

# Estudio comparativo de la densidad mineral ósea periimplantaria en hueso fresco y formolizado en modelo animal

J.A. SOBRINO DEL RIEGO<sup>1</sup>, M.A. ALOBERA GRACIA<sup>2</sup>, C. CLEMENTE DE ARRIBA<sup>3</sup>,  
R. RODRÍGUEZ TORRES<sup>4</sup>, S. AGUADO HENCHE<sup>5</sup>, M.L. ESCUDERO RINCÓN<sup>6</sup>.

<sup>1</sup> Profesor Asociado del Departamento de Ciencias de la Salud III.  
Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Rey Juan Carlos de Madrid

<sup>2</sup> Práctica privada en Cirugía Bucal e Implantología.

<sup>3</sup> Profesora Titular del Departamento de Anatomía y Embriología Humana.  
Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá.

<sup>4</sup> Catedrática de Escuela Universitaria del Departamento de Anatomía y Embriología Humana.  
Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá.

<sup>5</sup> Profesora Asociada del Departamento de Anatomía y Embriología Humana.  
Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá.

<sup>6</sup> Investigadora Científica del Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas (CSIC).

## Resumen

Se realiza un estudio comparativo entre densidad mineral ósea (DMO) en hueso fresco y formolizado, como paso previo para comparar, en posteriores trabajos, la DMO en hueso formolizado con la osteointegración obtenida mediante estudios histológicos.

Se utilizó un densitómetro Norland XR-26 y como animales de experimentación, conejos Nueva Zelanda, a los que se les colocaron implantes intramedulares de distintos tipos en sus fémures, se utilizó también un grupo control sin implante. Los animales fueron sacrificados a los 2,5 meses y a los 5 meses. Se midió la densidad mineral ósea (DMO) alrededor del implante. A continuación se fijó el fémur para su estudio histológico, utilizando formol tamponado a pH 7, y se volvió a medir la DMO. En el grupo control sin implante se midió el mismo área que en los grupos con implantes.

Resultados: No se encontraron diferencias significativas entre las dos mediciones de DMO. Se encontró una menor DMO en el grupo sin implante frente a todos los grupos con implantes.

Conclusiones: La medición de la DMO en hueso fresco, o formolizado es un valor útil para su correlación con la osteointegración. La variaciones de la DMO tras la presencia del implante no son comparables con el grupo control sin implante.

**Palabras clave:** Técnica, densidad mineral ósea (DMO), osteointegración, formol

## Abstract

The purpose of this study is to compare bone mineral density (BMD) of fresh bone and formaldehyde bone, in order to do, posteriorly, comparative studies between formaldehyde bone and osseointegration obtained by means of histological studies.

Norland XR-26 Densitometer was used. Several intramedullary implants were located in the femur of New Zealand rabbits. There was a control group without implants. Rabbits were sacrificed after 2'5 and 5 months post surgery. BMD was measured around the implant. Femur was prepared for histological study in tampon formaldehyde at pH 7 and BMD was measured once more. Similar areas in control group and implanted groups were measured.

Results showed no statistical significant differences between measurements of BMD. BMD was smaller in control group in comparison with all implant groups.

Conclusions: Measurements of BMD in fresh or formaldehyde bone are a useful value to correlate with BIC. Variations of BMD after implant are nor comparable with the control group.

**Keywords:** Technics, bone mineral density (BMD), osseointegration, formaldehyde

## Introducción

La colocación de implantes osteointegrados es, en la actualidad, un tratamiento habitual y cada vez más frecuente, en diversos campos de las Ciencias de la Salud. Para que un tratamiento implantológico sea funcional, el biomaterial implantado debe osteointegrarse de manera que la unión íntima hueso-implante impida la pérdida de éste. El método inequívoco de cuantificar la osteointegración es el estudio histomorfométrico, pero tiene como principal inconveniente su metodología, ya que es una técnica invasiva que requiere el procesado histológico de la muestra. No es, por tanto, una técnica válida para valorar la evolución de un implante óseo a lo largo del tiempo.

Algunos estudios han utilizado análisis densitométricos (1,2), técnica no invasiva que utiliza rayos X, para predecir la evolución del implante. Sin embargo, actualmente no se conoce con exactitud el grado de correlación entre ambos métodos, algunos trabajos sugieren posibles correlaciones positivas entre el estudio histomorfométrico y el densitométrico (3) pero son necesarios aún, estudios complementarios más exhaustivos.

Lo ideal, para poder establecer un estudio comparativo entre ambos métodos, sería poder realizar la densitometría mediante la valoración de la densidad mineral ósea (DMO) y el estudio del porcentaje de osteointegración en la misma muestra de tejido óseo, esto requiere una coordinación exquisita entre el momento de la medición de la DMO en el animal de experimentación in vivo, su sacrificio inmediato, y el rápido traslado de la muestra al laboratorio para su procesado histológico, lo que no siempre es posible. Para mejorar la técnica del estudio, sería interesante poder realizar la DMO en condiciones más cómodas y menos urgentes, por eso la fijación del hueso en formol, antes de realizar la medición densitométrica, y siguiendo la misma metodología que la utilizada para el estudio de osteointegración, facilitaría todo el proceso comparativo. Pero para ello necesitamos conocer, si los medios utilizados

para la fijación del tejido óseo, modifican en algún sentido, el valor de la densidad mineral del hueso.

El objetivo de este trabajo es, por ello, comparar las dos DMO, tanto en hueso fresco como fijado en formol siguiendo las mismas pautas de fijación que la utilizada para valorar el porcentaje de osteointegración.

## Materiales y métodos

Se utilizó un densitómetro Norland XR-26, con absorciometría dual fotónica de rayos-X, previa calibración del equipo. Se utilizó la modalidad investigación con una resolución de la exploración de 1mm x 1mm y la velocidad de 40mm/sg.

Como animales de experimentación se utilizaron 42 conejos machos de la raza Nueva Zelanda, a los que se les colocaron implantes intramedulares en sus fémures. Todos los animales fueron tratados y cuidados en el estabulario de la Universidad de Alcalá de Henares de acuerdo a las normas del Comité Ético de la Unión Europea para la experimentación animal.

Los implantes utilizados fueron de 16 mm de longitud por 3,7 mm de diámetro y de varios tipos de materiales, todos ellos roscados pero con distintas superficies:

- 1) Implantes de titanio con superficie lisa (Ti).
- 2) Implantes de titanio y con recubrimiento de adición de hidroxiapatita (HA).
- 3) Implantes de titanio con superficie de adición de titanio por plasma spray (TPS).
- 4) Implantes de titanio con superficie de sustracción por arenado y grabado ácido (SBM).
- 5) Implantes experimentales de titanio y superficie de rutilo (modificación estequiométrica del  $TiO_2$  superficial) (RU).
- 6) Implantes experimentales con recubrimiento de alúmina regenerada térmicamente, (MA-956), (*biomaterial desarrollado en el Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas (CENIM)*)

Se utilizó también el material quirúrgico necesario, y fresas de diámetros crecientes, acopladas a micromotor, para la realización del lecho quirúrgico. Para la anestesia del animal se utilizó Rompun<sup>®</sup>, Imalgene<sup>®</sup>, y atropina.

### *Técnica quirúrgica*

Para la colocación de los implantes intramedulares en la cavidad femoral del conejo, se anestesia al animal y se procede a la preparación del campo mediante rasurado y desinfección de la cara anterior de la rodilla del conejo. Se debe flexionar bien la rodilla y mantenerla en flexión todo

---

### *Correspondencia:*

Prof. Dra. Celia Clemente de Arriba.  
Dpto. de Anatomía y Embriología Humana. Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá de Henares.  
Ctra A-2, km 33, 600. 28871- Alcalá de Henares.  
Madrid.  
e-mail: [celia.clemente@uah.es](mailto:celia.clemente@uah.es) FAX: 918854539

el tiempo quirúrgico. A continuación se realiza una incisión vertical desde la zona media de la rótula a la tuberosidad anterior tibial, se abre hasta 1-2 cm por encima de la rótula, se incide la piel y la fascia, quedando visible el tendón rotuliano. Se hace un corte por el borde medial del tendón para que quede libre y a continuación, se luxa lateralmente el tendón junto con la rótula, quedando visible la superficie articular del fémur y la fosa intercondílea.

Se realiza un orificio en la línea media, sobre el cartilago articular, y a 1- 2 cm por delante de la fosa intercondílea. Se aumenta la cavidad mediante el fresado con micromotor hasta obtener un lecho quirúrgico con un diámetro de 3,4 mm. A continuación se coloca el implante roscándolo con terraja manual, siguiendo el eje mayor del fémur y ocupado la cavidad medular, se coloca de nuevo la rótula, y se cierra por planos.

Los animales fueron sacrificados a los 2,5 meses y a los 5 meses de la intervención quirúrgica.

Tras el sacrificio se hicieron dos grupos de tiempo: un grupo de 2,5 meses, el otro de 5 meses.

En cada grupo de tiempo se hicieron los siguientes subgrupos:

- (Ti): Animales a los que se les colocó implantes de titanio liso
- (HA): Animales con implantes de HA
- (TPS): Animales con implantes de TPS
- (SBM): Animales con implantes tipo SBM

-(RU): Animales con implantes experimentales tipo RU.

-(MA-956): Animales con implantes experimentales de (MA-956)

-Grupo control sin implante.

Todos los grupos de estudio se realizaron con 3 animales por grupo.

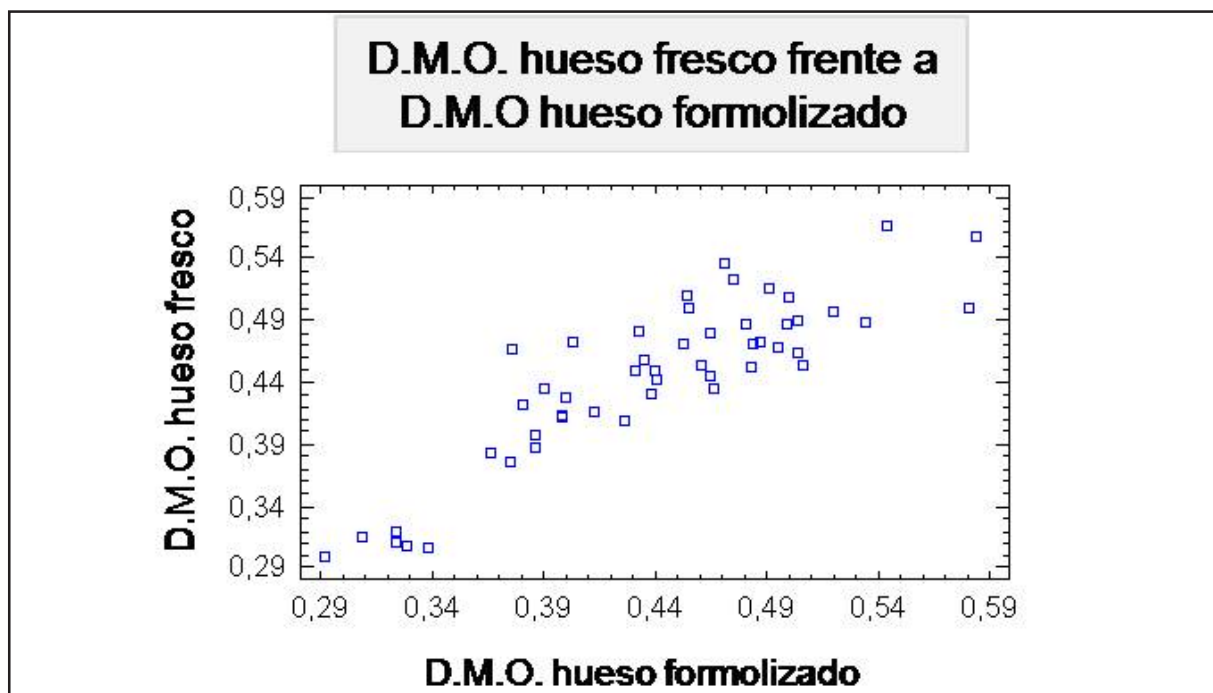
#### Valoración de la Densidad Mineral ósea:

Pasado el tiempo de estudio, se sacrificó al animal y se obtuvo el fémur. Se midió la DMO, en un área fija de 2 mm alrededor del implante, siguiendo el protocolo habitual para la valoración densitométrica, (4) A continuación se fijó en formol al 4% tamponado a ph 7 para evitar la descalcificación durante 7 días, pasado ese tiempo se volvió a medir la DMO siguiendo la misma metodología. De manera que de cada fémur obtuvimos una medición de la DMO en estado fresco y otra fijado en formol. En el grupo control sin implante medimos el mismo área equivalente a la de los grupos con implantes.

Posteriormente se procedió al estudio estadístico utilizando el software Statgraphics plus. 4.1

#### Resultados

No se encontraron variaciones estadísticamente significativas entre el grupo fresco y el formolizado



**Figura 1.** Cada punto de la gráfica indica el valor que una muestra obtuvo de DMO en estado fresco (valor representado en las ordenadas) y el que obtuvo tras su fijación en formol (valor de las abscisas)

( $p=0,33$ ) (figura 1). Para ello se realizó el estudio estadístico para muestras pareadas obteniendo una distribución normal de las diferencias, y aplicando el test T de Student para el estudio de las diferencias. Tampoco hubo diferencias entre los dos tiempos de estudio. El grupo control sí presentó una DMO significativamente menor que todos los demás grupos con implantes ( $p=0,000$ ) (figura 2).

### Discusión

La medición de la densidad mineral ósea, podría ser una técnica indirecta que nos permita valorar el estado de osteointegración del hueso, pero los estudios realizados hasta la fecha, no son concluyentes. En este estudio se ha demostrado que la medición en hueso formolizado o fresco no modifica los valores de la DMO. No hay en la bibliografía revisada, estudios que valoren la DMO en fresco y en formol. El hallazgo de este trabajo nos permitirá, en próximos estudios, poder comparar la DMO con el porcentaje de osteointegración, para así determinar si la densitometría es una medición válida para predecir la efectividad del implante.

En el estudio comparativo hemos visto una menor DMO en el grupo control, sin implante. Coincidiendo con otros estudios (5,6) en los que se ha demostrado (tesis tabuena, tesis elena) que la presencia del implante interfiere con las mediciones densitométricas, ya que la superficie irregular del biomaterial dificulta la identificación de la interfaz hueso-implante. Por otro lado, los estudios histológicos de osteointegración, han demostrado que la presencia del implante produce un aumento de neoformación ósea periimplantaria. Por tanto, la mayor DMO de los grupos con implantes frente al grupo control, puede ser debido a estos dos factores. Estudios posteriores comparativos con la osteointegración, permitirán la confirmación de estos hechos.

### Conclusiones

-La medición de la DMO en hueso formolizado, es un valor útil para su correlación con la osteointegración.

-La variaciones de la DMO tras la presencia del implante no son comparables con el grupo control sin implante.

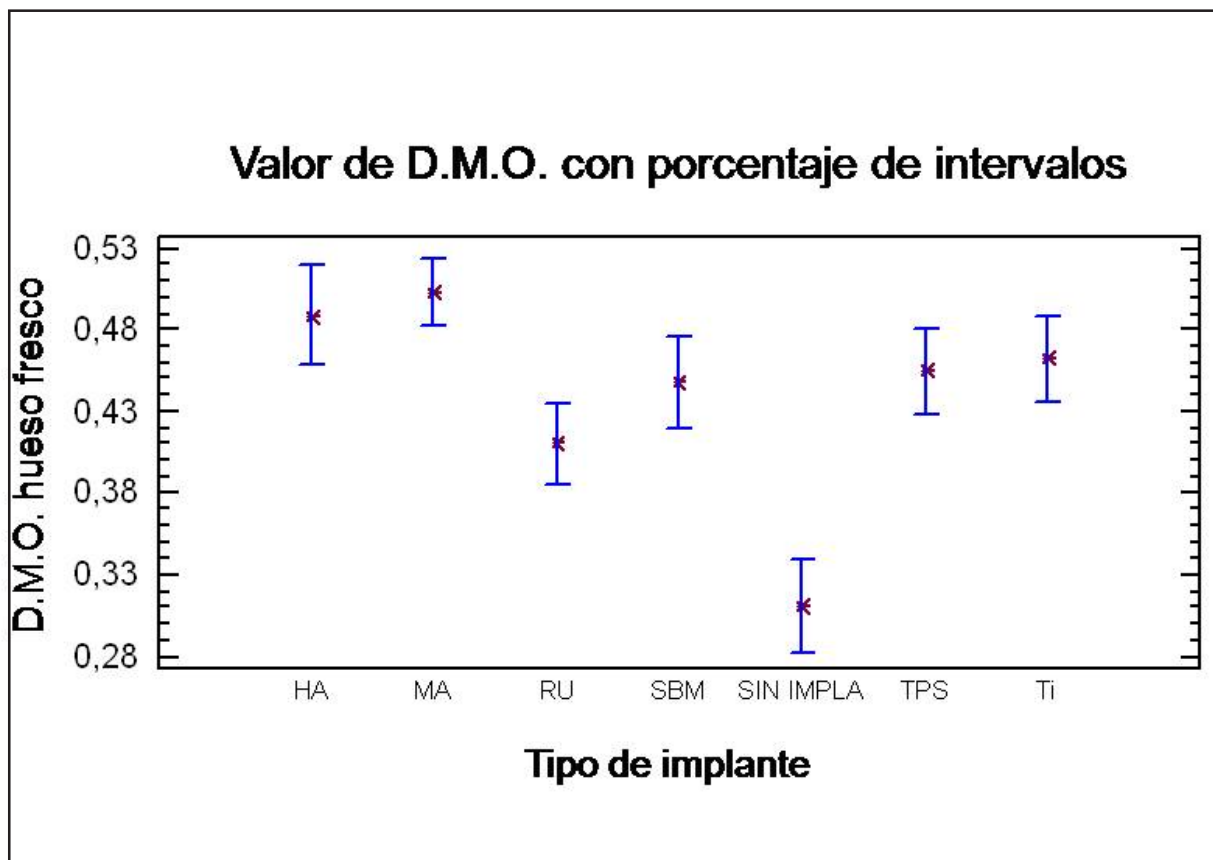


Figura 2. Valor de la DMO. El grupo control presenta menos DMO que el resto de los grupos estudiados

## Bibliografía

1. **Hara T. Hayashi K. Nakashima Y. Kanemuru T. Iwamoto Y.** The effect of hydroxyapatite coating on the bonding of bone titanium implants in the femora of ovariectomized rats. *J. Bone Joint Surg (Br)* 1999; 81-B: 705-709.
2. **Mosekilde L. Thomsen JS. Orhii PS. Kalu DN.** Growth hormone increases vertebral and femoral bone strength in osteopenic, ovariectomized, aged rats in a dose-dependent and site-specific manner. *Bone*. 1998; 23 (4):343-352.
3. **Tresguerres IF. Clemente C. Blanco L. Donado M. Gómez-Pellico L. Alobera MA. Tresguerres JAF.** Local administration of Growth Hormone enhances periosteal and periimplant bone reaction in an osteoporotic rabbit model. An histologic histomorphometric and densitometric study. *Clinical Oral Implants Research*. 2002; 13: 631-636.
4. **S. Aguado, R. Rodríguez and L. Gómez Pellico.** An evaluation of lean body mass in the Spanish population using X-ray absorptiometry (DXA). *International Journal of body composition research* 2006. vol 4, nº 2: 67-74.
5. **Tabuenca Dumorties J.** Capacidad de respuesta del hueso osteoporótico a implantes recubiertos de hidroxiapatita. Estudio histológico y densitométrico en ratas ovariectomizadas. Tesis doctoral. 2004. Alcalá de Henares. Madrid.
6. **Gómez García E.** Efecto del factor de crecimiento fibroblástico ácido (áFGF) en las etapas iniciales de integración de implantes dentales». Tesis doctoral 2003. Alcalá de Henares. Madrid.