

Desarrollo y validación de un modelo preclínico de pérdida temprana de implantes en perro beagle

INFORME DE ESTUDIO PRECLÍNICO

Realizado por	[Nombre, dirección y persona de contacto de la empresa]
Para	[Nombre, dirección y persona de contacto de la empresa cliente]
Código del estudio	[Código]
Versión y fecha	[Versión y fecha]

Muestra de redacción. Informe elaborado por Ana Bodenlle a partir de los datos publicados por Liñares et al.¹ (2022). En un informe real, la portada lleva los datos de la empresa que hace el estudio y de la empresa cliente; aquí se dejan los campos indicados entre corchetes. Tampoco se reproducen las figuras, que pertenecen al estudio original: su lugar se señala con un recuadro **[Figura]** que describe lo que mostraría.

1. Resumen

Se desarrolló un modelo preclínico para estudiar la pérdida temprana de implantes, es decir, la falta de osteointegración en los primeros meses tras su colocación. En 8 perros beagle se colocaron 48 implantes en la mandíbula. En 4 animales (grupo de prueba) se pusieron ligaduras alrededor de la conexión implante-pilar para contaminar el sitio; en los otros 4 (grupo control), no. A las 4 semanas se retiraron todos los implantes y se colocaron en el mismo lecho implantes SLActive® nuevos, sin fresado adicional. Los animales se siguieron durante 8 semanas.

Se perdieron 14 de 24 implantes en el grupo de prueba (58,3 %) y 4 de 23 en el control (17,4 %), casi todos en las 5 primeras semanas. En los defectos de los implantes perdidos, la histología mostró la secuencia de cicatrización desde hueso inmaduro hasta hueso lamelar. En los implantes que se mantuvieron, el contacto hueso-implante (BIC) fue del 73,3 % en el grupo de prueba y del 58,6 % en el control.

2. Objetivo

Desarrollar y validar un modelo preclínico reproducible para estudiar la pérdida temprana de implantes, en el que una infección local impida la osteointegración y provoque el fracaso del implante en los 2 primeros meses.

3. Material y métodos

3.1. Animales y aspectos éticos

Se utilizaron 8 perras beagle sanas de 3 años (Isoquimen, Barcelona). Los animales se alojaron en el Servicio de Experimentación Animal de la Fundación Rof Codina (Lugo), en grupo, en un recinto con zona interior de 15 m², a 18 ± 2 °C, y zona exterior de 20 m², con luz natural y renovación de aire. Se alimentaron con pienso granulado 2 veces al día, en comederos individuales, y tuvieron agua a libre disposición. El alojamiento, el control diario y los procedimientos los realizaron veterinarios y clínicos dentales formados y acreditados en ciencia de animales de laboratorio.

El protocolo fue aprobado (n.º 03/16/LU-001) y el estudio se realizó conforme a la normativa española y europea sobre protección de los animales utilizados con fines científicos (Real Decreto 53/2013² y Directiva 2010/63/UE³), siguiendo las guías ARRIVE.

Tabla 1. Identificación de los animales.

Animal	Grupo	Sexo	Edad	Microchip	Peso inicial
C1	Control	Hembra	3 años	[n.º]	[kg]
C2	Control	Hembra	3 años	[n.º]	[kg]
C3	Control	Hembra	3 años	[n.º]	[kg]
C4	Control	Hembra	3 años	[n.º]	[kg]
P1	Prueba	Hembra	3 años	[n.º]	[kg]
P2	Prueba	Hembra	3 años	[n.º]	[kg]
P3	Prueba	Hembra	3 años	[n.º]	[kg]
P4	Prueba	Hembra	3 años	[n.º]	[kg]

En un informe real se incluyen el número de microchip, la fecha de nacimiento y el peso de cada animal. Aquí se omiten porque el estudio publicado no los recoge.

3.2. Diseño del estudio

Estudio preclínico aleatorizado con 2 grupos en paralelo (4 animales por grupo). Se eligió un diseño en paralelo, y no de boca partida, para evitar que la infección de un lado afectara al otro lado del mismo animal. Por su carácter exploratorio, no se calculó el tamaño muestral.

Cronograma del estudio

- **Fase 1 (día 0).** Extracción de los premolares mandibulares P2-P4 de ambos lados.
- **Fase 2 (a los 3 meses).** Colocación de 48 implantes (3 por hemiarcada) y ligaduras en el grupo de prueba.
- **Fase 3 (a los 3 meses y 4 semanas).** Retirada de todos los implantes y colocación de implantes nuevos en el mismo lecho.
- **Fase 4 (semanas 1-8 tras la fase 3).** Control semanal de la pérdida y la movilidad de los implantes.
- **Fase 5 (semana 8 tras la fase 3).** Eutanasia, obtención de las muestras y procesamiento histológico.

3.3. Procedimientos quirúrgicos

Todas las cirugías se realizaron en quirófano de experimentación animal, en condiciones estériles y con el mismo protocolo anestésico. Los animales se premedicaron con medetomidina (20 µg/kg IM; Domtor, Esteve) y morfina (0,4 mg/kg IM; Morfina Braun 2 %, B. Braun Medical). La anestesia general se indujo con propofol (3-5 mg/kg IV; Propovet, Abbott) y se mantuvo con isoflurano al 2,5-4 % (Isoba-vet, Schering-Plough). Durante la anestesia, un veterinario controló de forma continua el electrocardiograma, la capnografía, la pulsioximetría y la presión arterial no invasiva. Al terminar, se revirtió el efecto de la medetomidina con atipamezol (50

µg/kg IM; Esteve). El dolor posoperatorio se controló con morfina (0,2 mg/kg IM cada 6 h) y meloxicam (0,2 mg/kg IM cada 24 h; Metacam, Boehringer Ingelheim) durante 5 días.

3.3.1. Extracciones dentales

Se extrajeron los premolares mandibulares segundo, tercero y cuarto (P2-P4) de ambos lados. Los dientes se hemiseccionaron y se extrajeron con botadores y fórceps, sin levantar colgajo. Durante la cirugía se administró profilaxis antibiótica con cefazolina (20 mg/kg IV; Kurgan, Normon) y cefovecina (8 mg/kg SC; Convenia, Zoetis).

Figura 1

Figura 1. Hemisección y extracción de los premolares; aspecto de los alvéolos tras la extracción.

3.3.2. Colocación de los implantes y de las ligaduras

Tres meses después de las extracciones, se levantó un colgajo mucoperióstico de espesor total en la zona de los premolares de ambos lados. Se colocaron 48 implantes de superficie mecanizada (2,9 × 10 mm; *Bone Level*, Straumann AG), 3 en cada hemiarcada, y se atornilló a cada uno un tornillo de cicatrización de 5,5 mm de altura. Según la secuencia de aleatorización, en los 4 animales del grupo de prueba se colocaron ligaduras de seda 4-0 alrededor de la conexión implante-pilar; en los 4 del grupo control no se colocaron ligaduras. En ambos grupos, los colgajos se reposicionaron alrededor de los tornillos de cicatrización (cicatrización no sumergida) y se suturaron con sutura reabsorbible (Vicryl, Ethicon).

Figura 2

Figura 2. Colocación de un implante de 2,9 mm con su tornillo de cicatrización y ligadura en la conexión implante-pilar (grupo de prueba).

3.3.3. Sustitución de los implantes

Cuatro semanas después, se retiraron todos los implantes con un kit de explantación. Inmediatamente, sin levantar colgajo y sin fresado ni irrigación, se colocaron en los mismos lechos implantes algo más anchos (SLActive® *Bone Level*, 3,3 × 8 mm; Straumann AG). Así, los implantes del grupo de prueba se colocaron en sitios previamente contaminados y los del grupo control, en sitios no contaminados. Tras esta cirugía se man-

tuvo el control del dolor, pero no se administraron antibióticos ni se hizo control de placa en ninguno de los grupos.

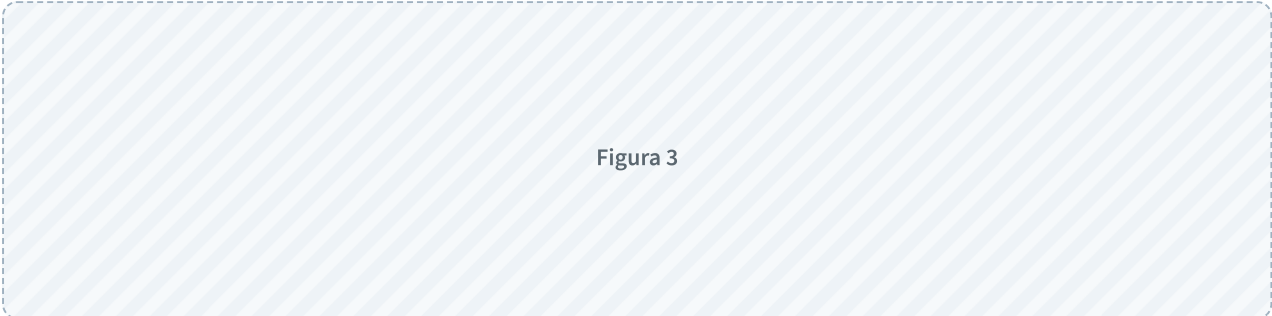


Figura 3

Figura 3. Explantación a las 4 semanas y colocación del implante SLActive®. Comparación del grado de inflamación entre un sitio de prueba y uno control.

3.4. Seguimiento

El estado de salud de los animales se controló a diario. Cada semana se revisaron todos los implantes para detectar movilidad o pérdida, desde la sustitución hasta el final del estudio.

3.5. Obtención y procesamiento de las muestras

A las 8 semanas de la sustitución de los implantes, los animales se sedaron con medetomidina (30 µg/kg IM; Esteve) y se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico por vía intravenosa (40-60 mg/kg; Dolet-hal, Vetoquinol). A continuación se disecaron las mandíbulas y se fijaron en formaldehído tamponado al 10 % a 4 °C durante 2 semanas. De cada hemimandíbula se obtuvieron bloques con los implantes y los tejidos duros y blandos que los rodeaban, así como con las zonas en las que se había perdido un implante.

Los bloques se procesaron sin descalcificar mediante la técnica de corte y desgaste descrita por Donath y Breuner⁴, que permite estudiar el hueso con el implante en su sitio: tras la deshidratación y la inclusión en resina, los bloques se cortan y se desgastan y pulen de forma progresiva hasta obtener una lámina delgada. Se obtuvo un corte central de cada implante y de cada zona de fracaso, de unos 50 µm de grosor, que se tiñó con la técnica de Lévai-Laczkó.

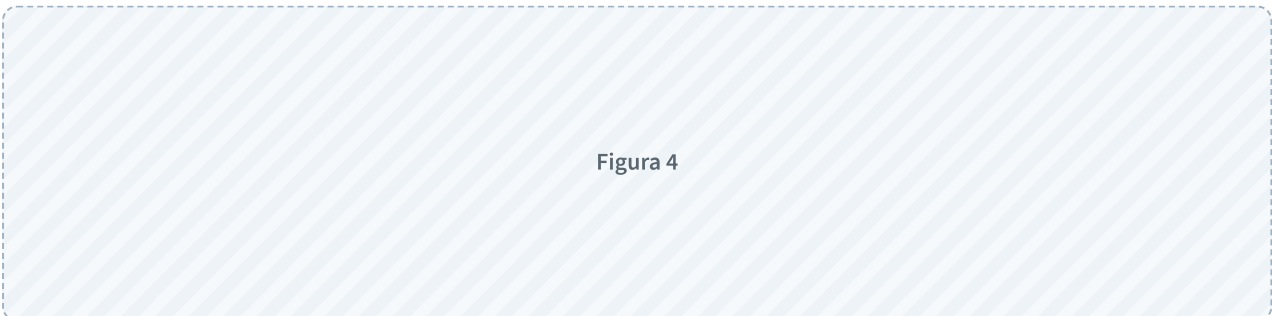


Figura 4

Figura 4. Corte histológico central de un implante, teñido con Lévai-Laczkó, a bajo aumento.

3.6. Análisis histológico e histomorfométrico

3.6.1. Captura de imágenes

Los cortes se examinaron con un microscopio óptico motorizado (BX51, Olympus) conectado a una cámara digital (DP71, Olympus). Las imágenes se capturaron y se analizaron con el software cellSens (Olympus). Se realizó una descripción histológica de los tejidos duros en los defectos de los implantes perdidos y alrededor de los implantes que se mantuvieron.

3.6.2. Distancia entre el hombro del implante y el primer contacto hueso-implante (S-fBIC)

En la cara vestibular se identificaron el hombro del implante y el punto más coronal de contacto directo entre hueso e implante (fBIC). La distancia entre ambos puntos (S-fBIC) se midió en milímetros en cellSens.

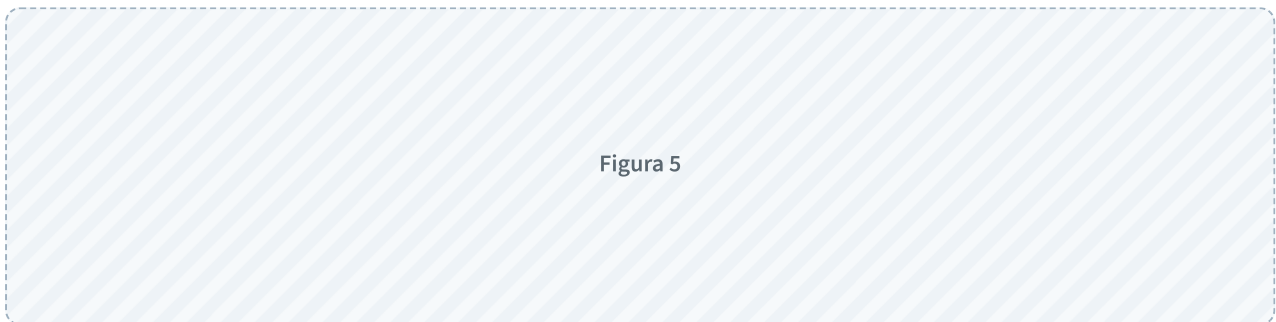


Figura 5. Ejemplo de medición de la distancia S-fBIC en la cara vestibular.

3.6.3. Contacto hueso-implante (BIC)

El BIC se midió en las caras vestibular y lingual de cada implante, dentro de una región de 4 mm de longitud centrada en cada cara, según un método publicado previamente. Se calculó como el porcentaje de la superficie del implante de esa región que está en contacto directo con hueso.

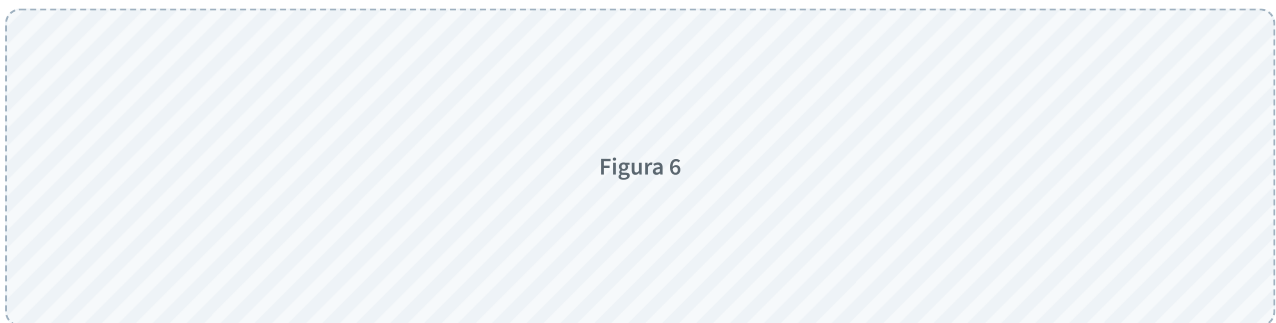


Figura 6. Ejemplo de medición del BIC: región de 4 mm en las caras vestibular y lingual y trazado en cellSens de la superficie del implante en contacto con hueso.

4. Resultados

Los resultados se presentan de forma descriptiva. El análisis estadístico lo realiza el equipo investigador.

4.1. Pérdida temprana de implantes

En el grupo de prueba se perdieron 13 implantes y 1 presentó movilidad, en total **14 de 24 (58,3 %)**. En el grupo control se perdieron **4 de 23 (17,4 %)**. La mayoría de las pérdidas se produjeron en las 5 primeras semanas: 3 de 4 en el grupo control y 13 de 14 en el de prueba.

Tabla 2. Pérdida temprana de implantes por semana (acumulada).

Grupo	Sem. 1	Sem. 2	Sem. 3	Sem. 4	Sem. 5	Sem. 6	Sem. 7	Sem. 8	Total
Control (n = 23)	0	1	1	2	3	3	4	4	4 (17,4 %)
Prueba (n = 24)	2	6	9	11	13	13	13	14*	14 (58,3 %)

* En la semana 8, el implante registrado presentaba movilidad. El estudio publicado analiza 23 implantes en el grupo control, sin indicar el motivo.

4.2. Histología de los defectos de los implantes perdidos

Los defectos se describen según el tiempo transcurrido entre la pérdida del implante y el final del estudio.

En los defectos de **1-2 semanas** se observaron fragmentos de hueso fagocitados por células de tipo osteoclasto, rodeados de **hueso inmaduro** (*woven bone*), más diferenciado en la zona apical. En la zona coronal había abundantes vasos sanguíneos rodeados de fibras de colágeno, con depósito incipiente de calcio en algunas áreas, y algunos restos necróticos, sin linfocitos ni neutrófilos. La encía cubría la zona, con un tejido conectivo de fibras de colágeno finas.

A las **4 semanas**, el defecto estaba cubierto por un tejido conectivo bien desarrollado, rico en haces de colágeno, y relleno de **hueso inmaduro** rico en células y atravesado por vasos, con osteoblastos formando hueso nuevo, salvo en una muestra en la que no se había cerrado. En dos cortes, la cresta vestibular original había sido sustituida por hueso de origen perióstico, con signos de reabsorción osteoclástica, y el hueso lamelar preexistente de alrededor mostraba más porosidad, compatible con remodelación.

A las **5 semanas** persistía **osteóide** alrededor del hueso inmaduro. En algunos casos, la tabla vestibular se había colapsado parcialmente, con menor anchura y actividad osteoclástica en la cresta. En un corte, la zona coronal del defecto no se había rellenado de hueso y presentaba abundantes linfocitos, necrosis central y macrófagos alrededor de focos infecciosos.

A las **6 semanas** apareció **hueso lamelar** alrededor de los vasos sanguíneos, con osteonas nuevas rodeadas de un mayor porcentaje de hueso inmaduro. La remodelación de la mandíbula se reflejaba en el aumento de porosidad de la cortical. La encía estaba bien formada, con un tejido conectivo maduro de fibras de colágeno gruesas e interconectadas.

A las **7 semanas**, la cresta ósea se había remodelado y sustituido por hueso de origen perióstico, con distintos grados de pérdida de anchura. En la zona coronal predominaba el hueso inmaduro y la periferia del defecto se remodelaba con más intensidad en las zonas más dañadas por la infección.

A las **8 semanas**, más del 30 % del defecto estaba sustituido por **hueso lamelar**.

Figura 7

Figura 7. Secuencia de cicatrización ósea en los defectos de los implantes perdidos, de menos a más tiempo desde la pérdida (a-g).

4.3. Histología de los implantes que se mantuvieron

Cuatro implantes presentaban signos graves de infección, 2 en cada grupo. Los implantes cicatrizados estaban rodeados de **hueso lamelar** con osteonas secundarias típicas, de laminillas concéntricas y conducto de Havers central, y con remodelación en la cresta ósea. En el grupo control, el hueso lamelar estaba en estrecho contacto con el implante, con abundantes vasos sanguíneos, y la pérdida de hueso crestal vestibular era limitada. En el grupo de prueba se observó más hueso remodelado y una mayor pérdida de hueso en la cresta vestibular.

Figura 8

Figura 8. Implante del grupo control: vista general y detalle de la interfaz hueso-implante en las caras vestibular y lingual.

Figura 9

Figura 9. Implante del grupo de prueba: vista general y detalle de la interfaz hueso-implante en las caras vestibular y lingual.

4.4. Distancia S-fBIC

Tabla 3. Distancia entre el hombro del implante y el primer contacto hueso-implante en la cara vestibular (media $\pm$ DE).

Grupo	Implantes analizados	S-fBIC (mm)
Control	15	1,4 $\pm$ 0,86
Prueba	8	2,3 $\pm$ 1,42

4.5. Contacto hueso-implante (BIC)

Tabla 4. Contacto hueso-implante (media $\pm$ DE).

Grupo	Implantes analizados	BIC (%)
Control	15	58,64 $\pm$ 11,59
Prueba	8	73,25 $\pm$ 5,28

Los valores de cada implante se recogen en el anexo VII. El estudio publicado solo da las medias por grupo.

5. Referencias

- Liñares A, Verdeja R, Pippenger B, Muñoz F, López-Peña M, Blanco J. Development of a new preclinical model to study early implant loss: a validation study in the beagle dog. *Clin Oral Investig.* 2022;26(11):6805-6815. doi:10.1007/s00784-022-04642-3
- Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. *Boletín Oficial del Estado.* 2013;34:11370-11421.
- Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. *Diario Oficial de la Unión Europea.* 2010;L276:33-79.
- Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol.* 1982;11(4):318-326. doi:10.1111/j.1600-0714.1982.tb00172.x

Anexos

En un informe real, cada anexo recoge las imágenes o los datos de todas las muestras. En esta muestra de redacción no se incluyen: las imágenes pertenecen al estudio original y el artículo no publica los datos de cada implante.

- **Anexo I. Extracciones dentales:** fotografías de la fase 1 en cada animal.
- **Anexo II. Colocación de los implantes y de las ligaduras:** fotografías de la fase 2 en cada animal.
- **Anexo III. Sustitución de los implantes:** fotografías de la explantación y de la colocación de los implantes nuevos (fase 3).
- **Anexo IV. Cortes histológicos:** imágenes de los cortes teñidos de cada implante y de cada zona de fracaso.
- **Anexo V. Medición de la distancia S-fBIC:** imágenes de cada implante con la medición trazada en cellSens.
- **Anexo VI. Medición del BIC:** imágenes de cada implante con el contacto hueso-implante trazado en cellSens en las caras vestibular y lingual.
- **Anexo VII. Tablas completas de resultados:** S-fBIC (mm) y BIC (longitud de contacto en mm y %) de cada implante, identificado por animal, posición y grupo.