que se proponen nuevas propiedades histológicas y biomecánicas como alternativas a estas tres [BSW97]; [AYS01]; [RAJ01]; [LFB02]; [ROE02]; [SRP02], pero su uso no está generalizado.

En lo que se refiere al estudio en esta Tesis Doctoral, ésta se concluye con un estudio *in vivo*. En este estudio se han insertado implantes dentales en las mandíbulas y los maxilares de minicerdos para evaluar la calidad de la osteointegración a corto y medio plazo de implantes rugosos, y rugosos y bioactivos. Los implantes se han fabricado con los tratamientos de granallado y termoquímico, desarrollados y considerados óptimos tras el

análisis de los resultados de los Capítulos previos. La osteointegración se ha evaluado por medio del análisis cualitativo y cuantitativo de los tejidos localizados alrededor de los implantes.

7.1.2. Titanio rugoso y osteointegración

Si se hace un resumen general de todos los resultados de los múltiples estudios analizados [THC85]; [BKK87]; [CKT87]; [TKC87]; [CRA88]; [WCS90]; [BSS91]; [HBS91]; [GNH92]; [EJB94]; [GWJ95]; [WAA95a]; [WAA95b]; [PSP96]; [WAJ96]; [WAL96]; [CBL97]; [KNA97]; [PBT97]; [WEA97]; [BNH98]; [CSL98]; [PMS98]; [WHJ98]; [COB99]; [BNO99]; [JVH99]; [LAZ99]; [LEM99]; [PUN99]; [SIP99], [HYN00]; [BUS01]; [LEL01]; [FSA02]; [LFB02]; [ROE02] se puede concluir que hay una clara evidencia de que los implantes microrugosos alcanzan más rápido la osteointegración, con porcentajes superiores de hueso en contacto con el implante, y con mayor resistencia de la interfaz a la cizalladura, si se comparan con implantes con superficies pulidas o mecanizadas [BUS01]. Rønold y Ellingsen [ROE02] obtuvieron una correlación positiva entre el grado de rugosidad y la fijación biomecánica de implantes dentales de Ti c.p. granallados, insertados en tibias de conejo durante 10 semanas.

La controversia surge del valor de rugosidad óptimo (discutido en el Apartado 2.1.1), así como del tipo de rugosidad que favorece la calidad de la fijación (granallado, ataque ácido, titanio proyectado por plasma, y combinaciones de los anteriores), como del tipo de hueso que responde positivamente en función de la rugosidad del implante [HYN00].

Otros estudios han concluido que la textura superficial y nuevas técnicas para fabricar superficies rugosas no influyen significativamente la respuesta *in vivo* de los implantes dentales [WHJ97]; [HRG01]; [GJT03].

Asimismo, también hay estudios aislados que no han encontrado una correlación positiva entre la rugosidad y la calidad de la osteointegración [HDS96]; [VWN98a]; [VWN98b]; [VWN98c]. Las causas se han atribuido, por parte de los autores, a un ajuste quirúrgico inadecuado, un incremento de cesión iónica debido al aumento de la superficie real del implante, y a los efectos adversos de las partículas de Al_2O_3 empleadas en el granallado. No obstante, también puede ser significativo el hecho de la similitud del modelo animal empleado, la cabra y la oveja, así como que tres de los cuatro estudios han sido publicados por los mismos autores.

En consecuencia, a pesar de la evidencia de la influencia de la rugosidad sobre la respuesta de osteointegración, los efectos biológicos de las variaciones en las propiedades topográficas de la superficie del implante no son perfectamente conocidos.

7.1.3. Recubrimientos bioactivos de Ca-P y osteointegración

Otra serie grande de estudios evalúan la influencia de las superficies de implantes de Ti c.p. recubiertas con fosfatos de calcio, principalmente hidroxiapatita (HA) proyectada por plasma. Dicho de otra forma, la influencia que las superficies bioactivas presentan con respecto a las superficies de Ti c.p. bioinertes, rugosas o no, en su respuesta de osteointegración [BKK87]; [CKT87]; [KYN87]; [MBK87]; [TKC87]; [BFF89]; [LAD89]; [BSS91]; [GMF90]; [JWW91]; [JWW93]; [DEM95]; [WES95]; [EMC96]; [YKD96]; [BMA97]; [CWW97]; [CVN97]; [GJA97]; [ZHA97]; [SWG98]; [VWN98a]; [VWN98b]; [VWN98c]; [WHS98]; [HMU99]; [JVH99]; [VAC99]; [WIK99]; [SMZ00]; [HYK02].

En este caso, las conclusiones son menos contundentes. La mayoría de los estudios que determinan una mejor respuesta de osteointegración para los implantes recubiertos con HA, en diferentes modelos y calidades de hueso, fueron publicados con anterioridad al año 1990 [BKK87]; [CKT87]; [MBK87]; [TKC87]; [BFF89]; [LAD89]; [GMF90]; y aunque no son todos [VWN98c]; [JVH99]; [HYK02], estos últimos sí son todos del mismo grupo de investigación.

Con posterioridad, las conclusiones de los trabajos coinciden en señalar que la mejora de la respuesta de osteointegración es sólo en las primeras semanas de respuesta [BSS91]; [YKD96]; [BMA97]; [ZHA97]; [WHS98]; [HMU99]; [VAC99]; [WIK99]; [SMZ00], es decir, obtienen una más rápida osteointegración que las superficies de titanio, no sólo lisas sino también microrugosas, ya sea por granallado, por ataque ácido o por proyección con plasma de titanio. Este efecto, parece ser tanto más importante cuanto menor densidad ósea presente el huésped o el tipo de hueso en el que el implante se encuentre ubicado [JWW91]; [WES95]; [JVH99]; [HYK02].

A medio y largo plazo, sin embargo, las diferencias en la osteointegración no son significativas y, como ya se ha dicho en el Apartado 5.1., algunas veces se detectan degradaciones significativas de los recubrimientos de fosfato de calcio depositados por proyección de plasma que pueden afectar a la calidad de la osteointegración, comprometiendo la funcionalidad del implante [BSS91]; [JWW91]; [JWW93]; [DEM95]; [GJA97]. Estas degradaciones, sin embargo, también se han detectado a tiempos de implantación de tan sólo 2 semanas [JWW91]. En estos estudios se sugiere que la cantidad de HA que se degrada en el recubrimiento está determinada por el modelo animal y la capacidad de curación del hueso (tipo de hueso y lugar de implantación), pero hasta la fecha son desconocidos los mecanismos precisos y las consecuencias concretas que la pérdida del recubrimiento pueden tener [CWW97].

También en este caso, se han publicado unos pocos estudios en lo que se concluye que no se producen diferencias en la calidad de la osteointegración de implantes de Ti c.p. recubiertos con HA y sin recubrir, a lo largo de todo el tiempo de implantación estudiado [EMC96]; [SWG98].

Los resultados tan variados que se han publicado en la literatura, tanto a tiempos de implantación cortos como largos, no son sorprendentes si se tiene en cuenta la complejidad de los eventos que se produce en la interfaz hueso-implante, así como la variación en los procesos de fabricación de los materiales, incluyendo los recubrimientos de HA. En todos estos resultados pueden influir [LEL01]: el diseño del implante, las propiedades del material, el procedimiento de fabricación y las características del recubrimiento de fosfato de calcio, las especies animales, las propiedades del tejido óseo y las técnicas quirúrgicas empleadas. Por lo tanto, el principal valor de los estudios se tiene que encontrar en la comparación de los resultados obtenidos dentro de cada uno de los estudios llevados a cabo.

7.1.4. Titanio bioactivo y osteointegración

Son varios los estudios *in vivo* que el grupo de Kokubo ha publicado en diversos modelos animales (tibia de conejo o fémur canino) para evaluar la respuesta de integración ósea del Ti c.p. tratado termoquímicamente [YNK97]; [NNK99]; [KKN00]; [NKF01]; [NKN01], con el tipo de tratamiento empleado en los Capítulos 5 y 6. Sin embargo, la comparación del material fabricado por Kokubo y col. ha sido entre el metal pulido, con y sin tratamiento termoquímico, a excepción del trabajo de Nishigushi y col. [NKN01], en el que el tratamiento termoquímico se aplicó sobre la superficie del titanio proyectado por plasma de titanio, con el objetivo de evaluar su potencial como material para el vástago en las prótesis de cadera.

Los resultados de estos trabajos demostraron que el tratamiento sobre el Ti c.p. permite que se forme *in vivo* una capa de fosfato de calcio sobre la superficie del metal; y que la fijación biomecánica de los implantes tratados es significativamente superior a la fijación de los implantes sin tratar, haciéndose esta diferencia tanto mayor cuanto mayor es el tiempo de implantación. No hay estudios histomorfométricos ni de comparación entre superficies metálicas microrugosas y superficies metálicas bioactivas.

Por otra parte, se han publicado resultados *in vivo* de titanio bioactivo obtenido por otros métodos diferentes al empleado en esta Tesis Doctoral [KTH01]; [LFN03], con similares resultados a los expuestos en el párrafo anterior. No obstante, es importante señalar que en el trabajo de Kaneko y col. [KTH01] no se demuestra la bioactividad del material tratado.

7.2. Objetivo

En los dos Capítulos anteriores de esta Tesis Doctoral se ha demostrado que es posible obtener superficies de titanio rugosas y potencialmente bioactivas con un apropiado comportamiento biológico *in vitro*. Estas superficies se han obtenido con un tratamiento en dos pasos: en primer lugar se granalla la superficie con partículas de Al_2O_3 de tamaños entre 425-600 μm (rugosidad); y a continuación se realiza un tratamiento termoquímico (Bio) con ataque con NaOH (obtención en la superficie de un gel de titanato de sodio) y deshidratación y densificación del gel formado a 600 °C (bioactividad). Asimismo, en los Capítulos 2, 3 y 4 de esta Tesis se determinó que las superficies de Ti c.p. granalladas con Al_2O_3 (AL6) con tamaños de partículas entre 425-600 μm , tenían una calidad superficial (topografía y propiedades físico-químicas) óptima para la respuesta biológica y de degradación, a corto y largo plazo.

Los objetivos de este Capítulo son:

- 1.- Determinar el comportamiento *in vivo*, a corto y medio plazo, de implantes dentales rugosos, y rugosos y bioactivos.
- 2.- Confirmar, *in vivo*, la bioactividad de los implantes rugosos y bioactivos obtenidos por el tratamiento en dos pasos: granallado + tratamiento termoquímico.

7.3. Materiales y Métodos

7.3.1. Materiales

7.3.1.1. Implantes

Los implantes dentales empleados en este Capítulo son implantes de Ti c.p. Grado III del modelo SK[®], donados por la empresa española Klockner[®] Implants, S.L.. Estos implantes son de tipo roscado de 12 mm de largo por 3,8 mm de diámetro, con paso de rosca de 1 mm, con cabeza de 1,8 mm de alto y rosca interna en la cabeza de 1,8 mm (Figura 7.1).



Figura 7.1 Implante SK[®] de Klockner[®] Implants. Serie, dimensiones de la cabeza, representación tridimensional y fotografía de un implante ya granallado. Imagen cedida por Klockner[®] Implants.

7.3.1.2. Animales

Las 5 cerdas empleadas en este estudio *in vivo* eran de raza "minipig", procedentes de un centro de experimentación animal de cría. Eran adultas, de entre 5 y 7 años de edad, y todas hembras.

7.3.2. Métodos

7.3.2.1. Obtención de los distintos tipos de superficies

Los implantes estudiados fueron tratados de manera que se obtuvieron 4 tipos diferentes de superficies de estudio:

- Ti: implante de Ti c.p. mecanizado. Se colocaron 20 implantes.
- Ácido: implante grabado al ácido con HF. Se colocaron 20 implantes.
- AL6: implante granallado con partículas de Al_2O_3 de tamaños 425-600 μm . Se colocaron 40 implantes.
- AL6-Bio: implante como AL6 + tratamiento termoquímico. Se colocaron 20 implantes.

Los diferentes tipos de implantes colocados en este estudio fueron 5. Dos de estos tipos sólo se diferenciaban entre ellos por poseer un diferente tipo de tratamiento en el cuello del implante (Figura 7.1), mientras que en el cuerpo ambos fueron tratados para obtener superficies AL6. La zona del cuello no fue evaluada en este estudio y, a priori, no influencia sobre los resultados cuantitativos de histomorfometría que se han llevado a cabo para calcular la osteointegración de los cuerpos de los implantes. Ambos tipos de implante se han considerado de tipo AL6 y, como consecuencia, este tipo de superficies tuvo el doble de implantes en estudio que el resto.

El granallado de los implantes se llevó a cabo en las instalaciones de la empresa Klockner[©] Implants ya que, dada la compleja geometría del implante, se requería la utilización de un utillaje anexo específico. Este utillaje tiene como objeto garantizar que todos los puntos del implante dental sean granallados con la misma intensidad (tiempo y presión de proyección), especialmente los fondos de la rosca.

El utillaje consiste en un disco sobre el que se colocan, alrededor de su circunferencia externa, 21 implantes equidistantes. De esta manera, a medida que el disco gira sobre el eje perpendicular que pasa por su centro, se consigue que uno a uno los implantes vayan pasando por la posición de tratamiento. Cuando un implante llega a la posición de tratamiento, éste gira sobre su eje longitudinal a una velocidad de rotación controlable. A la

vez que el implante rota, el disco bascula 136° hacia delante y 136° hacia atrás alrededor de un eje perpendicular al eje longitudinal del implante. Cuando termina el vaivén (adelante y atrás) el siguiente implante pasa a la posición de tratamiento. Así, el tiempo del vaivén es el tiempo total de tratamiento del implante. Este tiempo también es regulable.

Las partículas de granallado para obtener las superficies AL6 y AL6-Bio son las partículas de tipo AL6, referenciadas en el Apartado 2.3.1.2. De la misma manera, la presión de proyección empleada fue la utilizada en el resto de esta Tesis Doctoral: 0,25 MPa.

Todos los implantes con superficies Ti y AL6 se lavaron tras el mecanizado y el granallado, respectivamente, en ultrasonidos con jabón durante 10 min y se secaron con aire forzado. A continuación se pasivaron atacándolos químicamente con una disolución 0,6 M de ácido clorhídrico durante 30 s. Finalmente, todos los implantes se lavaron de nuevo en ultrasonidos con jabón durante 10 min y se secaron con aire forzado.

Los implantes con superficie Ácido poseen un tratamiento de grabado con ácido fluorhídrico al 3,5 M. El ataque se realizó sumergiendo los implantes en este ácido a temperatura durante 15 segundos. El ataque se paró inmediatamente sumergiendo el implante en agua destilada. Finalmente, los implantes se lavaron en ultrasonidos con jabón durante 10 min y se secaron con aire forzado.

A efectos comparativos se evaluó la rugosidad superficial de los implantes Ácido, tratando discos de Ti c.p. bajo las mismas condiciones, y bajo las mismas condiciones de medición expuestos en el Apartado 2.3.2.1. También se obtuvieron imágenes por microscopía electrónica de barrido (MEB) (Figuras 7.2 y 7.3).

Las imágenes demuestran que la superficie es morfológicamente similar a la rugosidad que se superponía a la obtenida por causa del granallado en el Ti c.p. granallado con SiC y pasivado con HF/HNO₃ (Figura 2.23); pero con los valles más profundos y los picos más altos.

Estos implantes poseen una rugosidad media \pm desviación estándar: $R_a = 0,69 \pm 0,13 \mu\text{m}$; $P_c = 198,3 \pm 34 \text{ cm}^{-1}$.

Los implantes con superficies AL6-Bio se trataron termoquímicamente de acuerdo con lo expuesto en el Apartado 5.3.2.2.

Todos los implantes se esterilizaron con óxido de etileno a 37 °C de temperatura y 760 mbar de presión, durante 5 h. A continuación, se mantuvieron durante 18 h con aireación forzada y 24 h más de aireación normal.

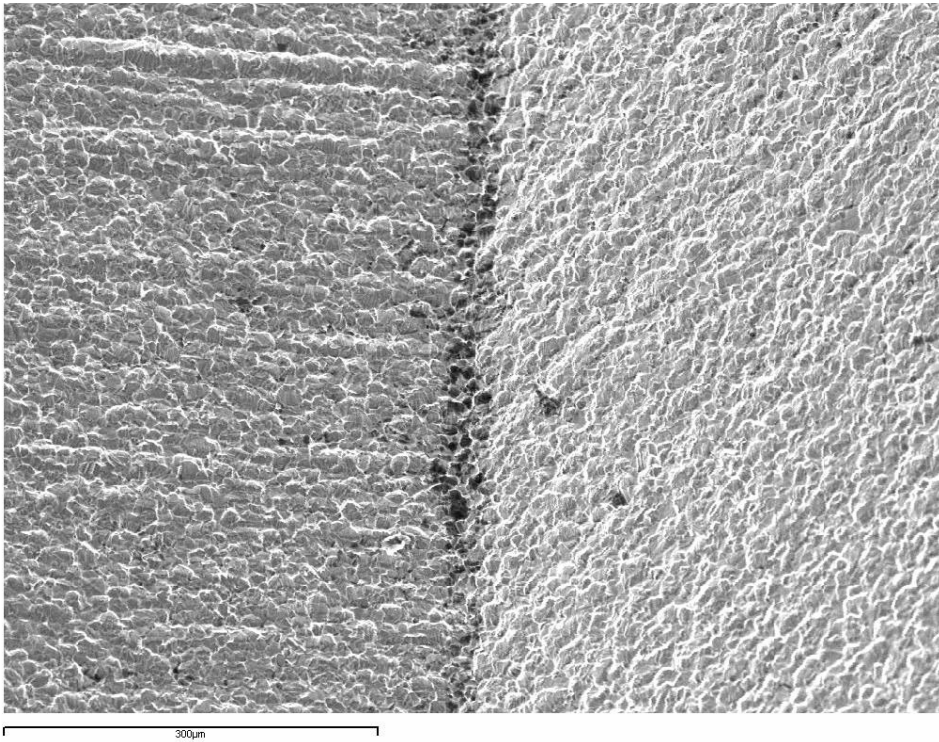


Figura 7.2 Micrografía obtenida por SEM de la superficie de un disco de Ti c.p. y grabado con ácido ($\times 160$).

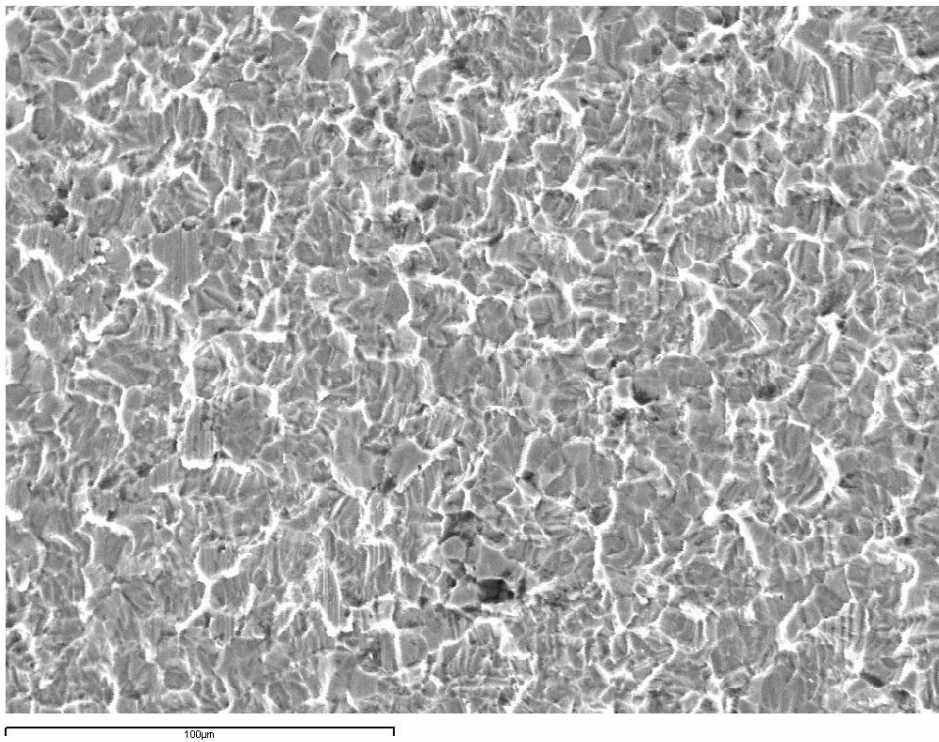


Figura 7.3 Micrografía obtenida por SEM de la superficie de un disco de Ti c.p. y grabado con ácido que muestra con detalle la morfología de los picos y los valles obtenidos debido al ataque del HF ($\times 500$).

7.3.2.2. Técnica quirúrgica

Las intervenciones quirúrgicas se llevaron a cabo en el Hospital Clínico Veterinario Ros Codina de la Facultad de Veterinaria de Lugo de la Universidad de Santiago de Compostela. Las exodoncias y los sacrificios fueron llevados a cabo por un equipo de veterinarios dirigidos por el Dr. Fernando Muñoz de la citada Universidad. La colocación de los implantes la llevaron a cabo un equipo de 5 odontólogos y dos enfermeras dirigidos por los doctores Ulf Thams y Alejandro Padrós de la Universidad Complutense de Madrid y el Instituto Padrós, respectivamente. Para la intervención de cada uno de los animales, los odontólogos se distribuyeron en diferentes parejas de trabajo.

7.3.2.2.1. Exodoncia

Tras aplicar la anestesia del animal (preanestesia: xilacina (0,4 mg/kg) y ketamina (5 mg/kg); anestesia: isoflurano al 5 %) se colocaron gasas en la faringe del animal para evitar el paso accidental de los líquidos de irrigación externa.

Los animales se desdentaron por completo. La técnica de exodoncia en piezas uniradiculares consistió en separar la unión gingivodentaria mediante elevadores de periostio, rompiendo luego el ligamento periodontal y las inserciones al diente. Finalmente, con los fórceps de extracción se extrajo el diente por medio de movimientos rotatorios. Para las piezas multiradiculares, en primer lugar, se localizó la furca, cortando con la fresa de fisura en dirección a la cara oclusal, haciendo servir una turbina a alta velocidad con irrigación externa. Tras el corte, se procede como en el caso de las piezas uniradiculares.

En todos los casos, las hemorragias se resolvieron espontáneamente.

7.3.2.2.2. Colocación de implantes

Después de cuatro meses de haberse practicado las exodoncias se colocaron los 100 implantes preparados con los cuatro tipos de superficies referidas anteriormente. Todo el material quirúrgico empleado también fue de la empresa Klockner[®] Implants, S.L.

Se realizaron radiografías en posición oblicua lateral del maxilar y la mandíbula, previas a la implantación, para descartar la presencia de restos radiculares y elegir el lugar óptimo para la colocación de los implantes.

Se colocaron 20 implantes por cerdo, 5 en cada hemiarcada, adecuadamente distribuidos (Ver más detalles en el Apartado 7.3.2.3.3).

Después de aplicar la anestesia (preanestesia: xilacina (0,4 mg/kg) y ketamina (5 mg/kg); anestesia: isoflurano al 5 %) (Figura 7.4) y antes de realizar la incisión inicial, se limpió la encía con una solución desinfectante de providona yodada. La incisión se efectúa sobre la cresta ósea profundizando hasta el periostio. Para evitar tensiones en la zona de incisión, también se practican una o varias incisiones laterales.



Figura 7.4 Imagen de uno de los minicerdos tras la administración de la anestesia sobre la mesa del quirófano.

El primer paso es realizar la guía que sirve para orientar el implante. Para ello se utilizan fresas de iniciación con suaves presiones alternas, a 3000 rpm, buscando el eje óptimo. Después se utiliza la fresa avellanadora, evitando sobrecalentar el hueso para no provocar necrosis.

Para comenzar la colocación del implante, se practica un agujero con el uso de un juego de fresas helicoidales provistas de irrigación interna de diámetros crecientes y a 300 rpm. Tras realizar el agujero, se determina su profundidad y orientación con la ayuda de calibradores y paralelizadores. A continuación, con el iniciador se practica la rosca sobre el hueso. El implante se ubica dentro del hueso roscando con la ayuda del atornillador (Figura 7.5). Finalmente, se sutura la encía con hilo bioabsorbible (Poliglactina 910-Vicryl[®] 3-0, Ethicon, USA) con puntos sin tensión (Figura 7.6).

Tras la intervención, el tratamiento antibiótico consistió en la administración de amoxicilina (15 mg/kg).

Los cerdos permanecieron con los implantes colocados en la encía hasta un tiempo máximo de 10 meses, pero no se les colocó ningún tipo de supraestructura.

Su alimentación consistió en alimentos líquidos y en forma de polvo.

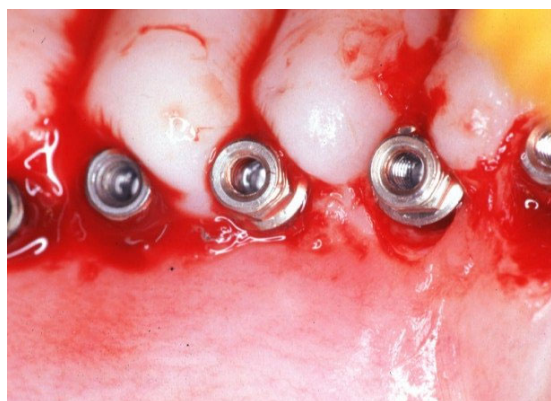
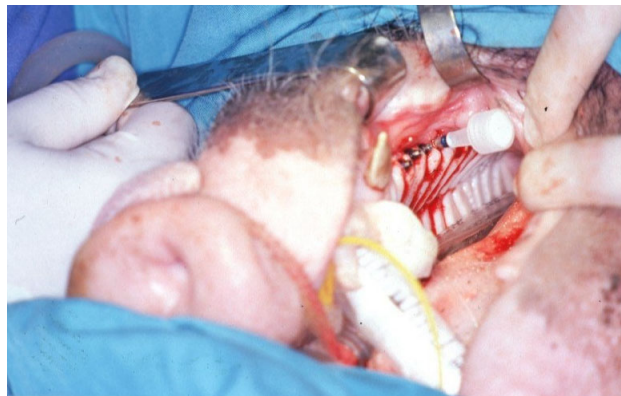
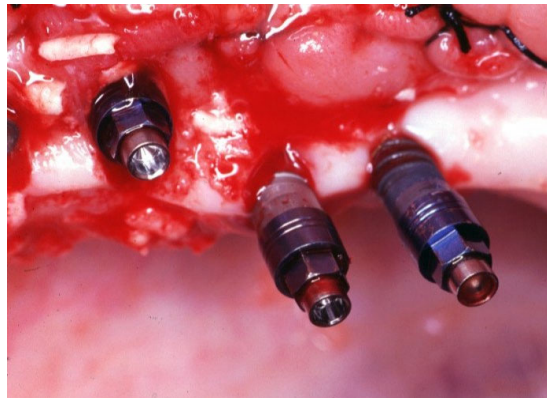


Figura 7.5 Secuencia de imágenes de la boca de uno de los minicerdos en la que se aprecia el atornillamiento y la colocación final de los implantes. Fotografías por cortesía del Dr. A. Padrós.

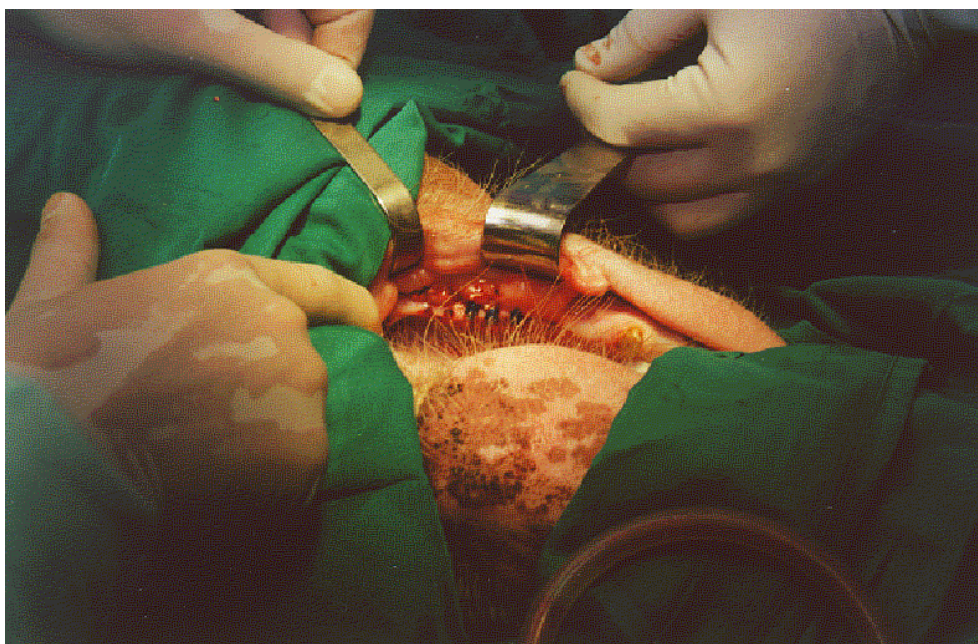


Figura 7.6 *Imagen del momento de la sutura de la encía tras la colocación de los implantes en la boca de uno de los minicerdos.*

7.3.2.3. Histología

7.3.2.3.1. Tiempos de sacrificio

Los 5 cerdos, con 20 implantes cada uno, se sacrificaron a diferentes tiempos, después de 2 sem., 4 sem., 6 sem., 8 sem. y 10 sem.

7.3.2.3.2. Preparación de los cortes histológicos

Después de la extracción de los maxilares, la preparación de los cortes histológicos requiere de una serie de pasos:

1. Preparación de los bloques para la fijación: Los implantes se separan con el hueso que lo rodea cada uno en un bloque de no más de 16 mm de grosor. Esta operación se realiza con una sierra circular con filo de diamante e irrigación (Accutom 50, Struers, Alemania), para evitar el sobrecalentamiento de la muestra.
2. Fijación en formol: Los bloques se sumergen en una solución de formol al 10% para su posterior procesado.

3. Deshidratación: Los bloques se deshidratan en una serie de diluciones al 70, 80, 96 y dos pases de 100 % de alcohol etílico. Todas las inmersiones se realizan con agitación (SM30, Bühler, Alemania) durante 3 días en cada uno de los pasos.

4. Infiltración: El siguiente paso consiste en incluir los bloques en una mezcla de alcohol, peróxido de benzoilo al 2% y una resina fotopolimerizable (Technovit 7200 VLC, Sulzer, Alemania) dentro de moldes de polimerización (Exact 41440-41450, Exact Apparatebau GmbH, Alemania) en una unidad especial (Exact 520, Exact Apparatebau GmbH, Alemania). A continuación, se sumergen las preparaciones en resina pura en dos pases. Estos pases se realizan con agitación y en contenedores opacos, puesto que la resina se activa con la luz.

5. Polimerización: Este paso se realiza en una unidad de polimerización (Exact 520-530, Exact Apparatebau GmbH, Alemania). La polimerización de la resina se activa con luz amarilla y se mantiene con luz azul durante 12 horas. Durante este proceso se produce un incremento de la temperatura, que es necesario disipar utilizando un circuito de refrigeración externo. Después se mantiene en estufa (IDL Al 80, Indelab, España) a 37 °C durante 12 horas más.

6. Estudio radiológico: Una vez polimerizado el bloque con el implante y el tejido que lo rodea, es necesario identificar la posición exacta del implante dentro del bloque. Para ello se realizan radiografías en tres proyecciones ortogonales del espécimen. Tras el estudio y medición de las radiografías, se marca sobre el bloque la posición de las líneas de corte posterior.

7. Corte longitudinal del implante: Se lleva a cabo con la sierra circular, a baja velocidad e irrigando para evitar el sobrecalentamiento de la muestra, evitando el deterioro de los tejidos que rodean al implante.

8. Control del paralelismo de las caras del bloque: Tras el corte sagital del implante, una vez expuesto el implante, y para preservar el paralelismo de los cortes posteriores a realizar, el bloque se adhiere (Technovit 4000, Sulzer, Alemania), con la ayuda de una prensa de precisión (Exact 401-402, Exact Apparatebau GmbH, Alemania), a un portaobjetos que mantendrá la superficie de corte paralela al portaobjetos empleado.

9. Desbaste: La superficie expuesta de la muestra se desbasta con papeles abrasivos de SiC de números 500 y 1200.

10. Pegado del espécimen al portaobjetos definitivo: Utilizando la prensa de fotopgado de precisión se adhiere a la cara desbastada, con un adhesivo específico (Technovit 7210 VLC,

Sulzer, Alemania), un nuevo portaobjetos de vacío, que será el definitivo. Con la sierra de disco se corta una sección de 200 μm , aproximadamente. Esta sección es la muestra final con la que se va a trabajar.

11. Desbaste y pulido final: Con el objetivo de disminuir el grosor del corte hasta unos 115 μm , se procede al desbastado en una pulidora circular (Rotopol-35, Struers, Alemania) automática (Pdm-Force-20, Struers, Alemania), utilizando papeles de SiC de números 1200 y 4000. El pulido final se hace en la misma máquina con suspensión de polvo de diamante de 0,25 μm sobre un paño de algodón.

12. Tinción de las preparaciones: Finalmente, con el objetivo de diferenciar los distintos tejidos que circundan la implante, las preparaciones se tiñen con azul de toluidina, antes de colocar el vidrio de recubrimiento que protege a la muestra hasta su observación en el microscopio óptico. Para realizar la tinción se siguen los siguientes pasos:

12.1. Agitar en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 10 % durante 5 minutos.

12.2. Sumergir en agua destilada.

12.3. Secar al aire.

12.4. Tinción en solución azul de toluidina durante 20 minutos. La solución se prepara al mezclar con un agitador magnético durante 15 minutos la solución A (800 ml de agua destilada, 8 g de tetraborato de sodio, 8 g de azul de toluidina, mezclados con agitador magnético durante 15 minutos) y la solución B (200 ml de agua destilada, 2 g de pyrodin G, mezclados con agitador magnético durante 15 minutos), para finalmente filtrar 2 veces la mezcla obtenida.

12.5. Sumergir en agua destilada.

12.6. Secar cuidadosamente durante 5 minutos en la estufa a 40 °C, o al aire durante toda la noche.

12.7. Adherir cubreobjetos con adhesivo fotopolimerizable (Technovit 7200 VLC, Sulzer, Alemania).

12.8 Polimerizar con presión (Exact 402, Exact Apparatebau GmbH, Alemania).

7.3.2.3.3. Histomorfometría

Con las 81 preparaciones correspondientes a los implantes que tuvieron éxito, se ha hecho el análisis de histomorfometría.

Inicialmente, los cortes histológicos son observados a través de un microscopio óptico (BX51, Olympus, Japón) (Figura 7.7) con cámara digital incorporada (DP12, Olympus, Japón) y sistema de adquisición de imágenes (PCTV, Pinnacle Systems, EE.UU.). Se tomaron imágenes del contorno de los implantes a una magnificación de x80. La toma de

imágenes se inició en el primer diente de rosca desde el cuello del implante y se siguió todo el contorno, imagen por imagen, hasta alcanzar el mismo diente de rosca pero del lado opuesto. De esta manera, con una media de 30 imágenes por implante, se completó la adquisición del contorno de cada uno de ellos.



Figura 7.7 *Imagen del microscopio óptico empleado para obtener las imágenes histológicas sobre las que se realizaron las mediciones de porcentaje de hueso en contacto directo con el implante.*

A continuación, sobre las distintas imágenes, con la ayuda de un analizador de imágenes (MicroImage, Olympus, Japón), se marcó, usando el ratón, con color rojo, las líneas de contacto del implante con tejido óseo; y con color azul las líneas de contacto del implante con los tejidos blandos (Figura 7.8). El analizador evalúa, dentro de la imagen correspondiente, la longitud total de línea roja y la longitud total de línea azul.

El parámetro histomorfométrico determinado es el porcentaje de implante en contacto directo con hueso (% Hueso-Implante). Por ello, a partir de los valores de longitudes roja (tejido óseo) y azul (tejido blando), obtenidos para cada una de las imágenes de un implante, la determinación del % Hueso-Implante con una hoja de cálculo es inmediato.

Con respecto a los tejidos considerados hueso y con la intención de afectar en la menor medida a la comparativa histomorfométrica entre los distintos tipos de superficies estudiadas, hay que señalar que:

- (1) No se ha diferenciado si el hueso en contacto con el implante es hueso neoformado tras la intervención quirúrgica o si es del que ha quedado en contacto justo después de la cirugía.
- (2) Tampoco se ha diferenciado si el hueso neoformado era hueso inmaduro o hueso maduro y ordenado.
- (3) Se ha seleccionado un valor de ampliación mínimo, en este caso x80, con el objetivo de analizar el menor número de imágenes posibles, pero suficiente como para asegurar que la decisión acerca de si existe contacto, no varía si el aumento se incrementa.
- (4) Cuando no era claro si el hueso estaba en contacto o no con el implante, siempre se ha considerado que no lo estaba.

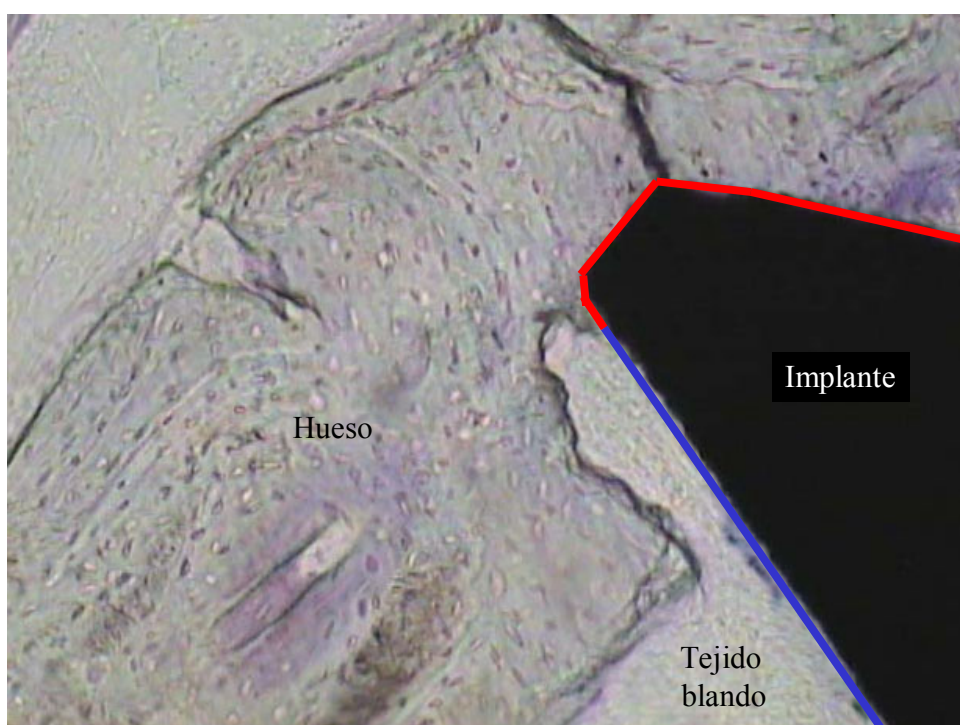


Figura 7.8 Imagen ($\times 80$) con el sistema de medición del porcentaje de hueso en contacto directo con el implante. Mediante el analizador de imagen se marca en color rojo el contorno del implante que está en contacto con tejido óseo, y en color azul el contorno del implante que está en contacto con tejidos blandos. El analizador evalúa la longitud total que en la imagen es de color rojo y la que es de color azul. A partir de los datos de longitud roja y azul, el cálculo del porcentaje de hueso en contacto con el implante es inmediato.

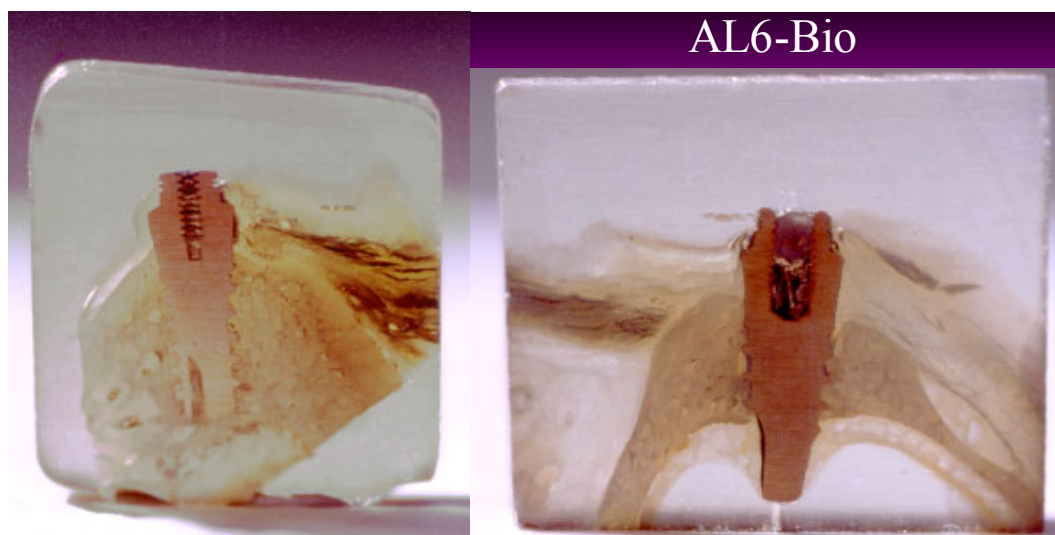
Todas estas mediciones se llevaron a cabo en ciego, con la intención de no influir sobre los resultados, puesto que la subjetividad del proceso de medición podría facilitar una incorrecta evaluación de las imágenes, sobre todo en lo referente a establecer qué es hueso

y qué tejido blando en imágenes dudosas. Para ello, los implantes fueron codificados por los veterinarios, puesto que ellos no realizaron la medición histomorfométrica. Los códigos eran del tipo 24ID, donde 2 significa el número de cerdo, 4 la posición en la mandíbula, I significa inferior y D derecha. Una vez finalizadas las medidas de % Hueso-Implante, los veterinarios facilitaron el esquema de decodificado que indicaba el tipo de implante en relación con la posición, según un sistema rotativo de posiciones en la boca de los minicerdos que, a su vez, garantizaba la aleatoriedad de la posición de los implantes en las distintas semiarcadas dentales.

7.3.2.4. Microscopía electrónica

Con el objetivo de estudiar la interfaz entre los implantes bioactivos y el hueso, se empleó un microscopio electrónico de barrido (MEB) (JSM 6400[®], Jeol, Japón) con un analizador de dispersión de energías de rayos X (EDS) (Analytical LZ-5[®], Link, Reino Unido) acoplado.

Para ello, se prepararon las muestras a partir de los bloques referidos en el Apartado 7.3.2.3.2. Una vez obtenido el bloque, estos se desbastaron con papeles de SiC de números 600 y 1200, siempre en la misma dirección para conservar al máximo las características de la posible capa de fosfato de calcio que se hubiese formado sobre la superficie del metal. A continuación, las muestras se recubrieron con oro para garantizar la conductividad de toda la muestra y así optimizar la calidad de las imágenes obtenidas (Figura 7.9).



Figuras 7.9 Bloques de resina con el implante y los tejidos embebidos en ella y recubiertos con oro para la visualización en el MEB del conjunto, en general, y de la interfaz implante-hueso, en particular.

7.3.2.5. Estadística

Para determinar la significación estadística de las diferencias de las medias en los diferentes parámetros estudiados en este Capítulo se han calculado tablas ANOVA con test de comparación múltiple de Fisher. La significación de las diferencias se ha establecido para $p < 0,05$.

Todos estos tests se han llevado a cabo con la ayuda de un software apropiado (MINITAB™ Release 13.1, Minitab Inc., EE.UU.).

7.4. Resultados

7.4.1. Implantes fracasados

En la Tablas 7.I y 7.II se detallan el número de implantes fracasados en relación a los implantes colocados; en función del tipo de superficie y tiempo de implantación, y en función de la posición en el hueso, respectivamente.

Tabla 7.I Relación de implantes fracasados/implantes colocados por tipo de superficie y por tiempo de implantación. Entre paréntesis se detalla el porcentaje de implantes fracasados con respecto al total de implantes colocados en cada categoría.

	2 sem.	4 sem.	6 sem.	8 sem.	10 sem.	Total
Ti	0/4	2/4	1/4	3/4	0/4	6/10 (30%)
Ácido	0/4	2/4	1/4	2/4	0/4	5/20 (25%)
AL6	0/8	1/8	1/8	4/8	0/8	6/20 (15%)
AL6-Bio	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4	1/20 (5%)
Total	0/20 (0%)	5/20 (25%)	3/20 (15%)	10/20 (50%)	0/20 (0%)	18/100(18%)

Los fracasos de los implantes han sido por dos motivos:

(1) mala ubicación del implante en el momento de la implantación. Sólo en un implante que no se ha incluido en estos resultados por no ser representativo de la calidad de la respuesta de las superficies, sino un error en la cirugía. Este implante era del tipo Ácido y estaba colocado en el cerdo a 8 sem.

(2) ausencia de osteointegración desde el punto de vista mecánico. Esto se comprobó en el momento de la preparación de las histologías, ya que los implantes carecían de estabilidad en su lugar de implantación y, como consecuencia, resultó imposible su preparación. Un total de 18 implantes han presentado este comportamiento, lo cual representa el 18 % de todos los colocados.

Del total de 18 implantes fracasados 10 lo han sido en el cerdo que fue sacrificado después de 8 sem. de implantación. Esta alta incidencia en un mismo cerdo puede ser debida, principalmente, a dos causas: el individuo presenta una mala calidad ósea o, se ha practicado una cirugía defectuosa generalizada en el citado animal.

El resultado en el cerdo a 8 sem. supone más de la mitad de los implantes fracasados, el 57 %. Por este motivo, así como porque para algunos tipos de superficies sólo se tuvo éxito en 1 de los 4 implantes colocados, se decidió no incluir los resultados histomorfométricos de este cerdo en el estudio estadístico general.

Tabla 7.II *Relación de implantes fracasados/implantes colocados por posición de los mismos en la mandíbula y el maxilar. Entre paréntesis se detalla el porcentaje de implantes fracasados con respecto al total de implantes colocados en cada categoría.*

	Lado derecho	Lado izquierdo	Total
Maxilar superior	3/25	1/25	4/50 (8%)
Mandíbula inferior	9/25	5/25	14/50 (28%)
Total	12/50 (24%)	6/50 (12%)	18/100 (18%)

A pesar de que en el análisis de los porcentajes de fracasos en los distintos tipos de superficies y ubicaciones sí se incluyen los resultados del cerdo a 8 sem., es destacable que las conclusiones tampoco se modificarían significativamente en caso de no incluirlos.

Atendiendo al porcentaje de fracasos en función del tipo de superficie del implante, se concluye que el orden de mayor a menor porcentaje de fracasos es: Ti > Ácido > AL6 > AL6-Bio (Tabla 7.I); es decir, a medida que aumenta el valor del parámetro de rugosidad R_a disminuye el porcentaje de fracasos, siendo relevante el resultado para los implantes AL6-Bio, cercano al éxito total, en el que se combina la mayor rugosidad con los cambios en la composición química superficial que provocan que el implante sea bioactivo.

El 78 % de los implantes fracasados (14 de 18) se implantaron en la mandíbula inferior, lo que representa el 28 % del total colocado (Tabla 7.II). Por otra parte, el 67 % de los implantes fracasados (12 de 18) lo han hecho en el lado derecho de la mandíbula o del maxilar.

7.4.2. Histologías

7.4.2.1. Identificación de tejidos

Las histologías obtenidas permiten identificar el hueso y los tejidos blandos alrededor del implante. En las Figuras 7.10 y 7.11 se muestran sendos ejemplos de los tipos de tejidos identificados como hueso, tejido blando y, por su parte, el implante.

El tejido óseo se identifica en la mayoría de los casos por la observación de las osteonas y de los vasos sanguíneos en general, demostrando la presencia de un hueso maduro ordenado. Sin embargo, también se ha identificado como hueso, un segundo tipo de hueso inmaduro u osteoide (Figuras 7.12 y 7.13) y que, como confirmación de esta conclusión, sólo apareció principalmente en las histologías de los cerdos sacrificados en las primeras semanas de implantación, es decir, a 2 sem., 4 sem. y 6 sem., dependiendo del tipo de superficie de implante analizada.

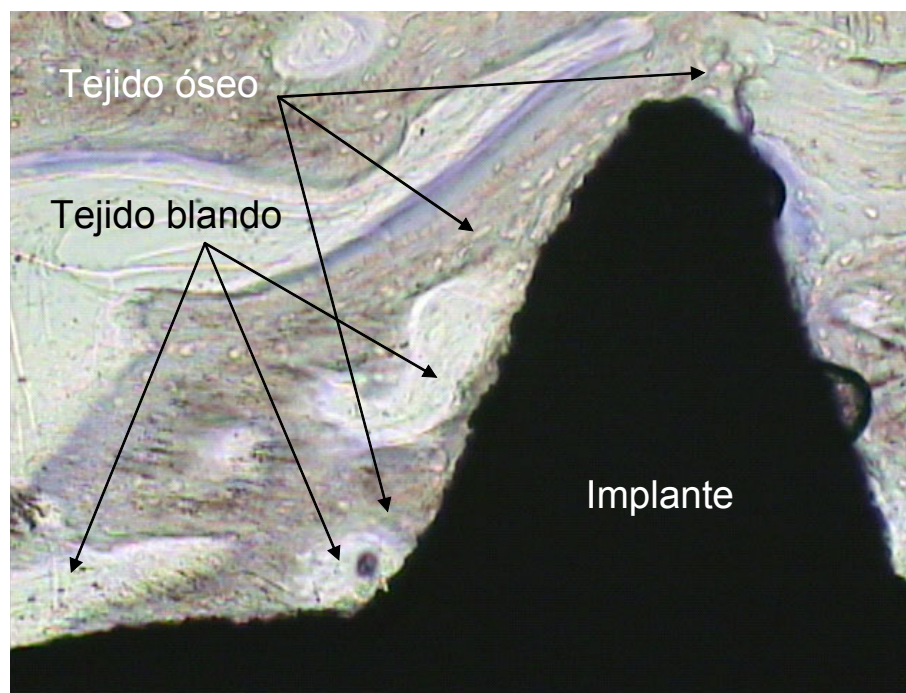


Figura 7.10 Identificación de tejidos sobre una histología ($\times 80$) de un implante de Ti c.p. de tipo AL6-Bio colocado en la mandíbula inferior derecha del cerdo a 6 semanas.

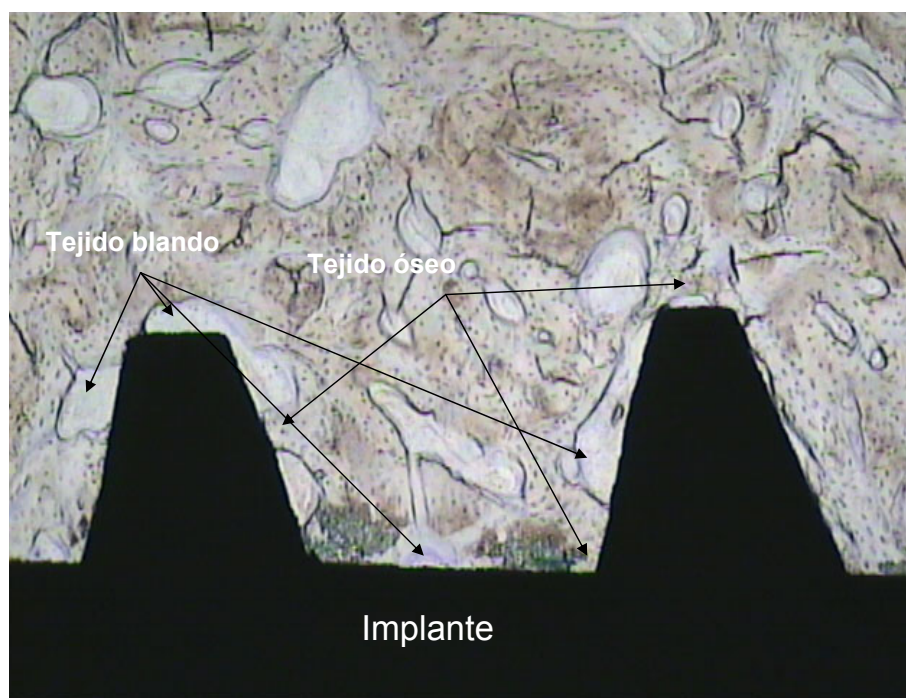


Figura 7.11 Identificación de tejidos sobre una histología ($\times 30$) de un implante de Ti c.p. de tipo Ti colocado en la mandíbula inferior derecha del cerdo a 10 semanas.

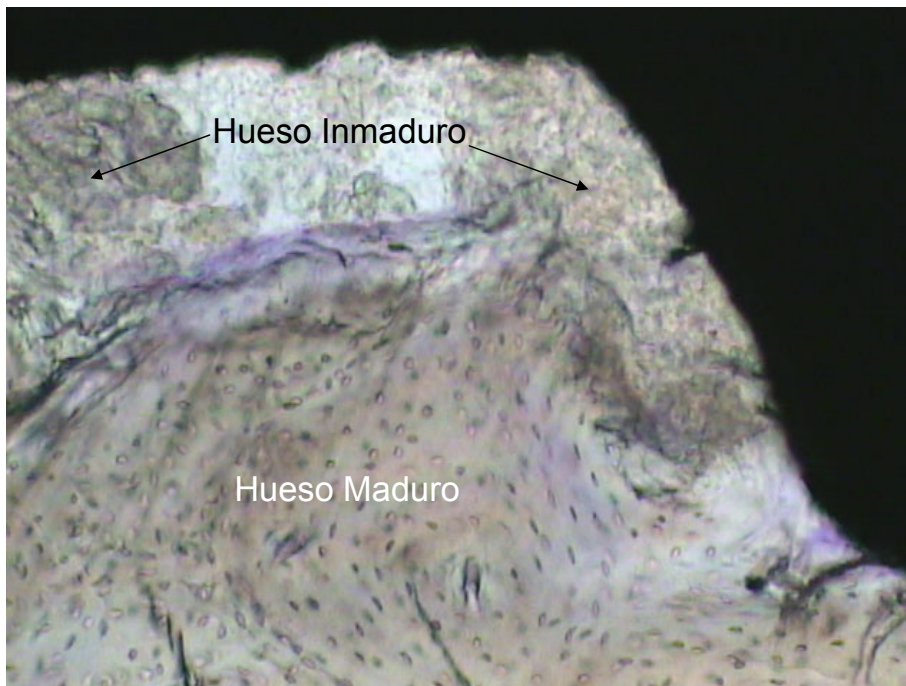


Figura 7.12 Identificación de tejidos óseos sobre una histología ($\times 80$) de un implante de Ti c.p. de tipo AL6-Bio colocado en el maxilar superior derecha del cerdo a 2 semanas.



Figura 7.13 Identificación de tejidos óseos sobre una histología ($\times 80$) de un implante de Ti c.p. de tipo AL6 colocado en la mandíbula inferior izquierda del cerdo a 4 semanas.

7.4.2.2. Evolución con el tiempo de implantación

Las Figuras 7.14 a 7.17 son una muestra de la evolución con el tiempo de implantación de los tejidos alrededor de cada uno de los tipos de superficies. La selección de las fotografías se ha hecho atendiendo al criterio de una buena imagen representativa del comportamiento general para cada tipo de superficie a cada tiempo de implantación.

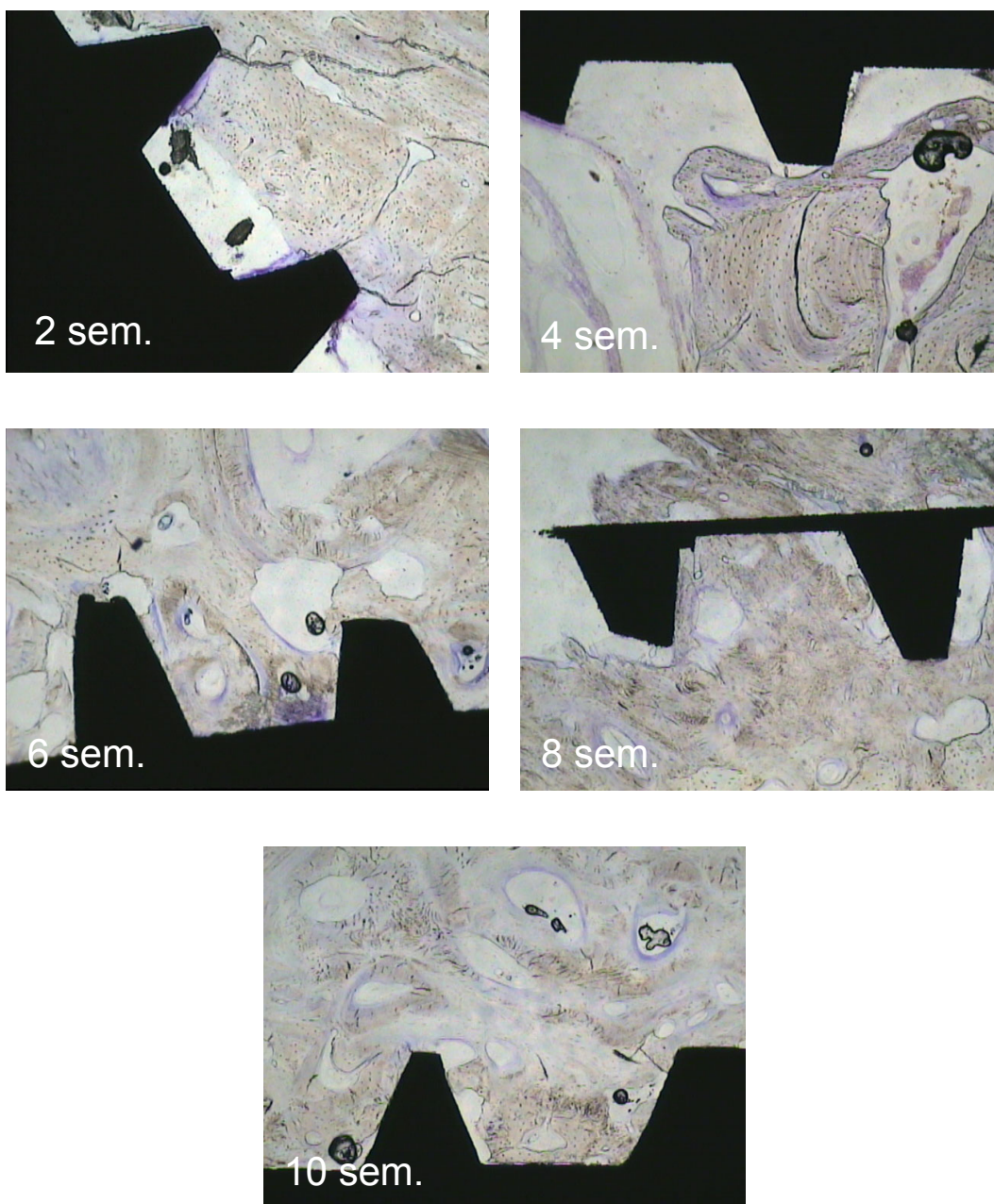


Figura 7.14 Evolución con el tiempo de implantación de los tejidos alrededor de los implantes de Ti c.p. con superficie del tipo Ti.

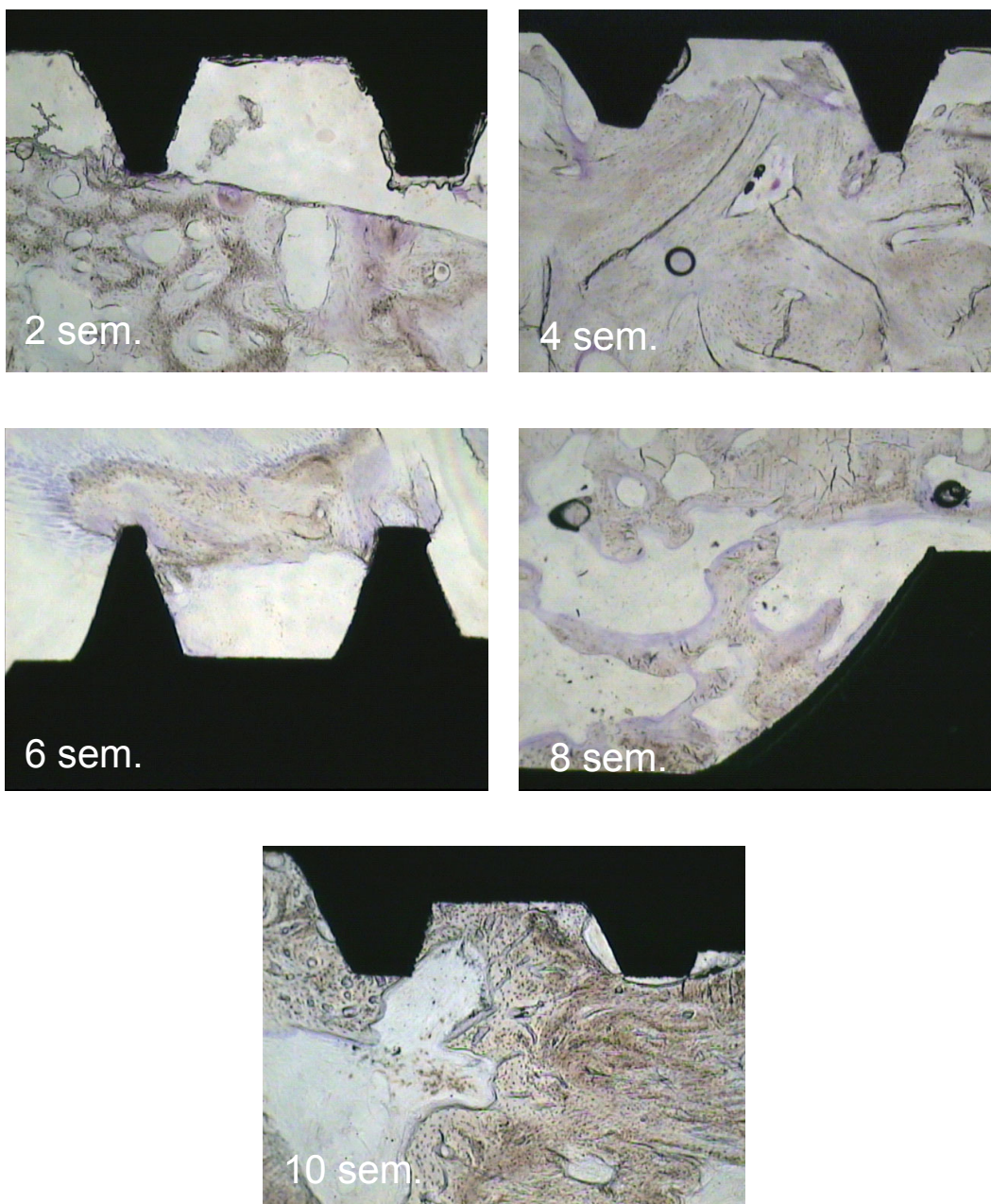


Figura 7.15 Evolución con el tiempo de implantación de los tejidos alrededor de los implantes de Ti c.p. con superficie del tipo Ácido.

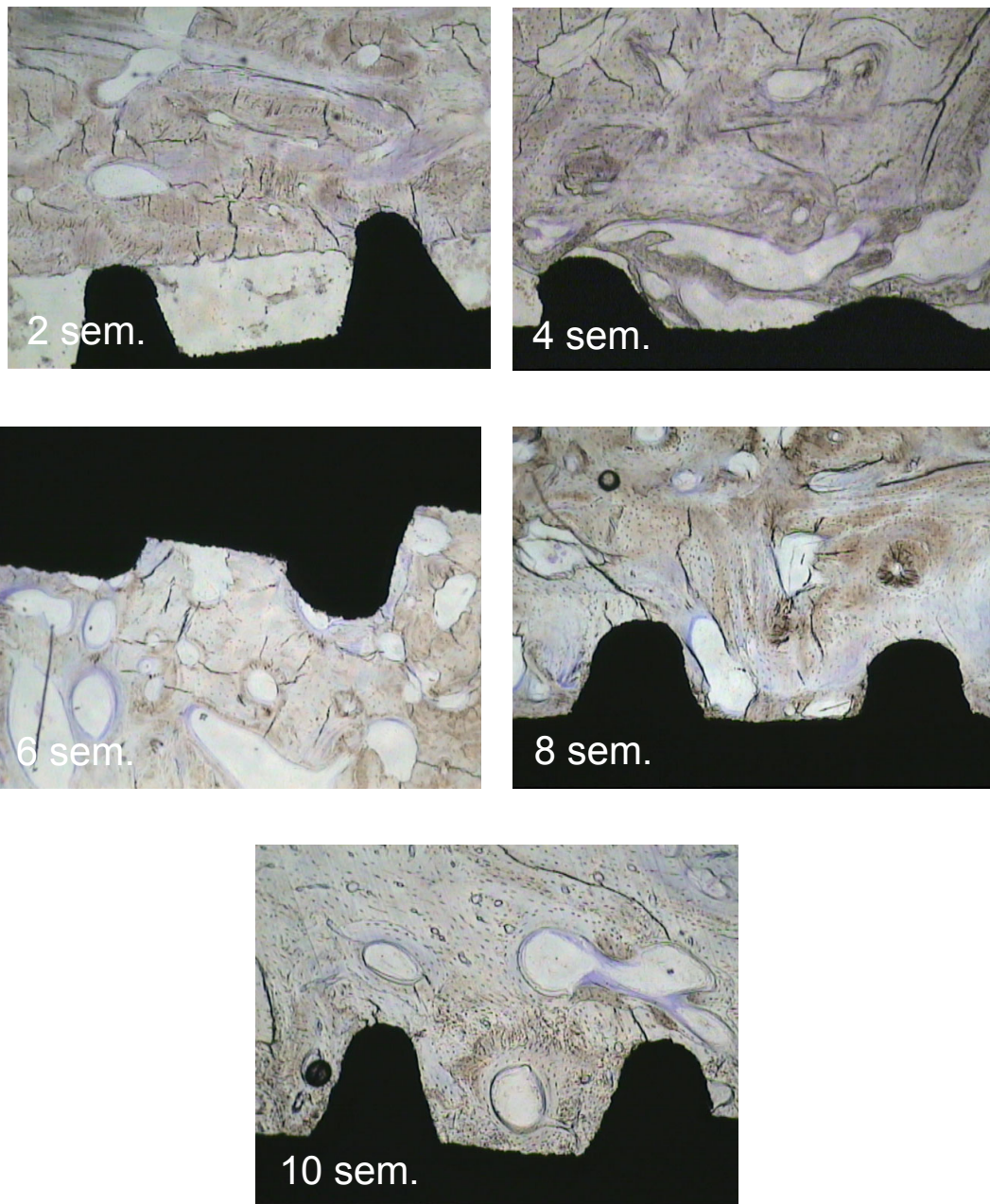


Figura 7.16 Evolución con el tiempo de implantación de los tejidos alrededor de los implantes de Ti c.p. con superficie del tipo AL6.

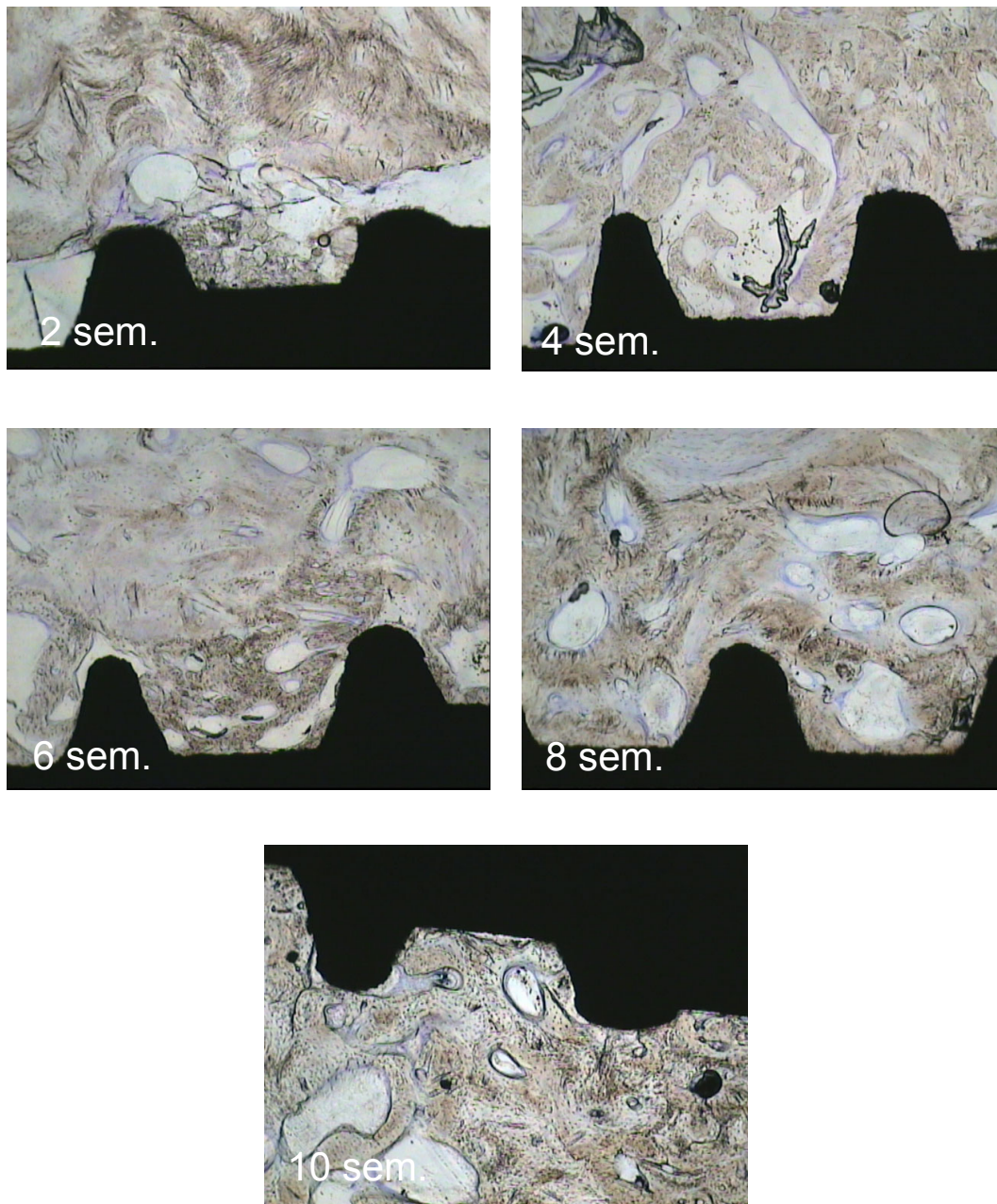


Figura 7.17 Evolución con el tiempo de implantación de los tejidos alrededor de los implantes de Ti c.p. con superficie del tipo AL6-Bio.

La observación de la evolución de los tejidos pone de manifiesto comportamientos diferenciados entre los distintos tipos de superficies de implantes, siendo las más destacables:

(1) Después de 2 semanas de implantación, sólo hay crecimiento de hueso nuevo en los implantes AL6-Bio.

(2) Mientras que los implantes AL6 y AL6-Bio a partir de las 6 semanas, y hasta el final del estudio, muestran superficies recubiertas en casi su totalidad por hueso con contacto directo, en las superficies Ti y Ácido, esto no ocurre hasta después de 10 semanas de implantación.

(3) El tipo de hueso inmaduro, previo al crecimiento del hueso nuevo y ordenado se aprecia en los implantes de tipo AL6-Bio, AL6, Ti y Ácido a las 2, 4, 6 y 6 semanas, respectivamente.

Un análisis más detallado del tipo de tejidos y de la cantidad de implante en contacto directo con hueso, se lleva a cabo en el Apartado 7.5 de este Capítulo.

7.4.3. Histomorfometría: % Hueso-Implante

En la Tabla 7.III se exponen los valores medios y desviación estándar de % Hueso-Implante para cada una de las superficies estudiadas a cada tiempo de implantación, excepto a 8 semanas debido a las causas referidas en el Apartado 7.4.1.

Tabla 7.III *Valores medios de porcentaje de hueso en contacto directo con el implante [%Hueso-Implante] para cada una de las superficies de implante a cada uno de los tiempos de implantación estudiados. D.E.: desviación estándar.*

Superficie	Tiempo de implantación	% Hueso-Implante ± DE
Ti	2 semanas	27,3 ± 8
	4 semanas	27,0 ± 8
	6 semanas	45,0 ± 25
	10 semanas	30,4 ± 6
Ácido	2 semanas	14,7 ± 7
	4 semanas	17,4 ± 4
	6 semanas	12,1 ± 3
	10 semanas	43,0 ± 12
AL6	2 semanas	24,7 ± 9
	4 semanas	36,7 ± 9
	6 semanas	55,5 ± 27
	10 semanas	57,9 ± 11
AL6-Bio	2 semanas	22,9 ± 13
	4 semanas	55,1 ± 15
	6 semanas	65,3 ± 9
	10 semanas	56,6 ± 16

En los Apartados 7.4.3.2. y 7.4.3.3. se detallan las diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos en función del tipo de superficies y del tiempo implantación, respectivamente.

7.4.3.1. Influencia de la posición del implante

En las Figuras 7.18 y 7.19 se muestran los histogramas con la distribución general de valores de % Hueso-Implante en función de su posición lateral en los maxilares y en función de su ubicación en el maxilar superior o mandíbula inferior, respectivamente.

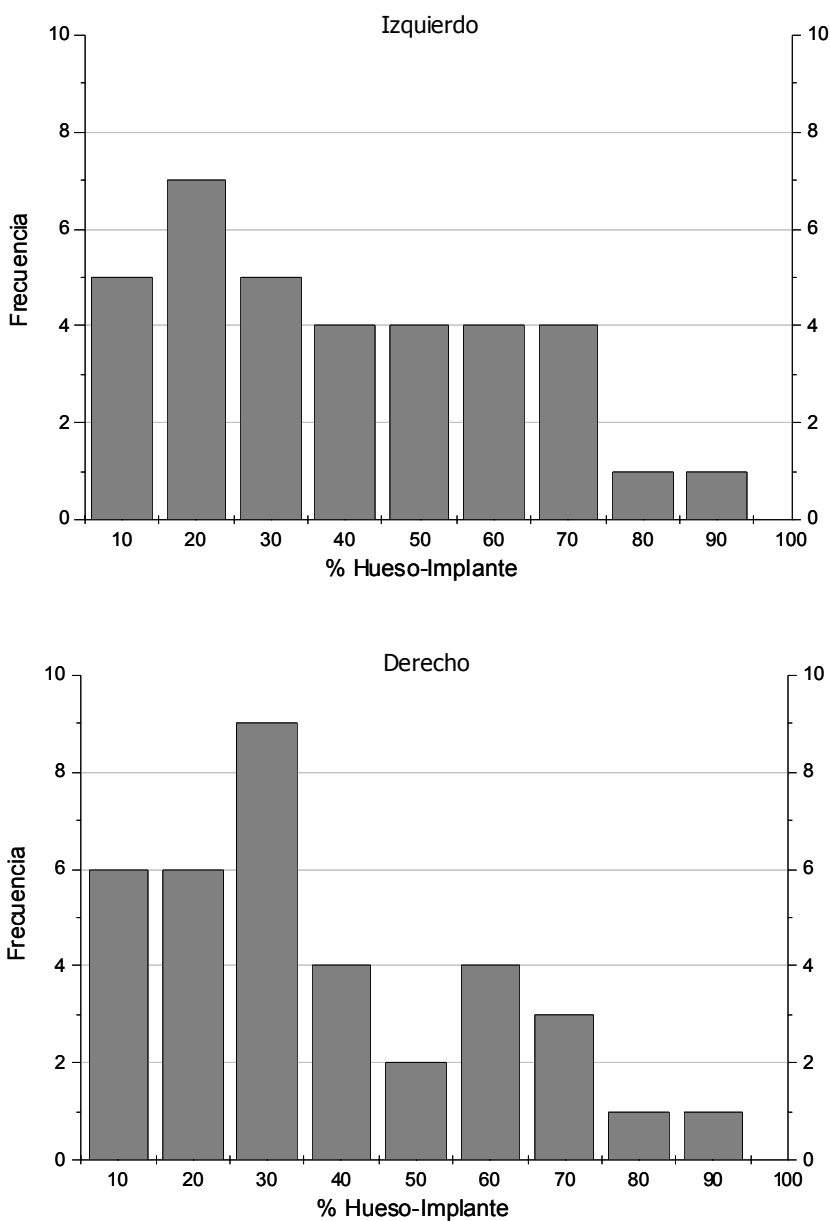


Figura 7.18 Histogramas del % Hueso-Implante en función de la posición lateral del implante en los maxilares.

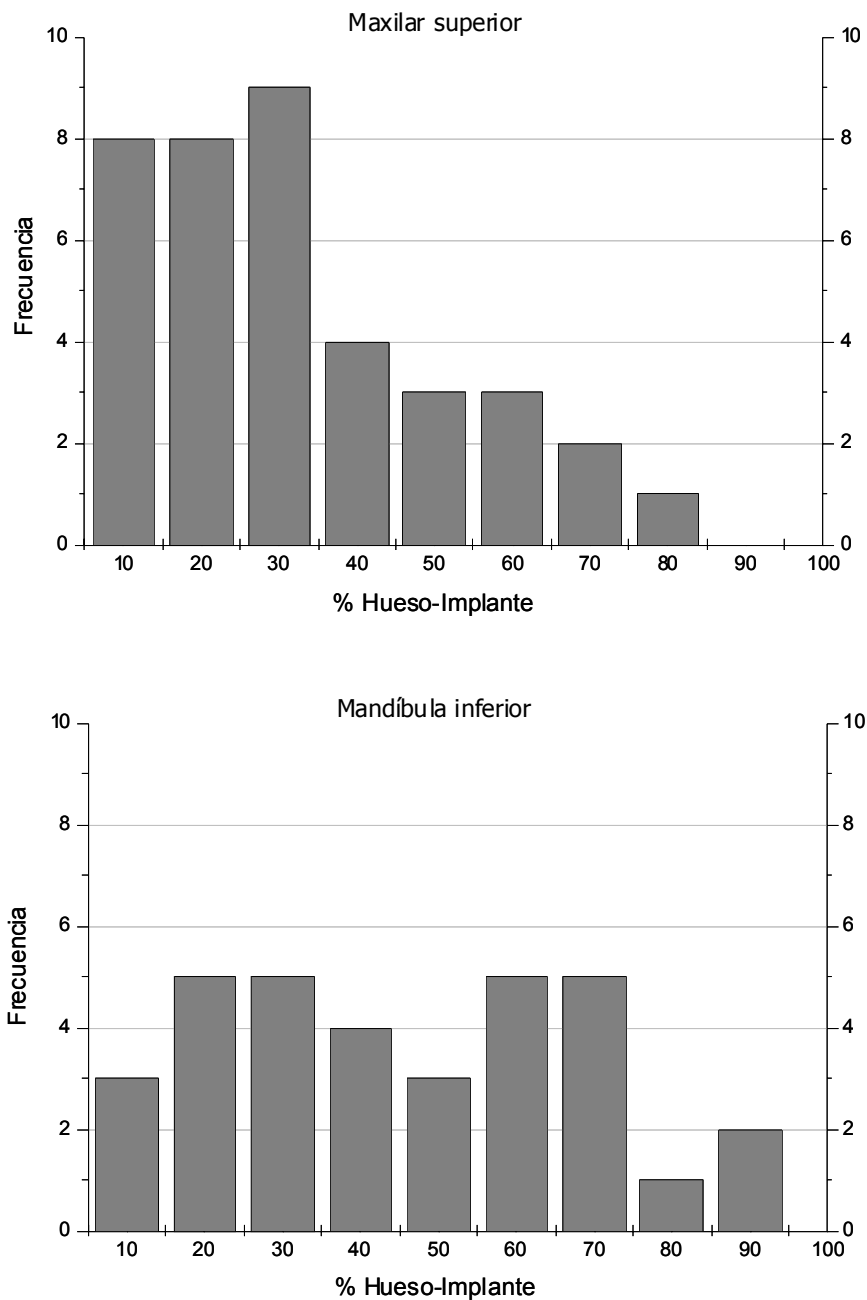


Figura 7.19 Histogramas del % Hueso-Implante en función de la posición del implante en el maxilar superior o en la mandíbula inferior.

Estos histogramas demuestran que, en términos generales, el crecimiento de hueso en contacto directo con los implantes ubicados en la mandíbula inferior es superior al de los ubicados en el maxilar superior. Por su parte, no se ha detectado una diferencia evidente en esta respuesta en función de si los implantes estaban ubicados en la parte derecha o

izquierda de los huesos maxilares del animal. Sin embargo, parece haber una mayor cantidad de % Hueso-Implante en los implantes colocados en el lado izquierdo.

No se han llevado a cabo análisis estadísticos comparativos entre los valores obtenidos para las distintas posiciones ya que, en algunos casos, se disponía solamente de un valor por cada tipo de implante, tiempo de implantación y ubicación, a causa de los diversos implantes fracasados. Como consecuencia, no se pudieron obtener valores fiables y, para algunos de los análisis, resultó imposible el cálculo.

7.4.3.2. Influencia del tipo de implante

Las Figuras 7.20 a 7.23 muestran, para cada uno de los tiempos de implantación estudiados, los valores de % Hueso-Implantación en función del tipo de superficie de implante, así como las diferencias estadísticamente significativas.

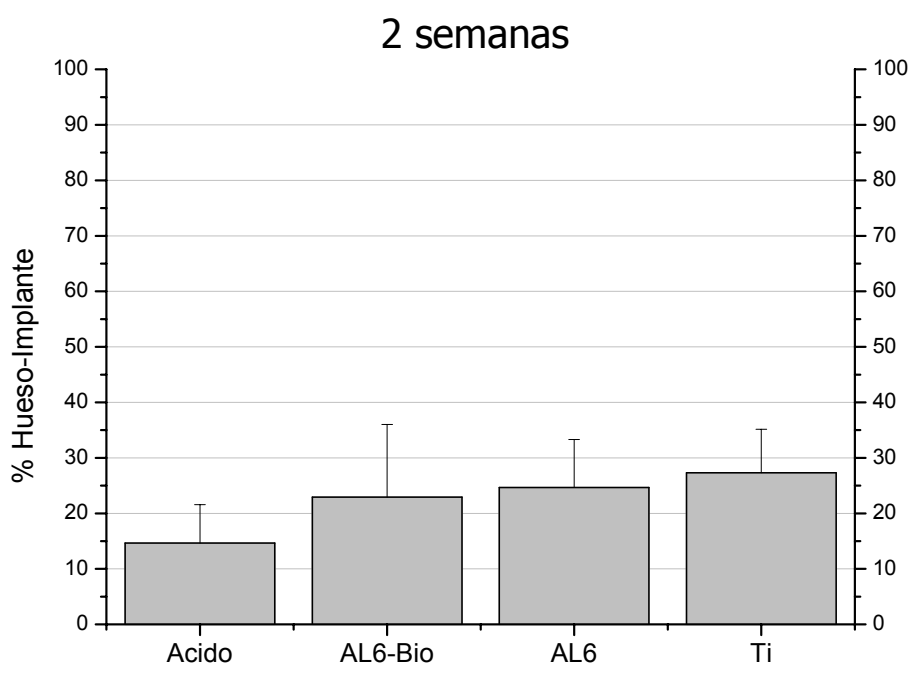


Figura 7.20 Representación de los valores de % Hueso-Implante para cada tipo de superficie de implante estudiada después de 2 semanas de implantación. Las barras horizontales bajo la gráfica unen los valores que no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Después de 2 semanas de implantación (Figura 7.20) no existen diferencias estadísticamente significativas entre las distintas superficies estudiadas, lo cual indica los tejidos todavía no han crecido de forma diferenciada alrededor de los distintos tipos de implantes de Ti c.p.

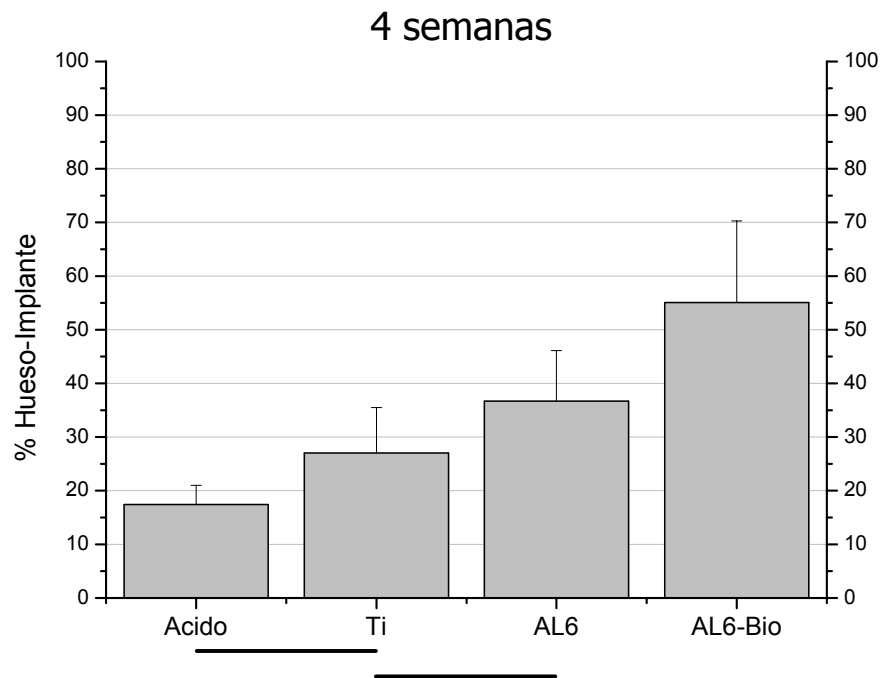


Figura 7.21 Representación de los valores de % Hueso-Implante para cada tipo de superficie de implante estudiada después de 4 semanas de implantación. Las barras horizontales bajo la gráfica unen los valores que no presentan diferencias estadísticamente significativas.

A las 4 semanas de implantación (Figura 7.21) es cuando se comienzan a diferenciar las respuestas de las distintas superficies estudiadas. De esta manera, las superficies atacadas con Ácido y las mecanizadas son las que presentan una peor respuesta de crecimiento óseo, aunque esta última no tiene diferencias estadísticamente significativas con los implantes rugosos del tipo AL6. El resultado más relevante es la diferencia estadísticamente significativa de los superiores valores de % Hueso-Implante en los implantes rugosos y bioactivos con respecto a todo el resto de superficies.

Después de 6 semanas de implantación (Figura 7.22), la respuesta de todos los tipos de superficies de Ti c.p. se iguala, excepto para las superficies Ácido que tienen un valor de porcentaje de hueso en contacto con el implante estadísticamente inferior a los tipos de mayor rugosidad, es decir, AL6 y AL6-Bio.

Por último, después de 10 semanas de implantación (Figura 7.23), las superficies más rugosas presentan una respuesta de % Hueso-Implante estadísticamente diferenciada y superior a las de menor rugosidad.

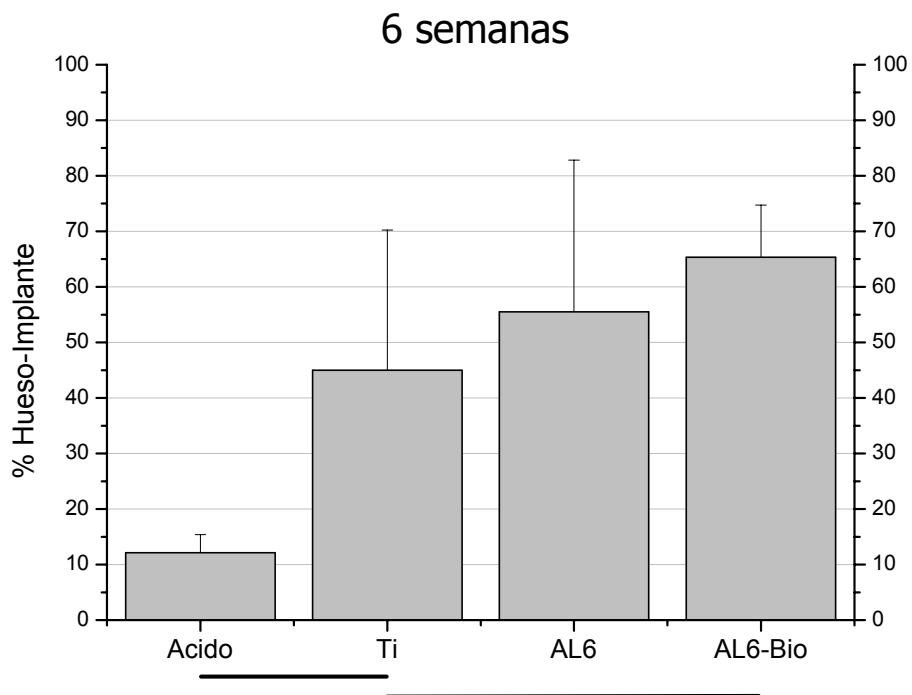


Figura 7.22 Representación de los valores de % Hueso-Implante para cada tipo de superficie de implante estudiada después de 6 semanas de implantación. Las barras horizontales bajo la gráfica unen los valores que no presentan diferencias estadísticamente significativas.

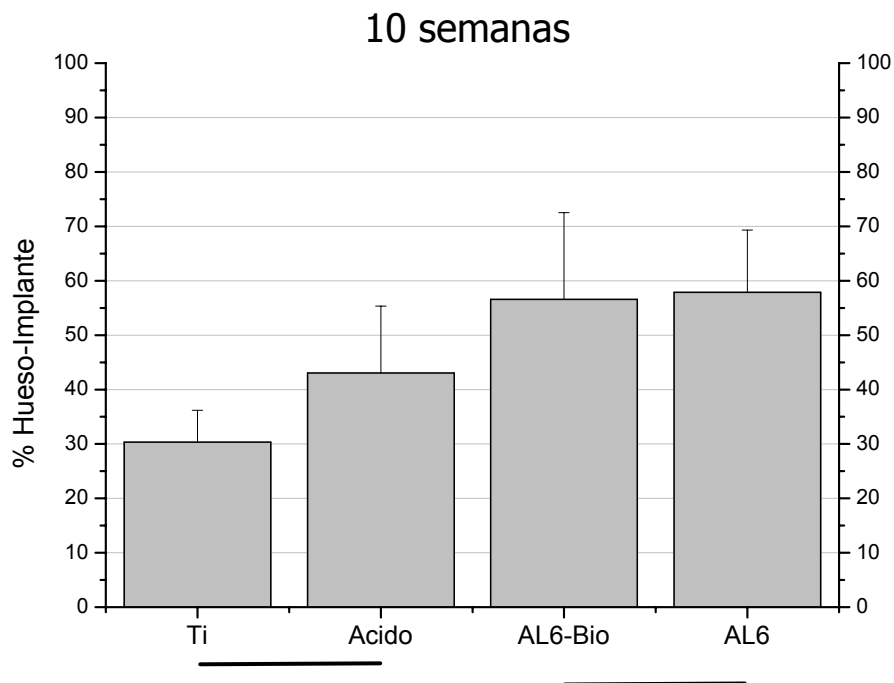


Figura 7.23 Representación de los valores de % Hueso-Implante para cada tipo de superficie de implante estudiada después de 10 semanas de implantación. Las barras horizontales bajo la gráfica unen los valores que no presentan diferencias estadísticamente significativas.

7.4.3.3. Evolución con el tiempo de implantación

Las Figuras 7.24 a 7.27 muestran, para cada uno de los tipos de superficies de implantes estudiadas, los valores de % Hueso-Implantación a lo largo del tiempo de implantación, así como las diferencias estadísticamente significativas.

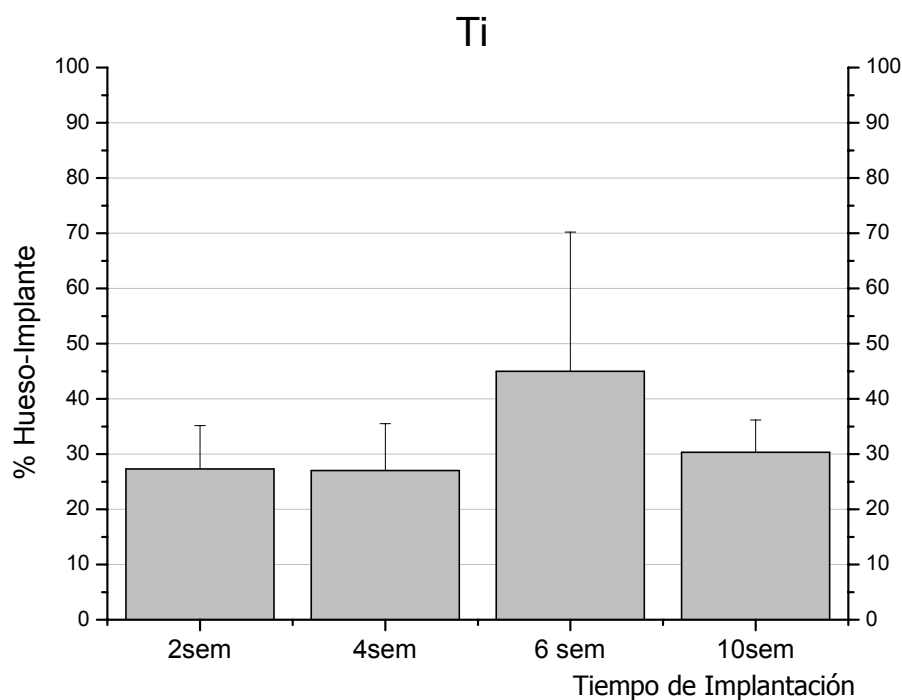


Figura 7.24 Representación de la evolución a lo largo del tiempo de implantación de los valores de % Hueso-Implante para los implantes con superficie Ti. No hay diferencias estadísticamente significativas entre los distintos valores.

Los implantes mecanizados (Figura 7.24) no presentan diferencias estadísticamente significativas a lo largo de todo el tiempo de estudio, estabilizándose en porcentajes de aproximadamente un 25-30 % (Tabla 7.III). El valor de % Hueso-Implante después de 6 semanas de implantación parece anómalo. La elevada desviación estándar es un factor que refuerza esta hipótesis. Asimismo es la responsable de que, a pesar de que este valor es claramente superior al resto, no hayan diferencias estadísticamente significativas.

Los implantes Ácido (Figura 7.25) no aumentan la cantidad de hueso en contacto con el implante de forma significativa hasta las 10 semanas de implantación, alcanzando porcentajes finales de aproximadamente un 40-45 % (Tabla 7.III).

Los implantes del rugosos del tipo AL6 (Figura 7.26) tienen un crecimiento de hueso continuo hasta las 6 semanas de implantación. A partir de este momento los % Hueso-Implante se estabilizan a valores de aproximadamente 55-60 % (Tabla 7.III). No obstante,

no es hasta las 6 semanas de implantación que los valores son estadísticamente mayores a los iniciales.

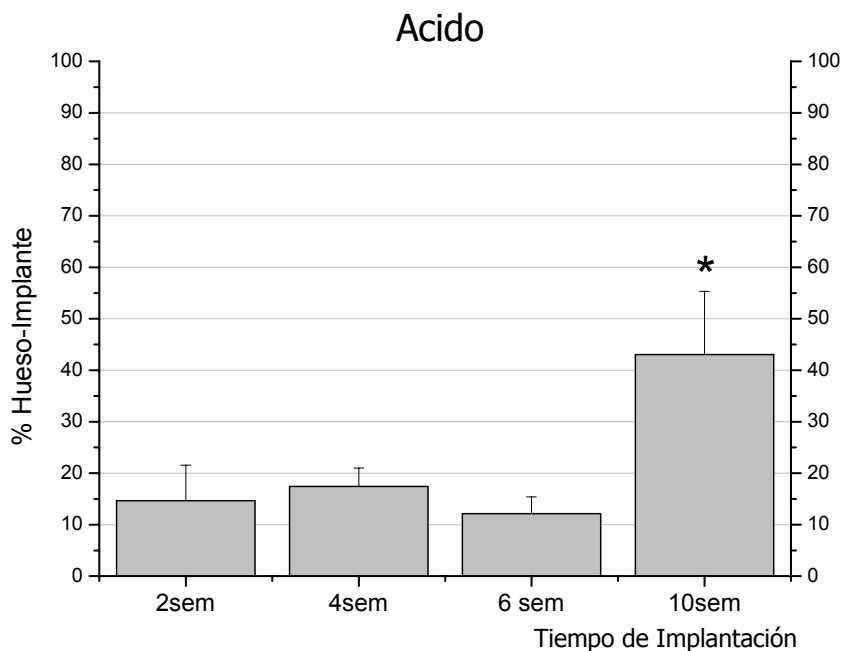


Figura 7.25 Representación de la evolución a lo largo del tiempo de implantación de los valores de % Hueso-Implante para los implantes con superficie Acido. Marcados con *: Diferencia estadísticamente significativa con respecto al resto no marcado.

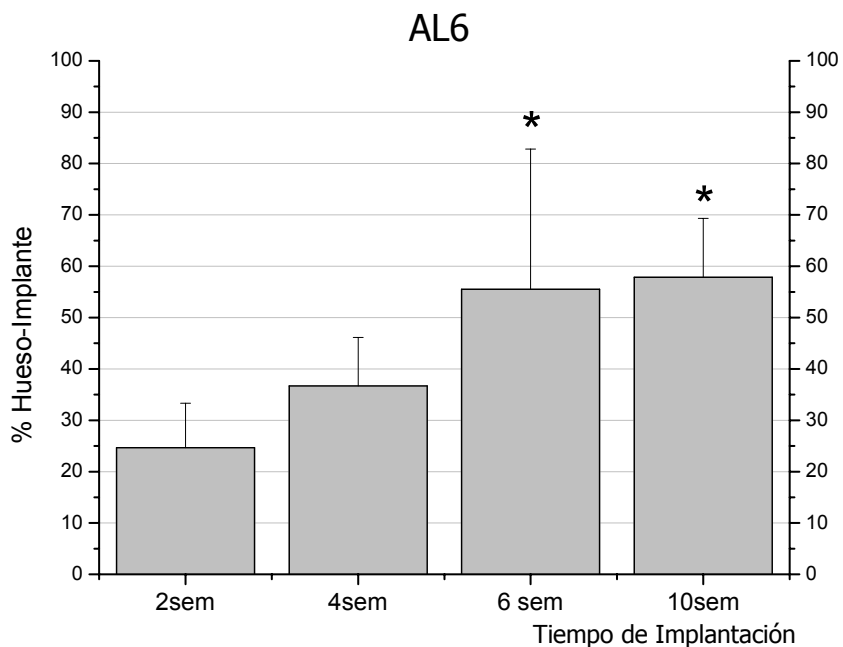


Figura 7.26 Representación de la evolución a lo largo del tiempo de implantación de los valores de % Hueso-Implante para los implantes con superficie AL6. Marcados con *: Diferencia estadísticamente significativa con respecto al resto no marcado.

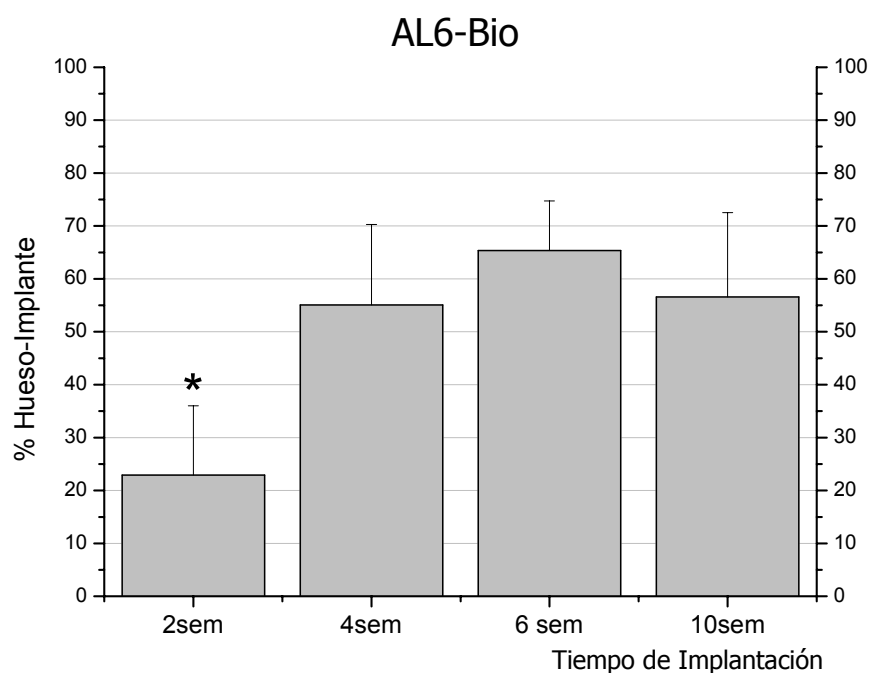


Figura 7.27 Representación de la evolución a lo largo del tiempo de implantación de los valores de % Hueso-Implante para los implantes con superficie AL6-Bio. Marcados con *: Diferencia estadísticamente significativa con respecto al resto no marcado.

Finalmente, los implantes rugosos y bioactivos del tipo AL6-Bio (Figura 7.27) presentan un crecimiento óseo en contacto con el implante más rápido que el resto de tipos de implantes, puesto que después de 4 semanas de implantación, los valores de % Hueso-Implante son estadísticamente significativos y superiores a los iniciales. Asimismo, a partir de este momento se estabilizan en porcentajes de aproximadamente 55-60%, como los de tipo AL6 al final del tiempo de estudio.

7.4.4. Bioactividad

Las imágenes de MEB de las Figuras 7.28 a 7.31 muestran una capa de tipo cristalino sobre la superficie de un implante de tipo AL6-Bio, después de 10 semanas de implantación (Figura 7.9). La capa está adherida a la superficie metálica y no adherida al tejido óseo (Figura 7.29). Se aprecia una morfología superficial de la capa obtenida similar a las capas apatíticas obtenidas *in vitro*, en el Capítulo 5 de esta Tesis Doctoral, al sumergir los mismos materiales en SBF (Figura 7.31).

El análisis por EDS de la composición química de Ca y P, tanto sobre el hueso como sobre la capa obtenida sobre los implantes rugosos y bioactivos (Figura 7.30), se detalla en la Tabla 7.IV. Con los resultados obtenidos se confirma la posibilidad de que la capa que

ha crecido sobre el Ti c.p. tratado termoquímicamente sea apatítica, puesto que la relación molar Ca/P para el hueso y la capa han sido 1,70 y 1,67, respectivamente.

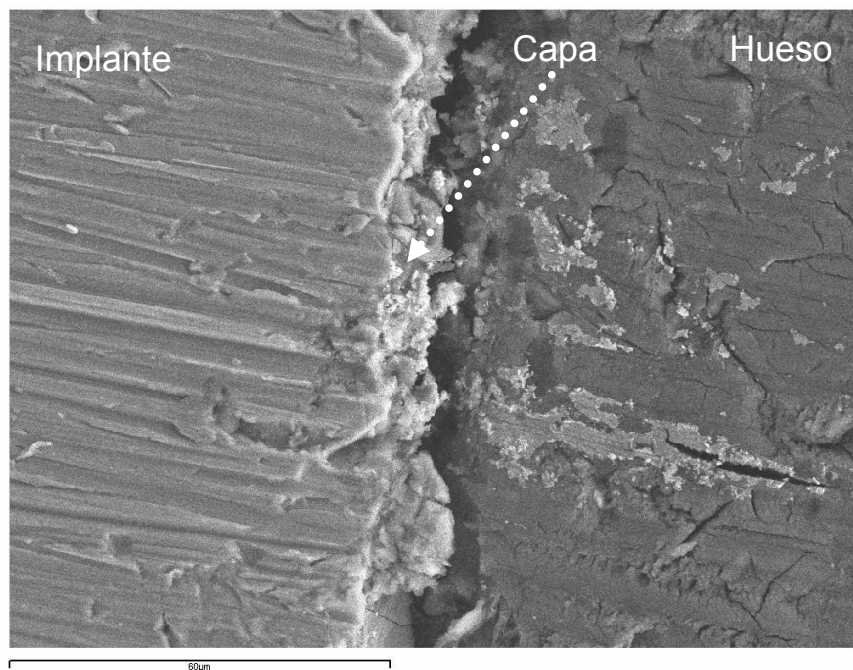


Figura 7.28 Imagen MEB ($\times 900$) de la interfaz del hueso y un implante del tipo AL6-Bio después de 10 semanas de implantación. Se observa la formación de una capa cristalina adherida sobre la superficie del implante.

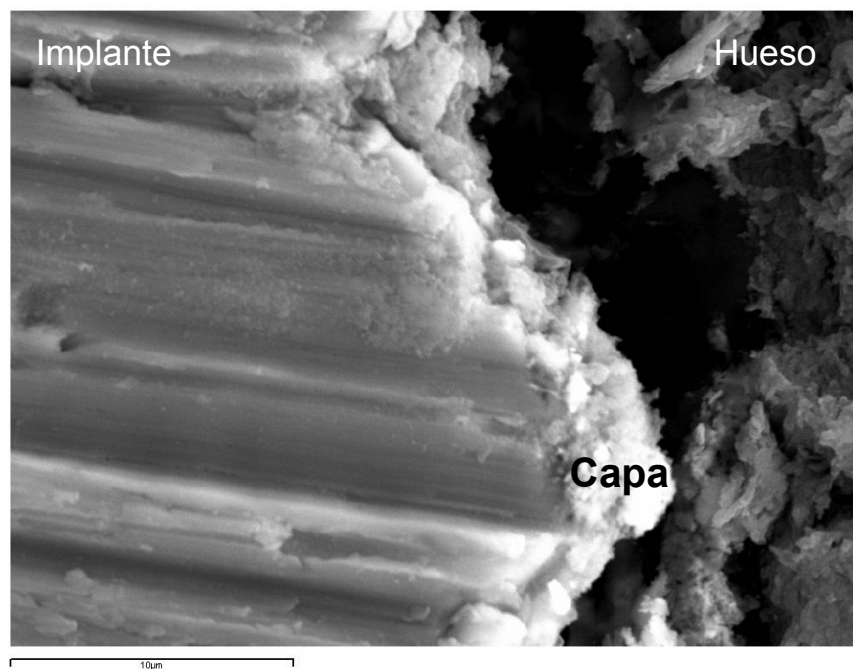


Figura 7.29 Imagen MEB ($\times 4000$) de un detalle de la interfaz entre el hueso y el implante rugoso y bioactivo que muestra la adhesión de la capa desarrollada a la superficie del implante.

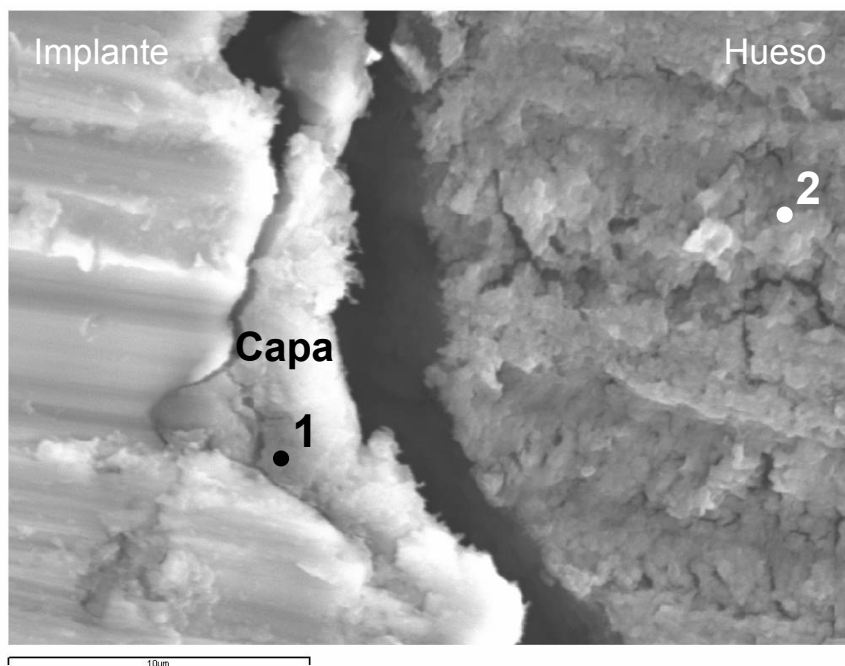


Figura 7.30 Imagen MEB ($\times 4300$) de un detalle de la interfaz entre el hueso y el implante rugoso y bioactivo. Los puntos 1 y 2, sobre la capa obtenida y sobre el hueso, respectivamente, son los puntos del análisis por EDS, cuyos resultados se detallan en la Tabla 7.IV.

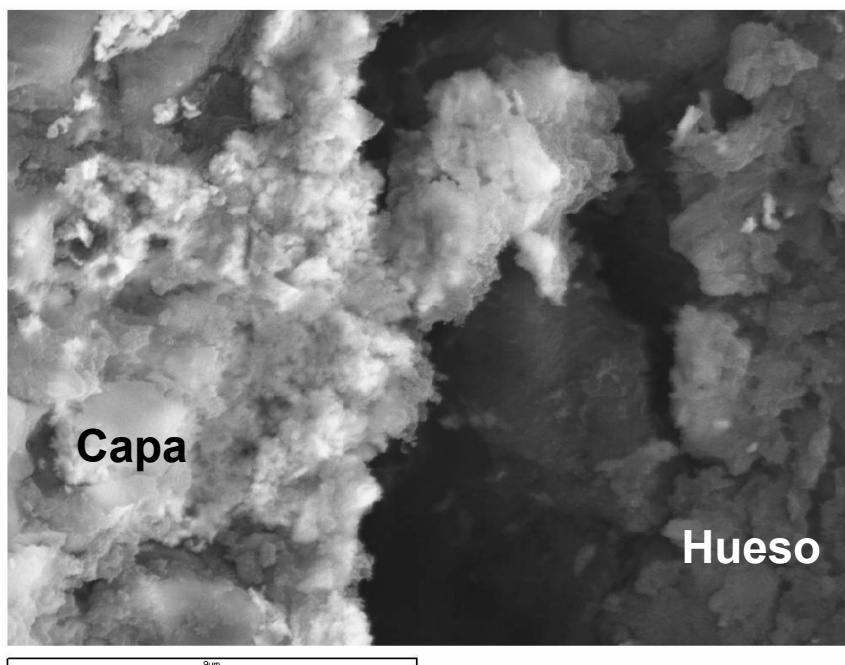


Figura 7.31 Imagen MEB de detalle ($\times 15000$) de la capa desarrollada sobre las superficies de los implantes AL6-Bio, después de 10 semanas de implantación.

Tabla 7.IV *Porcentajes en peso y relaciones Ca/P en peso y molar, obtenidos por EDS, de Ca y P, en cada uno de los puntos marcados en la Figura 7.30, sobre la capa y sobre el hueso. Los espectros de EDS se completaron con la determinación de otros elementos, como el O o el Au, procedentes del recubrimiento de oro.*

Posición	% Ca en peso	% P en peso	Ca/P en peso	Ca/P molar
1. Capa	4,84	2,20	2,20	1,70
2. Hueso	5,20	2,41	2,16	1,67

7.5. Discusión

7.5.1. Fracasos

El primer factor indicador del éxito de la implantación dental es la consecución de la estabilidad funcional de los implantes, es decir, que el implante quede fijo en su lugar de colocación y no se deba reemplazar. En caso de que esto no ocurra, los cirujanos consideran que el implante ha fracasado, y representa el principal inconveniente de esta práctica quirúrgica.

Las causas de un posible fracaso son variadas y no siempre son consecuencia de la respuesta del huésped en función del tipo de implante colocado. No obstante, en situaciones en las que la colocación inicial y las condiciones de carga específicas que el implante deba soportar comprometen el éxito, la calidad del implante, sobre todo en lo que hace referencia a su superficie, puede representar un factor crítico. En función de la velocidad y la calidad del tejido óseo neoformado alrededor del implante, los casos complicados se pueden resolver favorablemente o pueden, definitivamente, fracasar.

Estas consideraciones son las que, principalmente, se deben tener en cuenta al analizar los resultados de los fracasos obtenidos en este estudio (Tabla 7.I).

Teniendo en cuenta que los fracasos derivados de la mala colocación de los implantes, debido al diseño de colocación aleatorio, se deberían distribuir por igual entre los distintos tipos de superficies de Ti c.p. estudiadas, es relevante el hecho de que al aumentar el valor de rugosidad (R_a) de la superficie disminuya el porcentaje de implantes fracasados. Este resultado indica que una superficie rugosa en el orden dimensional de las obtenidas al granallar con la naturaleza y tamaño aquí empleado ($R_a \approx 4,7 \mu\text{m}$ para AL6 y AL6-Bio), mejora el éxito en la implantación, comparadas con las mecanizadas (Ti; $R_a \approx 0,3 \mu\text{m}$) y las atacadas con HF (Acido $\approx 0,7 \mu\text{m}$), cuyos valores de R_a son significativamente inferiores. Este resultado es compartido por muchos investigadores, tal y como revisa Buser [BUS01].

Sin embargo, el resultado más relevante es la baja incidencia de fracasos de los implantes rugosos y bioactivos, puesto que sólo uno de los implantes fracasó, siendo además en el cerdo sacrificado tras 8 semanas de implantación, el cual, tal y como se ha comentado en el Apartado 7.4.1., tuvo una incidencia anómala de fracasos por ser especialmente numerosos. En consecuencia, en los animales cuyo comportamiento fue normal, ninguno de los implante del tipo AL6-Bio fracasó. Este resultado positivo se refuerza y se puede explicar teniendo en cuenta los resultados de histomorfometría que se analizarán en el Apartado 7.5.2.

Con respecto a la incidencia de los fracasos en función de la colocación de los implantes en las distintas posiciones del hueso (Tabla 7.II), se puede concluir que la mandíbula inferior y el lado derecho fueron perjudiciales para la osteointegración de los implantes.

El factor lado de implantación es difícil de justificar y, aunque no es el resultado más importante del estudio, se han establecido dos hipótesis:

1) Los cerdos, a pesar de que a partir del momento de la colocación de los implantes fueron alimentados con pienso en polvo para evitar que mordiesen y, por lo tanto, cargasen prematuramente los implantes, se sabe que tienen tendencia a morder los comederos. Este hecho, además, tiene lugar principalmente en las primeras semanas de implantación por la incomodidad que los implantes causan en el animal. Cabe la posibilidad, aunque no confirmada por los veterinarios, que los cerdos tuviesen preferencia a morder por el lado derecho de su boca, debido, por ejemplo, a la ubicación de los citados comederos en el estabulario.

2) Todos los cerdos se intervinieron quirúrgicamente recostados sobre su lado derecho (Figuras 7.4 a 7.6). Esto no se llevó a cabo de esta manera de forma premeditada y, al no tenerlo en cuenta, cabe la posibilidad de que el cirujano viese dificultada la correcta colocación de los implantes en el lado en que el animal estaba recostado. Este hecho implicaría una deficiente alineación del implante o un apriete inicial más suave. Se ha consultado a los cirujanos al respecto, pero no recuerdan especialmente esta circunstancia.

De las dos hipótesis es más plausible la referente a la dificultad de colocación del implante, ya que también queda reforzada por los resultados del porcentaje de hueso en contacto directo con el implante (Figura 7.18). Los %Hueso-Implante son, en general, similares en los dos lados óseos. Si los minicerdos muerden los comederos, los micromovimientos que inducen sobre los implantes que no han fracasado deberán provocar una respuesta también negativa en la cantidad de hueso neoformado alrededor de los implantes. No es así. Como consecuencia, es más probable que el fracaso se deba a un factor puntual inicial, como es la mala colocación por parte del cirujano.

Más importante es, a priori, el resultado respecto al mayor número de fracasos en la mandíbula que en el maxilar. Normalmente, en el humano, la incidencia es la contraria, tanto por la cantidad como por la calidad menor del hueso disponible en el maxilar humano con respecto al de la mandíbula. No se ha podido obtener información precisa de cómo es esta circunstancia en el cerdo. Por otra parte, es contradictorio que, mientras que el número de fracasos en el estudio ha sido superior en la mandíbula que en el maxilar, el porcentaje de hueso en contacto directo con el implante, en general, es superior en la mandíbula que en el maxilar (Figura 7.19). Este resultado se puede explicar atendiendo, de

nuevo, al factor de dificultad de colocación del implante para el cirujano en función de si se ubica en un hueso o en el otro. De esta manera, si el cirujano ve dificultada la ubicación del implante en la mandíbula del cerdo, es normal el mayor número de fracasos. Si el cerdo, una vez el implante está bien colocado, presenta las mismas características óseas que el humano, sobre todo en lo que hace referencia a la calidad del hueso, sería normal que el %Hueso-Implante fuese mayor en su mandíbula.

El único implante que ha fracasado en el lado izquierdo del maxilar superior es el único implante fracasado de tipo AL6-Bio, lo que refuerza la excepcionalidad de este fracaso, y, en consecuencia, los magníficos resultados obtenidos con los implantes rugosos y bioactivos.

7.5.2. Histomorfometría

Una vez alcanzada la estabilidad mecánica de los implantes, el odontólogo se interesa principalmente por la calidad de esa estabilidad, es decir, lo rápida y biomecánicamente fuerte que es. Los estudios histomorfométricos evalúan la calidad de la osteointegración por medio del establecimiento de la cantidad de hueso neoformado en contacto directo con el implante, es decir, hábil para fijar mecánicamente el implante, y el tipo de tejido óseo que se forma. Este estudio se lleva a cabo a lo largo de un determinado periodo de implantación.

En este trabajo, el tiempo de implantación se ha establecido en un máximo de 10 semanas y, por lo tanto, se ha analizado la calidad de la osteointegración a corto y medio plazo. No se ha extendido el estudio en el tiempo puesto que ya es conocido que la osteointegración a largo plazo de los implantes rugosos se alcanza con niveles de éxito elevados y satisfactorios para la práctica clínica. Sin embargo, y tal y como indica el reconocido investigador Buser [BUS01]: “En la actualidad, los esfuerzos ya no se centran en la mejora de la respuesta a largo plazo de los implantes. En su lugar, los clínicos centran sus esfuerzos en cómo simplificar los procedimientos clínicos en la odontología implantológica. [...] La simplificación de los procedimientos clínicos ofrece varias ventajas: a) permitirá a más dentistas con habilidades medias controlar la técnica, permitiendo la generalización de la terapia implantológica en las consultas dentales; y b) reducirá los costes relacionados con la terapia implantológica, permitiendo a más pacientes el acceso a esta modalidad terapéutica. Basado en los esfuerzos por simplificar esta terapia, se identifican diversas tendencias en el campo de la implantología. Además de la tendencia, cada vez más evolucionada, de emplear modalidades quirúrgicas no sumergidas [BWL90]; [BBI97]; [ERN97], se pueden observar otras tendencias más desarrolladas, tales como a) el empleo de implantes más cortos y b) la reducción de los tiempos de curación. [...] El empleo de implantes más cortos, a menudo ofrece la posibilidad de evitar situaciones quirúrgicas de máxima

complejidad [BBL98]. Las ventajas clínicas de conseguir tiempos de curación más cortos son obvias. [...] La eficacia y predicción de los tipos de implantes que parece que se pueden cargar funcionalmente a tiempos más cortos [...] todavía no se han documentado para estudios clínicos puesto que no hay datos publicados en revistas científicas hasta la fecha.” Así pues, el objetivo del último Capítulo de esta Tesis Doctoral se ha centrado en identificar los implantes que alcanzan de manera más rápida y eficaz niveles óptimos de osteointegración.

Los resultados de %Hueso-implante (Tabla 7.III y Figuras 7.20 a 7.23) demuestran que los implantes rugosos y bioactivos (AL6-Bio) alcanzan niveles de osteointegración estadísticamente superiores al resto de tipos de superficies después de 4 semanas de implantación (Figura 7.21).

Anteriormente, después de 2 semanas de implantación (Figura 7.20), no hay diferencias estadísticamente significativas en el %Hueso-Implante, entre los distintos tipos de superficies. De hecho, tal y como se aprecia en las Figuras 7.14 a 7.17 a 2 semanas, el hueso que está en contacto directo con el implante es el que queda procedente de la cirugía, después de atornillar el implante.

Sin embargo, no es estrictamente cierto para todos los tipos de superficies. La Figura 7.17 a 2 semanas demuestra que, en el caso de los implantes AL6-Bio, se ha formado hueso nuevo, todavía en estado inmaduro, en contacto directo con el implante. Aunque es cierto que la cantidad del %Hueso-implante correspondiente a este hueso neoformado no es grande, sí es un hecho significativo que a tiempos de curación tan cortos los implantes rugosos y bioactivos ya hayan generado la formación de una cantidad significativa de hueso nuevo, a diferencia del resto de superficies. Roberts y col. [RSZ84] detectaron este tipo de hueso a tan sólo 3 días después de colocar implantes roscados de titanio en fémur y tibia de conejo, pero esta detección fue a nivel ultraestructural, lo cual refuerza el valor de la cantidad de hueso detectada sobre los implantes AL6-Bio. La aparición de este tipo de hueso inmaduro sobre la superficie de los otros tipos de implantes se retardó hasta las 4 semanas en el caso de los AL6, y hasta las 6 semanas en el caso de los Acido y Ti. Todo ello es un claro indicador de la aceleración de los procesos de osteointegración que provoca la superficie rugosa y bioactiva. Otros estudios con materiales bioactivos [STE93a]; [STE93b]; [BON97]; [DTB98], en este caso aleación de titanio recubierta con HA por proyección por plasma, demostraron también que, durante los primeros 14 días de curación, la cantidad de hueso inmaduro que creció alrededor de los implantes recubiertos con el material bioactivo, colocados en hueso cortical de conejo o de rata, fue superior que en los implantes sin recubrir.

Tal y como ya se ha dicho, después de 4 semanas de implantación, es cuando la diferencia entre las superficies rugosas y bioactivas se hace estadísticamente significativa (Figura 7.21) con respecto al resto de superficies. A partir de las 4 semanas y hasta las 10 semanas de implantación, las superficies rugosas y bioactivas ya no aumentan significativamente el %Hueso-Implante (Figura 7.27), mientras que las superficies sólo rugosas (AL6) consiguen los mismos valores que las AL6-Bio después de 6 semanas (Figura 7.22) y tampoco aumentan, a partir de ese momento, los valores de %Hueso-Implante (Figura 7.26); estabilizándose en ambos casos en valores de entre 55 y 60 %. Los implantes mecanizados y atacados con ácido no llegan a alcanzar, en todo el tiempo de estudio, los mismos valores de %Hueso-Implante que consiguen los implantes rugosos (Figura 7.23). El valor medio de %Hueso-Implante de los implantes mecanizados (Ti) después de 6 semanas de implantación es anómalo, en tanto que elevado y, de hecho, debido a su gran desviación estándar, no es significativamente diferente con el resto de valores para el mismo tipo de implante, a cualquiera de los otros tiempos de implantación (Figura 7.24).

En consecuencia, de acuerdo con los resultados obtenidos con este tipo de implante, en este modelo animal y con la técnica quirúrgica puesta en práctica, una vez alcanzado un 55-60 % de hueso en contacto directo con el implante, deja de aumentar el crecimiento del mismo. De esta manera, esto indicaría que, tal y como detallan Chappard y col. [CAH99], se alcanza el valor adecuado para la estabilización mecánica de los implantes y, a partir de ese momento, se incrementa la calidad del hueso por medio de su remodelación que consiste, principalmente, en un aumento del crecimiento de hueso laminar (maduro) a expensas del osteoide (inmaduro).

Por lo tanto, los implantes rugosos y bioactivos alcanzan la estabilización mecánica a partir de las primeras cuatro semanas de implantación, mientras que todo el resto de implantes necesitan más tiempo. No obstante, para confirmar estas conclusiones, deberían realizarse estudios biomecánicos que determinasen la resistencia a la cizalladura de la adhesión entre el implante y el hueso, por cualquiera de los métodos referidos en el Apartado 7.1.1. A este respecto, el estudio llevado a cabo por Brånemark y col. [BNO97] estableció una clara correlación entre la cantidad de hueso en la interfaz y la capacidad mecánica de los implantes, ya que al aumentar el porcentaje de hueso, aumentaron los valores de par de torsión medios y máximos necesarios para aflojar los implantes, ubicados en hueso laminar de rata, a lo largo de 16 semanas de estudio. Sin embargo, los valores de *pull-out* se relacionaron con la cantidad de hueso fuera de los dientes de rosca de los implantes. Estas correlaciones también las han encontrado otros autores [BSS91]; [GWJ95]; [TRR99]. Mientras que también hay algunos trabajos que ponen en duda esta correlación [ROE02], puesto que no la encuentran, aunque en este caso las conclusiones son establecidas sin estudios estadísticos que las confirmen.

Por otra parte, los valores de %Hueso-Implante obtenidos no se pueden, ni se deben comparar con los valores obtenidos en otros estudios, puesto que la influencia que las distintas variables tienen sobre la variabilidad de los resultados es muy significativa. Las propiedades de los implantes (material y superficie), modelo animal, diseño del implante, lugar de implantación, técnica quirúrgica y modo de análisis y cálculo son factores muy importantes que pueden justificar las diferencias entre los estudios y, como consecuencia, justificar las controversias en las conclusiones analizadas en esta Discusión.

Otro resultado relevante del comportamiento de curación del tejido óseo alrededor de los implantes rugosos y bioactivos se deriva de la observación histológica del crecimiento del hueso inmaduro, en función del tipo de superficie. Así, tal y como se detalla en la Figura 7.32, el crecimiento del tejido osteoide se localiza justo en contacto con el implante, creciendo el tejido hacia las zonas alejadas de la superficie del mismo, es decir, con “crecimiento centrífugo”. Este hecho se confirma al observar la Figura 7.33. Primero porque en las zonas en que se unen el tejido inmaduro neoformado y el hueso ordenado periférico original, se visualiza una clara línea de no continuidad estructural con el hueso laminar ordenado; y segundo, porque la mineralización y ordenamiento estructural del primer tejido osteoide formado también se producen de forma “centrífuga”, desde el implante hacia fuera. Por último, a más tiempo de implantación se pueden identificar zonas de tejido ordenado siguiendo la periferia del implante y sin ningún contacto con el tejido laminar original (Figura 7.34). Este “crecimiento centrífugo” indica un comportamiento osteoinductivo por parte de los implantes rugosos y bioactivos, de la misma manera que se ha podido observar en otros estudios histológicos llevados a cabo con implantes de titanio o sus aleaciones recubiertos con HA [OTI92]; [DTB98], fluoroapatita [DTB98] o con implantación de iones calcio [HKY97]. Esto demostraría el comportamiento bioactivo de los implantes tratados termoquímicamente, sin los problemas derivados del empleo de la técnica de la proyección por plasma y, además, sin ni siquiera la necesidad de depositar la capa de apatita por vía química sobre la superficie de los implantes. De esta manera, los problemas derivados de la contaminación bacteriana encontrados en el Capítulo 5, también se podrían superar.

Este comportamiento centrífugo y osteoinductivo de los implantes AL6-Bio, se confronta con el mostrado por los implantes granallados. En su caso el crecimiento de hueso es “centrípeto”, es decir, desde el hueso laminar original hacia la superficie del implante, tal y como demuestra la Figura 7.35. Asimismo, las uniones entre el tejido inmaduro y el hueso laminar original presentan continuidad en la estructura de ordenación de las osteonas, también indicando el crecimiento desde el hueso original hacia el implante (Figura 7.36). Finalmente, el contacto del tejido sobre la superficie rugosa es íntimo, pero nunca aislado del hueso original circundante (Figura 7.37). Todo ello indica que los implantes granallados tienen un marcado comportamiento osteoconductor. Hay autores que afirman la

ostointductividad de los implantes rugosos y atacados químicamente [CSL98]; [SCB98], pero en este estudio no se ha podido comprobar esta circunstancia.

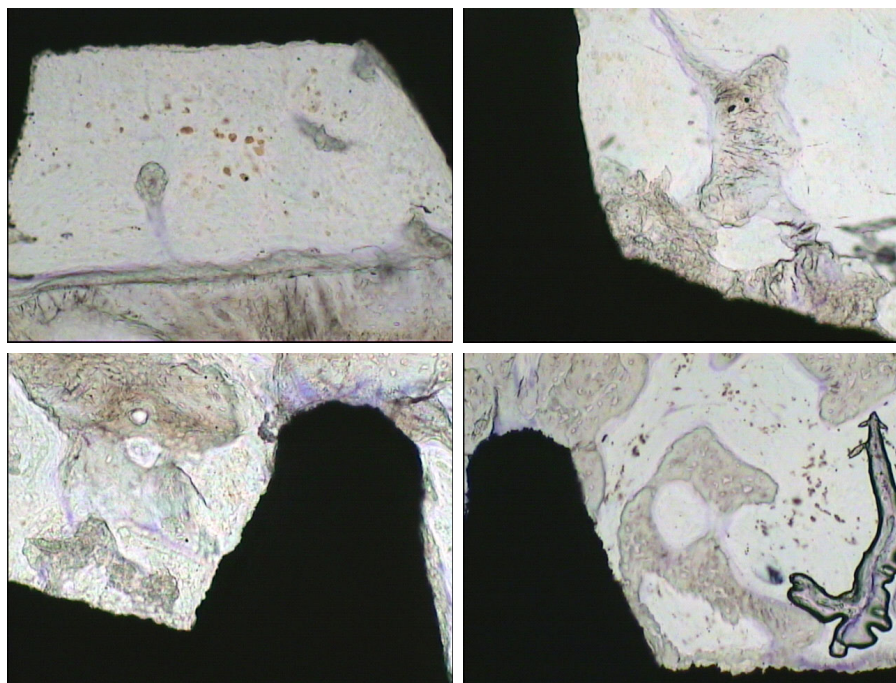


Figura 7.32 *Imágenes de histologías (x80) que muestran el “crecimiento centrífugo” (desde la superficie del implante) del tejido óseo inmaduro neoformado en implantes AL6-Bio, después de 2 semanas de implantación.*

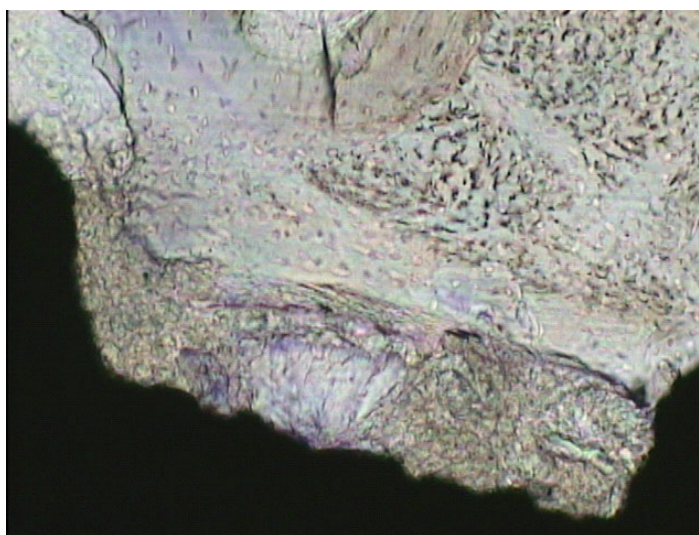


Figura 7.33 *Histología (x80) de los tejidos alrededor de un implante AL6-Bio, después de 2 semanas de implantación, en la que se observa la falta de continuidad estructural entre el hueso inmaduro neoformado y el hueso laminar original. También se observa el “crecimiento centrífugo” de nuevo hueso ordenado.*

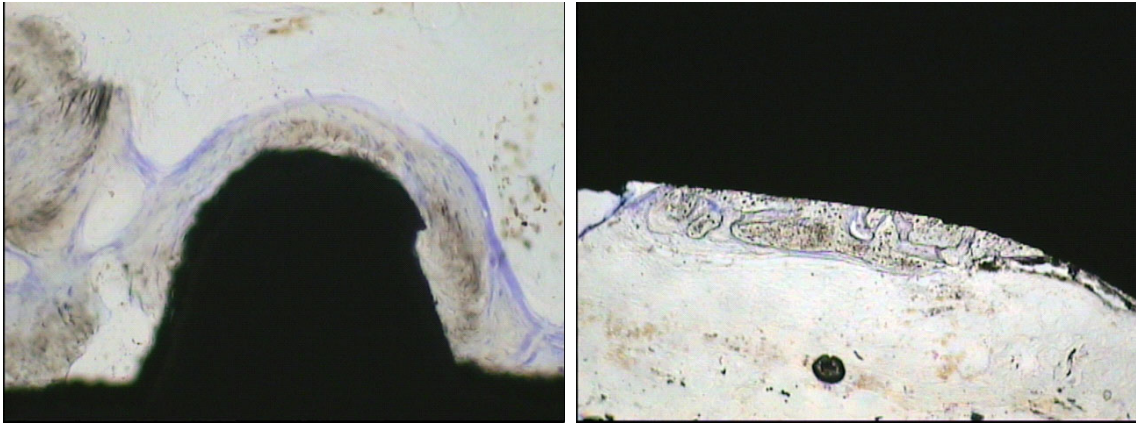


Figura 7.34 Histologías ($\times 80$) de los tejidos alrededor de implantes de tipo AL6-Bio, después de 6 semanas (izquierda) y 10 semanas (derecha) de implantación.

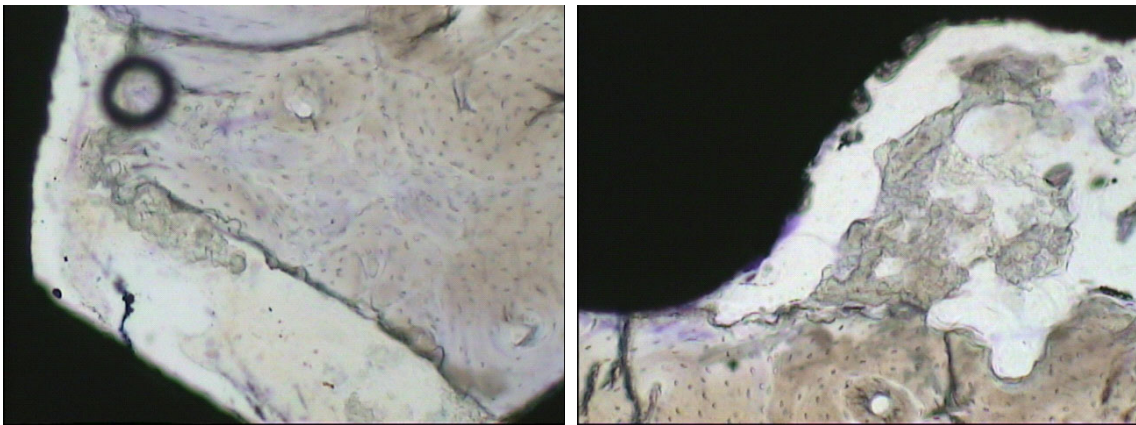


Figura 7.35 Imágenes de histologías ($\times 80$) que muestran el “crecimiento centripeto” (desde el hueso original) del tejido óseo inmaduro neoformado en implantes AL6, después de 4 semanas de implantación.

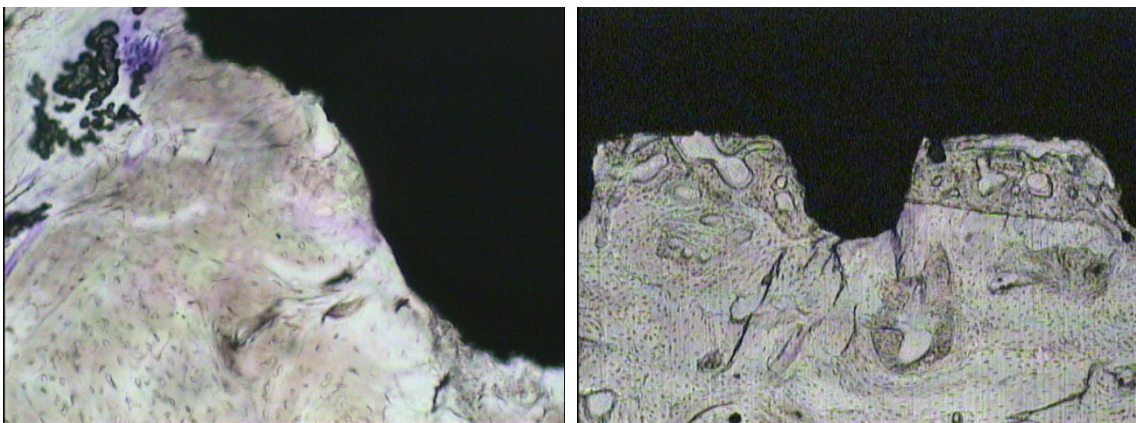


Figura 7.36 Histologías de los tejidos alrededor de un implante AL6, después de 4 semanas de implantación ($\times 80$) (izquierda), y después de 6 semanas de implantación ($\times 30$) (derecha) en la que se observa la continuidad estructural entre el hueso inmaduro neoformado y el hueso laminar original.

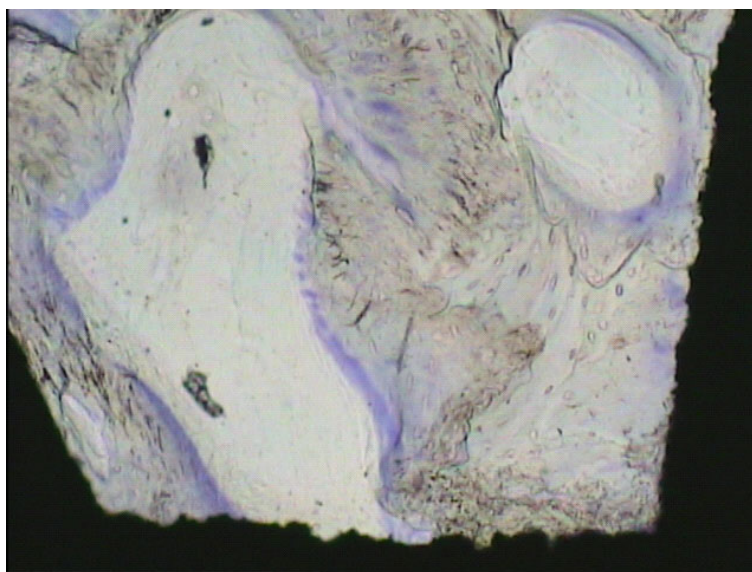


Figura 7.37 Histología ($\times 80$) de los tejidos alrededor de un implante de tipo AL6, después de 6 semanas de implantación.

En cualquier caso, las superficies granalladas también tienen un efecto positivo sobre la remodelación ósea, si se compara con las atacadas con ácido o las mecanizadas, ya que la osteointegración es más rápida. Esta conclusión, tal y como se ha expuesto en el Apartado 7.1.2., ha sido expuesta por muchos otros autores. Probablemente, esta aceleración de las superficies rugosas es debido al efecto beneficioso que generan sobre el entorno biológico alrededor del implante, el cual se podría relacionar, aunque con las reservas expresadas en el Apartado 3.5.5., con los resultados del comportamiento osteoblástico *in vitro* obtenido en los Capítulos 3 y 6. A este respecto, es significativo que en el estudio del Capítulo 6, los resultados de los cultivos *in vitro* permitan predecir los resultados *in vivo* obtenidos en este Capítulo. Si esto es así, y atendiendo a los resultados que en la literatura y en este mismo trabajo se han obtenido para superficies rugosas y/o bioactivas, cabe pensar que los buenos resultados obtenidos con la superficie rugosa y bioactiva (AL6-Bio) son debidos al efecto sinérgico que tienen, sobre el tejido, tanto la rugosidad como la bioactividad del material.

No obstante, el no haber incluido en el estudio *in vivo* implantes bioactivos con la superficie mecanizada (Ti-Bio en el Capítulo 6) no permite asegurar este hecho. Cabe la posibilidad de que la aceleración del crecimiento del tejido óseo sobre los implantes AL6-Bio sea principalmente debida a la bioactividad de las superficies, independientemente de su rugosidad. Aunque no parece lo más probable, y aún suponiendo que sea así, la combinación de una superficie bioactiva y rugosa de las características de las superficies AL6-Bio será beneficiosa puesto que la bioactividad mejorará no sólo la respuesta a corto plazo, comparada con las superficies que sólo sean rugosas, sino también a largo plazo,

comparada con las superficies lisas que sólo son bioactivas, puesto que la fijación micromecánica adicional conseguida gracias a la rugosidad se añadirá a la interacción entre la apatita crecida *in vivo* y el tejido neoformado.

Los distintos trabajos *in vivo* llevados a cabo por el grupo de Kokubo, introducidos en el Apartado 7.1.4, tampoco han estudiado de forma comparativa el comportamiento entre implantes con topografía lisa o rugosa. Sin embargo, sí han puesto de manifiesto la calidad mecánica de la adhesión entre la capa de apatita crecida sobre el Ti c.p. bioactivo y el hueso crecido a su alrededor. Este hecho es fundamental para que los comentarios finales del párrafo anterior sean válidos.

Todos estos resultados y análisis permite concluir que los implantes rugosos y bioactivos, obtenidos por granallado y tratamiento termoquímico, son candidatos preferenciales para ser utilizados con éxito en los procedimientos clínicos de carga inmediata. Estos procedimientos se han introducido en la rutina clínica por los beneficios que aportan a los pacientes al no tener que esperar tiempos de entre 3 y 6 meses para poder cargar funcionalmente el implante [LEL01]; [MJM04]. Se han publicado estudios [DWP86]; [SAN93]; [PPC97]; [CSF99]; [MJM04] que demuestran que se puede alcanzar la curación de los tejidos que rodean al implante y, por lo tanto, la osteointegración, cargando al implante desde el día de su colocación. Szmukler-Moncler y col. [SSR98] publicaron un exhaustivo trabajo de revisión. Para alcanzar el éxito, se precisa restringir los micromovimientos permitidos al implante. Para conseguirlo con fiabilidad en un gran número de situaciones es necesario, a parte de un control clínico pormenorizado, una alta estabilidad primaria del implante y una elevada tasa de crecimiento óseo durante las primeras semanas de implantación. Es por esto que los implantes AL6-Bio son los mejores candidatos para este tipo de técnica, cumpliendo las exigencias expuestas al principio de este Apartado respecto a la simplificación de los procedimientos clínicos, de acuerdo a los comentarios de Buser: permite a más dentistas asegurar el éxito, y a más pacientes acceder al tratamiento, gracias a, en este caso, la reducción de los tiempos de curación y el aumento en la confianza del éxito.

7.5.3. Bioactividad

Para que un material empleado como sustituto de las funciones del tejido duro se considere bioactivo es necesario que desarrolle *in vivo* una capa de apatita sobre su superficie [HEN91].

El implante rugoso y bioactivo (AL6-Bio) estudiado en esta Tesis Doctoral se ha supuesto bioactivo al haber demostrado en el Capítulo 5 su habilidad para crecer sobre su superficie una capa de apatita *in vitro* por vía química, al sumergirlo en una solución de tipo SBF. De

hecho, el análisis de los resultados de este Capítulo, así como el anterior, se ha fundamentado en esta suposición.

Los Figuras 7.28 a 7.31 y los resultados EDS de la Tabla 7.4 confirman la bioactividad del implante rugoso y bioactivo. En efecto, se observa la formación de una capa:

(1) de material cristalino, de tamaño de cristal nanométrico (Figura 7.31); como el obtenido *in vitro* por vía química.

(2) de unos pocos micrómetros de espesor (3-10 μm), de grosor heterogéneo. La heterogeneidad puede ser provocado por la nucleación y crecimiento preferencial de los cristales apatíticos en ciertas zonas de la superficie; o porque en algunas zonas, por efecto del modo de preparación de la muestra, haya saltado parte de la capa, tal y como se observa en la zona inferior de la Figura 7.28.

(3) que sigue el perfil de la topografía rugosa original (Figuras 7.29 y 7.30), lo que garantiza el nivel de rugosidad necesario para que los efectos de ella sean beneficiosos.

(4) con una relación molar Ca/P igual a 1,70 (Tabla 7.IV). Este es el resultado que confirma el carácter apatítico de la capa formada, ya que en el hueso, la relación molar Ca/P calculada es de 1,67. Teniendo en cuenta el error asociado a las medidas por EDS, se puede suponer que la relación Ca/P en la capa y en el hueso es prácticamente igual. Este error se aprecia en el valor obtenido para la relación Ca/P en el hueso, que es exactamente la de la HA estequiométrica, cuando es sabido que la HA del hueso no lo es.

(5) y, finalmente, no adherida al hueso. Este hecho es, probablemente, debido a la preparación de la muestra, puesto que los bloques se prepararon con la intención de ser utilizados exclusivamente para el análisis histomorfométrico y no para la observación por microscopía electrónica de la interfase. En este caso, la técnica de la fractura criogénica, desarrollada en el grupo de Thomsen [STE92], hubiese sido más apropiada. En cualquier caso, los resultados revisados de Kokubo y col. [KKK04], donde se demuestra la bioactividad conseguida por efecto del tratamiento termoquímico de la misma manera que en este trabajo, también muestran la capa de apatita no sólo separada del hueso, sino también del implante, al ser observadas por MEB. Sin embargo, los resultados de arrancamiento demostraron una fuerte adhesión entre el hueso y la capa, y entre la capa y el implante.

7.6. Conclusiones

Del análisis de los resultados obtenidos en este Capítulo se concluye que:

(1) Todas los implantes de Ti c.p. estudiados en este Capítulo han demostrado su biocompatibilidad como sustitutos del tejido óseo, por lo que ni el tratamiento de granallado (alta rugosidad y presencia de partículas contaminantes), ni el termoquímico (bioactividad), ni el ataque ácido (baja rugosidad), comprometen la osteointegración del Ti c.p.

(2) Los implantes granallados con alta rugosidad (AL6, AL6-Bio, $R_a \approx 4,7 \mu\text{m}$; $P_c \approx 90 / \text{cm}$) aceleran los procesos de osteointegración, si se comparan con los implantes con rugosidad inferior (Ti, $R_a \approx 0,3 \mu\text{m}$, Acido $\approx 0,7 \mu\text{m}$), como demuestran los valores de porcentaje en contacto directo con el implante superiores a tiempos más cortos de implantación.

(3) Los implantes rugosos y bioactivos (AL6-Bio) son los implantes que alcanzan la osteointegración de forma significativamente más rápida que todo el resto de implantes estudiados. Esta osteointegración se consigue después de 4 semanas de ser implantados, y se confirma porque, a tiempos superiores de implantación, ni estos mismos implantes, ni ninguno de los otros, aumentan los valores de porcentaje de hueso en contacto directo con el implante por encima de los valores alcanzados por AL6-Bio, transcurridas las cuatro primeras semanas.

(4) Como consecuencia de la conclusión (3), junto con la ausencia de fracasos de los implantes AL6-Bio, los implantes rugosos y bioactivos mejoran la osteointegración a corto y medio plazo, con respecto al resto de implantes estudiados.

(5) Las superficies rugosas y bioactivas (AL6-Bio) han mostrado cualidades osteoinductivas, demostradas por el “crecimiento centrífugo” del tejido óseo neoformado, es decir, desde el implante hacia el hueso laminar original.

(6) Las superficies granalladas (AL6) han mostrado cualidades osteoconductoras, demostradas por el “crecimiento centrípeto” del tejido óseo neoformado, desde el hueso laminar original hasta alcanzar el contacto directo (bajo observación por microscopía óptica) con la superficie de los implantes.

(7) Los implantes rugosos y bioactivos (AL6-Bio) han demostrado ser bioactivos al depositar *in vivo* una capa de fosfato de calcio con relación molar $\text{Ca/P}=1,70$ (calculada por EDS), lo que indica que el material de la misma puede ser apatita.

(8) Como consecuencia de las conclusiones (3), (4), (5) y (7), los implantes rugosos y bioactivos (AL6-Bio) son candidatos preferenciales para ser utilizados en los procedimientos clínicos de carga inmediata.

7.7. Referencias

- [AYS01] Arola DD, Yan DT, Stoffel KA. The Apparent Volume of Interdigitation: A New Parameter for Evaluating the Influence of Surface Topography on Mechanical Interlock. *J Biomed Mater Res (Appl Biomater)* 58 (2001) 519-524.
- [BBI97] Becker W, Becker BE, Israelson H, Lucchini JP, Handelsman M, Ammons W, Rosenberg E, Rose L, Tucker LM, Leckholm U. One-step surgical placement of Brånemark implants: A prospective multicenter clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 12 (1997) 454-462.
- [BBL98] Buser D, Belser UC, Lang NP. The original one-stage dental implant system and its clinical applications. *Osseointegration: a reality. Periodontology* 2000 17 (1998) 106-118.
- [BFF89] Block M, Finger I, Fontenot M, Kent J. Loaded hydroxylapatite-coated and grit-blasted titanium dental implants in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 4 (1989) 219-225.
- [BKK87] Block M, Kent J, Kay J. Evaluation of hydroxyapatite-coated titanium dental implants in dogs. *J Oral Maxillofac Surg* 45 (1987) 601-607.
- [BLT95] Brånemark PI, Lausmaa J, Thomsen P, Ericsson L, Brånemark R, Skalak R. Anatomy of osseointegration and the transfer of load. En "Reconstructive Prosthetic Oral and Maxillofacial surgery"; eds. Fonseca R, Davis W. WB Saunders, Philadelphia (1995), p. 161-224.
- [BMA97] Ban S, Maruno S, Arimoto N, Harada A, Hasewaga J. Effect of electrochemically deposited apatite coating on bonding of bone to the HA-G-Ti composite and titanium. *J Biomed Mater Res* 36 (1997) 9-15.
- [BNH98] Buser D, Nydegger T, Hirt HP, Cochran DL, Nolte LP. Removal torque values of titanium implants in the maxilla of miniature pigs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 13 (1998) 611-619.
- [BNO99] Buser D, Nydegger T, Oxland T, Cochran DL, Schenk RK, Hirt HP, Snétivy D, Nolte LP. Influence of surface characteristics on the interface shear strength between titanium implants and bone. A biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 45 (1999) 75-83.
- [BON97] Brånemark R, Öhrnell L, Nilsson P, Thomsen P. Biomechanical characterization of osseointegration during healing: an experimental *in vivo* study in the rat. *Biomaterials* 18 (1997) 969-978.
- [BSS91] Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. An histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 25 (1991) 889-902.
- [BSW97] Berzins A, Shah B, Weinans H, Sumner DR. Nondetractive measurements of implant-bone interface shear modulus and effects of implant geometry in *pull-out* tests. *J Biomed Mater Res* 34 (1997) 337-340.
- [BUS01] Buser D. Titanium for Dental Applications (II): Implants with Roughened Surfaces. 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. 875-888.

- [BWL90] Buser D, Weber HP, Lang NP. Tissue integration of nonsubmerged implants. 1-year results of a prospective study with 100 ITI hollowcylinder and hollowscrew implants. *Clin Oral Implants Res* 1 (1990) 33-40.
- [CBL97] Carr AB, Beals DW, Larsen PE. Reverse-torque failure of screw-shaped implants in baboons after 6 months of healing. *Int J Oral Maxillofac Implants* 12 (1997) 598-603.
- [CKT87] Cook S, Kay J, Thomas K, Jarcho M. Interface mechanics and histology of titanium and hydroxylapatite-coated titanium for dental implant applications. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2 (1987) 15-22.
- [COB99] Cochran DL, Buser D. Bone Response to Sandblasted and Acid-Attacked Titanium: Experimental and Clinical Studies. En "Bone Engineering"; ed. Davies JE. em squared Inc., Toronto (1999) p. 391-398.
- [CRA88] Carlsson L, Röstlund T, Albrektsson B, Albrektsson T. Removal torques for polished and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 3 (1988) 21-24.
- [CSF99] Corso M, Sirota C, Fiorelline J, Rasool F, Szmukler-Moncler S, Weber HP. Evaluation of the osseointegration of early loaded free-standing dental implants with various coatings in the dog model: periostest and radiographic results. *J Prosth Dent* 82 (1999) 428-435.
- [CSL98] Cochran DL, Schenk RK, Lussi A, Higginbottom FL, Buser D. Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible. *J Biomed Mater Res* 40 (1998) 1-11.
- [CVN97] Caulier H, Vercaigne S, Naert I. The effect of Ca-PP plasma-sprayed coatings on the initial bone healing of oral implants: an experimental study in the goat. *J Biomed Mater Res* 34 (1997) 121-128.
- [DEM95] Dávid A, Eitenmüller J, Muhr G, Pommer A, Bär HF, Ostermann PAW, Schildhauer TA. Mechanical and Histological Evaluation of hydroxyapatite-coated, titanium-coated and grit-blasted surfaces under weight-bearing conditions. *Arch Orthop Trauma Surg* 114 (1995) 112-118.
- [DTB98] Dhert W, Thomsen P, Blomgren A, Esposito M, Ericson L, Verbout A. Integration of press-fit implants in cortical bone: A study on interface kinetics. *J Biomed Mater Res* 41 (1998) 574-583.
- [DWP86] Deporter DA, Watson PA, Pilliar RM, Melcher AH, Winslow J, Howley TP, Haisel P, Maniopoulos C, Rodriguez A. A histological assessment of the initial healing response adjacent to porous surfaced Ti alloy dental implants in dogs. *J Dent Res* 65 (1986) 1064-1070.
- [EJB94] Ericsson I, Johansson DB, Bystedt H, Norton MR. A hytomorphometric evaluation of bone-to-implant contact on machine prepared and roughened titanium dental implants. *Clin Oral Implants Res* 5 (1994) 202-206.
- [EMC96] Evans G, Mendez A, Caudill R. Loaded and unloaded titanium versus hydroxyapatite-coated threaded implants in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 11 (1996) 360-371.
- [ERN97] Ericsson I, Randow K, Nilner K, Petersson A. Some clinical and radiographical features of submerged and non-submerged titanium implants. A 5-year follow-up study. *Clin Oral Implants Res* 8 (1997) 422-426.

- [FSA02] Frenkel SR, Simon J, Alexander H, Dennis M, Ricci JL. Osseointegration on Metallic Implant Surfaces: Effects of Microgeometry and Growth Factor Treatment. *J Biomed Mater Res (Appl Biomater)* 63 (2002) 706-713.
- [GJA97] Gottlander M, Johansson C, Albrektsson T. Short- and long-term animal studies with a plasma-sprayed calcium-phosphate coated implants. *Clin Oral Implants Res* 8 (1997) 345-351.
- [GJT03] Göransson A, Jansson E, Tengvall P, Wennerberg A. Bone formation after 4 weeks around blood-plasma-modified titanium implants with varying surface topographies: an *in vivo* study. *Biomaterials* 24 (2003) 197-205.
- [GMF90] Gross U, Müller-Mai Ch., Fritz Th, Voigt Ch, Knarse W, Schmitz HJ. Implant Surface Roughness and Mode of Load Transmission Influence Periimplant bone structure. En "Clinical Implant Materials. Advances in Biomaterials. Vol 9."; ed. Heimke G, Soltész U, Lee AJC. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam (1990) p. 303-314.
- [GNH92] Gotfredsen K, Nimb L, Hjørtting-Hansen E, Jensen JS, Holmén A. Hystomorphometric and removal torque analysis for TiO₂-blasted titanium implants. *Clin Oral Implants Res* 3 (1992) 77-84.
- [GWJ95] Gotfredsen K, Wennerberg A, Johansson C, Skovgaard LT, Hjørtting-Hansen E. Anchorage of TiO₂-blasted, HA-coated, and machined implants: An experimental study with rabbits. *J Biomed Mater Res* 29 (1995) 1223-1231.
- [HBS91] Hale TM, Boretzky BB, Scheidt MJ, McQuade MJ, Strong SL, van Dyke TE. Evaluation of titanium dental implant osseointegration in posterior edentulous areas of micro swine. *J Oral Implantol* 17 (1991) 118-124.
- [HDL96] Hure G, Donath K, Lesourd M, Chappard D, Basle M. Does titanium surface treatment influence the bone-implant interface? SEM and histomorphometry in a 6-month sheep study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 11 (1996) 506-511.
- [HEN91] Hench LL. Bioceramics: From concept to clinic. *J Am Ceram Soc* 74 (1991) 1487-1510.
- [HKY97] Hanawa T, Kamiura Y, Yamamoto S. Early bone formation around calcium-ion-implanted titanium inserted into rat tibia. *J Biomed Mater Res* 36 (1997) 131-136.
- [HMU99] Hayashi K, Mashima T, Ueyonama K, The effect of hydroxyapatite coating on bony ingrowth into grooved titanium implants. *Biomaterials* 20 (1999) 111-119.
- [HRG01] Hallaren C, Reimers H, Gold J, Wennerberg A. The importance of surface texture for bone integration of screw-shaped implants: An *in vivo* study of implants patterned by photolithography. *J Biomed Mater Res* 57 (2001) 485-496.
- [HYK02] Hayakawa T, Yoshinari M, Kiba H, Yamamoto H, Nemoto K, Jansen J. Trabecular bone response to surface roughened and calcium phosphate (Ca-P) coated titanium implants. *Biomaterials* 23 (2002) 1025-1031.
- [JVH99] Jansen JA, Vercaigne S, Hulshoff AG, Corten FGA, ter Brugge PJ, Naert I. The Effect of Surface Roughness and Calcium-Phosphate Coating on Bone-Regenerative Implant Surfaces. En "Bone Engineering"; ed. Davies JE. em squared Inc., Toronto (1999) p. 345-357.

- [JWW91] Jansen J, van de Waerden J, Wolke J, de Groot K. Histologic evaluation of the osseous adaptation to titanium and hydroxyapatite-coated titanium implants. *J Biomed Mater Res* 21 (1991) 973-989.
- [JWW93] Jansen J, van de Waerden J, Wolke J. Histologic investigation of the biologic behaviour of different hydroxyapatite plasma-sprayed coatings in rabbits. *J Biomed Mater Res* 27 (1993) 603-610.
- [KKK04] Kokubo T, Kim HM, Kawashita M, Nakamura T. Bioactive metals: preparation and properties. *J Mater Sci: Mater Med* 15 (2004) 99-107.
- [KKN01] Kokubo T, Kim HM, Nishiguchi S, Nakamura T. *In vivo* apatite formation induced on titanium metal and its alloys by chemical treatment. *Key Eng Mat* 192-195 (2001) 3-6.
- [KNA97] Kokkevoeld PR, Nishimura RD, Adachi M, Caputo A. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 8 (1997) 442-447.
- [KTH01] Kaneko S, Tsuru K, Hayakawa S, Takemoto S, Ohtsuki C, Inoue H, Osaka A. *In vivo* evaluation of bone-bonding of titanium metal chemically treated with a hydrogen peroxide solution containing tantalum chloride. *Biomaterials* 22 (2001) 875-881.
- [KYN87] Keller JC, Young FA, Natiella JR. Quantitative bone remodelling resulting from the use of porous dental implants. *J Biomed Mater Res* 21 (1987) 305-319.
- [LAD89] de Lange G, Donath K. Interface between bone tissue and implants of solid hydroxyapatite or hydroxyapatite-coated titanium implants. *Biomaterials* 10 (1989) 121-125.
- [LAZ99] Lazzara RJ. Bone Response to Dual Acid-Etched and Machined Titanium Implant Surfaces. En "Bone Engineering"; ed. Davies JE. em squared Inc., Toronto (1999) p. 381-390.
- [LEL01] Larsson C, Esposito M, Liao H, Thomsen P. The Titanium-Bone Interface *In vivo*. 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. 587-648.
- [LEM99] Lemons J. Structure of Bone Adjacent to Different Dental Implants. En "Bone Engineering"; ed. Davies JE. em squared Inc., Toronto (1999) p. 313-320.
- [LFB02] Li D, Ferguson SJ, Beutler Th, Cochran DL, Sittig C, Hirt HP, Buser D. Biomechanical comparison of the sandblasted and acid-etched and the machined and acid-etched titanium surface for dental implants. *J Biomed Mater Res* 60 (2002) 325-332.
- [LFN03] Liang B, Fujibayashi S, Neo M, Tamura J, Kim HM, Uchida M, Kokubo T, Nakamura T. Histological and mechanical investigation of the bone-bonding ability of anodically oxidized titanium in rabbits. *Biomaterials* 24 (2003) 4959-4966.
- [MAN02] Manzanares C. Comunicación privada.
- [MBK87] Meffert R, Block M, Kent J. What is osseointegration? *Int J Periodontics Restorative Dent* 7 (1987) 9-21.
- [NKF01] Nishiguchi S, Kato H, Fujita H, Oka M, Kim HM, Kokubo T, Nakamura T. Titanium metals form direct bonding to bone after alkali and heat treatments. *Biomaterials* 22 (2001) 2525-2533.

- [NKN01] Nishiguchi S, Kato H, Neo M, Oka M, Kim HM, Kokubo T, Nakamura T. Alkali and heat-treated porous titanium for orthopedic implants. *J Biomed Mater Res* 54 (2001) 198-208.
- [NNK99] Nishiguchi S, Nakamura T, Kobayashi M, Kim HM, Miyaji F, Kokubo T. The effect of heat treatment on bone-bonding ability of alkali-treated titanium. *Biomaterials* 20 (1999) 491-500.
- [OTI92] Ogiso M, Tabata T, Ichijo T, Borgese D. Bone calcification on the hydroxyapatite dental implant and the bone-hydroxyapatite interface. *J Long-Term Effects Med Implants* 2 (1992) 137-148.
- [PBT97] Pebé P, Barbot R, Trinidad J, Pesquera A, Lucente J, Nishimura R, Nasr H. Counter-torque testing and histomorphometric analysis of various implant surfaces in canines: a pilot study. *Implant Dentistry* 6 (1997) 259-265.
- [PMS98] Piatelli A, Manzon L, Scarano A, Paolantonio M, Piatelli M. Histologic and histomorphometric analysis of the bone response to machined and sand-blasted titanium implants: An experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 13 (1998) 805-810.
- [PPC97] Piatelli A, Paolantonio M, Corigliano M, Scarano A. Immediate loading of titanium plasma-sprayed screw-shaped implants in man: a clinical and histological report of 2 cases. *J Periodontol* 68 (1997) 591-597.
- [PSP96] Piatelli A, Scarano A, Piatelli M, Calabrese L. Direct bone formation on sand-blasted titanium implants: an experimental study. *Biomaterials* 17 (1996) 1015-1018.
- [PUN99] Puleo DA, Nanci A. Understanding the bone-implant interface. *Biomaterials* 20 (1999) 2311-2321.
- [RAJ01] Ramp LC, Jeffcoat RL. Dynamic Behavior of Implants as a Measure of Osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16 (2001) 637-645.
- [ROE02] Rønold HJ, Ellingsen JE. Effect of micro-roughness produced by TiO₂ blasting-tensile testing of bone attachment by using coin-shaped implants. *Biomaterials* 23 (2002) 4211-4219.
- [RSA89] Roach H, Shearer J, Archer C. The choice of an experimental model. *J Bone Joint Surg (Br)* 71-B (1989) 549-553.
- [RSZ84] Roberts W, Smith R, Zilberman Y, Mozsary P, Smith R. Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. *Am J Orthod* 86 (1984) 95-111.
- [SAN93] Sagara M, Akagawa Y, Nikai H, Tsuru H. The effects of early occlusal loading on one-stage titanium implants in beagle dogs: a pilot study. *J Prosth Dent* 69 (1993) 281-288.
- [SCB98] Schenk RK, Buser D. Osseointegration: a reality. *Periodontology* 2000 17 (1998) 22-35.
- [SIP99] Simmons CA, Pilliar RM. A Biomechanical Study of Early Tissue Formation around Bone-Interfacing Implants: The Effect of Implant Surface Geometry. En "Bone Engineering"; ed. Davies JE. em squared Inc., Toronto (1999) p. 369-380.
- [SMZ00] Svehla M, Morberg P, Zicat B, Bruce W, Sonnabed D, Walsh WR. Morphometric and mechanical evaluation of titanium implant integration: Comparison of five surface structures. *J Biomed Mater Res* 51 (2000) 15-22.
- [SRP02] Soncini M, Rodriguez y Baena R, Pietrussa R, Quaglini V, Rizzo S, Zaffe D. Experimental procedure for the evaluation of the mechanical properties of the bone surrounding dental implants. *Biomaterials* 23 (2002) 9-17.

- [SSR98] Szmukler-Moncler S, Salama H, Reingewirtz Y, Durbruille JH. Timing of Loading and Effect of Micromotion on Bone-Dental Implant Interface: Review of Experimental Literature. *J Biomed Mater Res (Appl Biomater)* 43 (1998) 192-203.
- [STE92] Sennerby L, Thomsen P, Ericson L. Ultrastructure of the bone-titanium interface in rabbits. *J Mater Sci: Mater Med* 3 (1992) 262-271.
- [STE93a] Sennerby L, Thomsen P, Ericson L. Early tissue response to titanium implants inserted in rabbit cortical bone. Part I, Light microscopic observations. *J Mater Sci: Mater Med* 4 (1993) 240-250.
- [STE93b] Sennerby L, Thomsen P, Ericson L. Early tissue response to titanium implants inserted in rabbit cortical bone. Part I, Ultrastructural observations. *J Mater Sci: Mater Med* 4 (1993) 494-502.
- [SWG98] Story B, Wagner W, Gaisser D, Cook S, Rust-Dawicki A. *In vivo* performance of a modified CSTi dental implant coating. *Int J Oral Maxillofac Implants* 13 (1998) 749-757.
- [THC85] Thomas K, Cook S. An evaluation of variables influencing implant fixation by direct bone apposition. *J Biomed Mater Res* 19 (1985) 875-901.
- [TKC87] Thomas K, Kay F, Cook S, Jarcho M. The effect of surface macrotexture and hydroxylapatite coating on the mechanical strengths and histological profiles of titanium implant materials. *J Biomed Mater Res* 21 (1987) 1395-1414.
- [TRR99] Trisi P, Rao W, Rebaudi A. A histometric comparison of smooth and rough titanium implants in human low-density jaw bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 14 (1999) 689-698.
- [VAC99] Vidigal JG, Aragones L, Campos JA, Groisman M. Histomorphometric analyses of hydroxyapatite-coated and uncoated titanium dental implants in rabbit cortical bone. *Implant Dentistry* 8 (1999) 295-300.
- [VWN98a] Vercaigne S, Wolke J, Naert I, Jansen J. Histomorphometrical and mechanical evaluation of titanium plasma spray-coated implants placed in the cortical bone of goats. *J Biomed Mater Res* 41 (1998) 41-48.
- [VWN98b] Vercaigne S, Wolke J, Naert I, Jansen J. Bone healing capacity of titanium plasma sprayed and hydroxylapatite-coated oral implants. *Clin Oral Implants Res* 9 (1998) 261-271.
- [WAA95a] Wenneberg A, Albrektsson T, Andersson B. An animal study of C.P. titanium screws with different surface topographies. *J Mater Science: Mater Med* 6 (1995) 302-309.
- [WAA95b] Wenneberg A, Albrektsson T, Andersson B, Krol JJ. A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res* 6 (1995) 24-30.
- [WAJ96] Wenneberg A, Albrektsson T, Johansson C, Andersson B. Experimental study of turned and grit-shaped implants with special emphasis on effects of blasting material and surface topography. *Biomaterials* 17 (1996) 15-22.
- [WAL96] Wenneberg A, Albrektsson T, Lausmaa J. Torque and histomorphometric evaluation of c. p. Titanium screws blasted with 25- and 75- μm -sized particles of Al_2O_3 . *J Biomed Mater Res* 30 (1996) 251-260.
- [WCS90] Wilke H-J, Claes L, Steinemann S. The influence of various titanium surfaces on the interface shear strength between implants and bone. *Clin Implant Mater* 9 (1990) 309-315.

- [WEA97] Wenneberg A, Ektebassi A, Albrektsson T, Johansson C, Andersson B. A 1-year follow-up of implants of differing surface roughness placed in rabbit bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 12 (1997) 486-494.
- [WES95] Wong M, Eulenberger J, Schenk R, Hunziker E. Effect of surface topology on the osseointegration of implant materials in trabecular bone. *J Biomed Mater Res* 29 (1995) 1567-1575.
- [WHJ97] Wenneberg A, Hallgren C, Johansson C, Sawase T, Lausmaa J. Surface-characterization and biological evaluation of spark-eroded surfaces. *J Mat Sci: Mater Med* 8 (1997) 757-763.
- [WHJ98] Wenneberg A, Hallgren C, Johansson CB, Danelli S. A histomorphometrical evaluation of screw-shaped implants each prepared with two surface roughnesses. *Clin Oral Implants Res* 9 (1998) 11-19.
- [WHS98] Wie H, Hero H, Solheim T. Hot isostatic pressing-processed hydroxyapatite-coated titanium implants: light microscopic and scanning electron microscopy investigations. *Int J Oral Maxillofac Implants* 13 (1998) 837-844.
- [WIK99] Wigiato R, Ichikawa T, Kanitani H, Kawamoto N, Matsumoto N, Ishizuka H. Three-dimensional bone structure around hydroxyapatite and titanium implants in rabbits. *Clin Oral Implants Res* 10 (1999) 219-225.
- [YKD96] Yoshinari M, Klinge B, Derand T. The biocompatibility (cell culture and histologic study) of hydroxy-apatite-coated implants created by ion beam dynamic mixing. *Clin Oral Implants Res* 7 (1996) 96-100.
- [YNK97] Yan WQ, Nakamura T, Kobayashi M, Kim HM, Miyaji F, Kokubo T. Bonding of chemically treated titanium implants to bone. *J Biomed Mater Res* 37 (1997) 267-275.
- [ZHA97] Zhou P, Akao M. Preparation and characterization of double layered coating composed of hydroxyapatite and perovskite by thermal decomposition. *Biomed Mater Eng* 7 (1997) 67-81.