



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Estomatología

Secretaría de Investigación y Estudios de posgrado

**MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON OPCIÓN TERMINAL EN
REHABILITACIÓN ORAL.**

TESINA

**“COMPARACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR DE FIBROBLASTOS
GINGIVALES HUMANOS SOBRE DIFERENTES TIPOS DE ZIRCONIA:
REVISIÓN SISTEMÁTICA”.**

PARA OBTENER EL GRADO DE: MAESTRO EN ESTOMATOLOGIA CON OPCIÓN TERMINAL EN
REHABILITACION ORAL

PRESENTA:

AUTOR: C.D. PEDRO ALBERTO ACOSTA SEPÚLVEDA

Matrícula: 219450014

DIRECTOR PROYECTO:

C.D.E.P.B. Enrique Pérez Martínez ID: 100188222

DIRECTOR DISCIPLINARIO:

MTRO. Gerardo Quíroz Petersen ID: 100330044

DIRECTORA METODOLÓGICA:

DC Carolina Sámano Valencia ID: 100526470

DIRECTORA EXTERNA:

DC Maura Cárdenas García ID: 100337388

Puebla, Puebla. ABRIL 2021



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Estomatología

Secretaría de Investigación y Estudios de posgrado

**MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON OPCIÓN TERMINAL EN
REHABILITACIÓN ORAL.**

TESINA

**“COMPARACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR DE FIBROBLASTOS
GINGIVALES HUMANOS SOBRE DIFERENTES TIPOS DE ZIRCONIA:
REVISIÓN SISTEMÁTICA”.**

PARA OBTENER EL GRADO DE: MAESTRO EN ESTOMATOLOGIA CON OPCIÓN TERMINAL EN
REHABILITACION ORAL

PRESENTA:

AUTOR: C.D. PEDRO ALBERTO ACOSTA SEPÚLVEDA

Matrícula: 219450014

DIRECTOR PROYECTO:

C.D.E.P.B. Enrique Pérez Martínez ID: 100188222

DIRECTOR DISCIPLINARIO:

M.E.A.E. Gerardo Quíroz Petersen ID: 100330044

DIRECTORA METODOLÓGICA:

DC Carolina Sámano Valencia ID: 100526470

DIRECTORA EXTERNA:

DC Maura Cárdenas García ID: 100337388

Puebla, Puebla. ABRIL 2021

1. Dictamen de aprobación

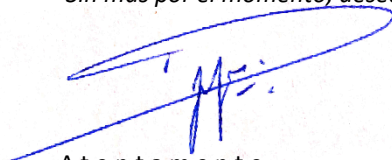


Oficio No. FESIEP/068/2021

C. Pedro Alberto Acosta
Sepúlveda Matrícula:
219450014
Alumno de la Maestría en
Estomatología Con opción Terminal en
Rehabilitación Oral De la Facultad de
Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de
Puebla P R E S E N T E.

*El que suscribe, **MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez**, Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por este medio me permito informar a usted que esta Secretaría **aprueba la impresión de la Tesina titulada "Comparación de la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos sobre diferentes tipos de zirconia: revisión sistemática"**, misma que presentará para realizar su examen profesional y obtener el grado de **Maestro en Estomatología con Opción Terminal en Rehabilitación Oral**.*

Sin más por el momento, deseándole lo mejor, le reitero mi distinguida consideración.


Atentamente

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez
Secretario de Investigación y Estudios de
Posgrado Facultad de Estomatología

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a 21 de mayo de 2021.



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESINA RECEPCIONAL


Para obtener el Grado de: Maestro(a) en Estomatología con opción terminal en Rehabilitación oral
Registro CIFE: 2021027 Fecha: (21/05/2021)

Título de la Tesina (anexarlo impreso y CD) "COMPARACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR DE FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS SOBRE DIFERENTES TIPOS DE ZIRCONIA: REVISIÓN SISTEMÁTICA".

Nombre del alumno: Pedro Alberto Acosta Sepúlveda Matrícula: 219450014
Domicilio: CALLE 14 #1075 COL. CENTRO CD. CUAUHEMOC CHIHUAHUA, MEXICO.
Tel: 6142161096 Fecha de ingreso a la Facultad: ENERO 2019

Firma: 

Director de tesis: Enrique Pérez Martínez Grado académico: Especialista en prótesis bucal
Adscripción: Facultad de Estomatología ID: 100188222 TEL: 2224267628

Firma: 

Director disciplinario: Gerardo Quiroz Petersen Grado académico: Maestro En Prótesis Bucal Adscripción: Facultad de Estomatología ID: 100330044 Tel: 2221828416

Firma: 

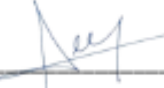
Director metodológico: Carolina Sámano Valencia Grado académico: Doctora en Ciencias
Adscripción: Facultad de Estomatología ID: 100526470 Tel: 4448191822

Firma: 

Director Externo: Maura Cárdenas García Grado académico: Doctora en Ciencias
Adscripción: Facultad de Estomatología ID: 100337388 Tel: 2222600689

Firma: 

Lector: Ana Karina Ley García Grado académico: Maestría en Ciencias Estomatológicas en Integral
Adscripción: Facultad de Estomatología ID: 100215766 Tel: 2224553060

Firma: 

Nombre y firma de aprobación de responsable de la Maestría en Estomatología con Opción terminal en Rehabilitación oral

M.E.I. Guillermo Franco Romero

Firma: 

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología, autoriza la impresión de la Tesis.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez



Fecha: 21/05/2021

Sello

2. Agradecimientos.

A mis padres por su esfuerzo, sacrificio y amor incondicional que me han apoyado a lo largo de mi vida. Ustedes son el pilar en cada logro, con su ejemplo, su rectitud y amor a la vida. Los llevo conmigo en cada uno de mis pasos.

A mis hermanas por su apoyo incondicional en los momentos difíciles, por siempre cuidarme y siempre estar ahí para mí.

Somos un solo barco.

A mis maestros que, a través de sus lecciones, sus consejos y su calidez humana transforman la vida de manera positiva de aquellos que tenemos el honor de pertenecer a este posgrado, a través de tantas experiencias, cálidos momentos y palabras que me acompañaran por siempre.

A Dios, por estar presente en tantos momentos, en tanto amor, en tantas experiencias y atreves de tantas personas.

“No hay nada en el mundo que no sea un libro abierto ante Dios”

Tienen mi eterna gratitud.

3. Índice.

Contenido

“Portada	1
“Portada Falsa.....	3
1. Dictamen de aprobación	3
2. Agradecimientos.....	6
3. Índice.....	7
4. Resumen	9
5. Introducción	10
6. Capítulo I. Marco contextual	12
Ubicación espacio temporal	12
Planteamiento del problema	12
Justificación	12
Objetivo general.....	13
Objetivos específicos	13
7. Capítulo II. Marco Conceptual.....	14
Zirconia en odontología	15
Translucidez del zirconio	16
Zirconia en implantología.....	16
Sellado biológico en dientes	17
Sellado biológico de tejidos blandos en implantes.....	17
Cultivo de fibroblastos.....	18
Citotoxicidad <i>In vitro</i>	20
Evaluación de la citotoxicidad por contacto directo en biomateriales según la ISO 10993-5.....	22
8. Capítulo II. Marco Referencial.....	23
9. Capítulo III .Metodología y Análisis.....	44
Fuentes de información	44
Criterios de búsqueda	44
Criterios de selección.....	45
Resultados de la búsqueda.....	46
Proceso de análisis.....	47

Análisis y evaluación de calidad de los resultados de la búsqueda	47
Diagrama de flujo.....	56
10. Capítulo IV. Discusión y Conclusión.....	58
Conclusión	65
11. Bibliografía	65
12. ANEXO.....	73

4. Resumen

En este trabajo se realizó una revisión sistematizada con la finalidad de brindar un panorama contemporáneo y profundo de la biocompatibilidad y efectos adversos sobre las células que tienen los materiales a base de zirconio, para brindar sustento a rutas clínicas seguras en el manejo de tejidos blandos que están en contacto con estos materiales, enfocándose principalmente al área de la implantología. **Materiales y métodos:** Se realizó una búsqueda de noviembre a enero del año 2020-2021 en 8 diferentes motores de búsqueda conocidos y referenciados en el área de la investigación en odontología y ciencias de la salud (EBSCO, Dental and Oral Sciences Sources, Science Direct, PUBMED, Springer, Wiley, Scopus y accses medicina). Dentro de estos motores se realizó una búsqueda sistemática utilizando en un rango temporal entre los años 2015-2021, los descriptores a la búsqueda en idioma inglés cotejados en Medica Subjets Headings y el buscador booleano “AND” para formar términos de búsqueda los cuales fueron: “Zirconia AND Fibroblast AND Translucency”, “Translucent Zirconia AND Fibroblast”, “Gingival AND Fibroblast AND CAD/CAM AND Zirconia” y “Gingival AND Fibroblast AND Zirconia AND Abutment”. **Resultados:** se obtuvieron 1211 resultados de las búsquedas de los cuales se obtuvieron 31 artículos después la primera revisión que cumplían con los criterios de inclusión, los cuales fueron leídos y analizados, por último, a estos artículos seleccionados fueron sometidos a un instrumento de evaluación de calidad en el que tenían que cumplir con el 80% de los cuestionamientos positivamente para así formar parte de esta revisión. **Conclusión:** Las características propias de los materiales, así como sus características de superficie y algunos tratamientos que se le puedan dar a estos materiales como el proceso de esterilización o bien la modificación de su superficie por medio de radiación UV o algún otro agente, tiene un efecto significativo en el desarrollo y comportamiento de las células que entran en contacto con éstas; se requieren más estudios que comparen la biocompatibilidad de los nuevos materiales a base de zirconio como por ejemplo la zirconio translúcida, y se deduzca que tanto de estos efectos sobre la biocompatibilidad son propios al material o bien, a las características de superficie, para así trazar rutas clínicas más adecuadas.

5. Introducción

El edentulismo parcial o total y sus consecuencias es uno de los principales problemas orales a los que se enfrenta el dentista y especialmente el rehabilitador oral. Las consecuencias del edentulismo pueden afectar gravemente la armonía oclusal desde un punto de vista funcional, la integridad de los órganos dentales remanentes y la estética de los pacientes. Este último factor demanda más opciones de tratamiento para solucionar el edentulismo, opciones cada vez más sujetas a las altas expectativas por parte de los pacientes. (1)

La implantología es una de estas relativamente novedosas herramientas que ayudan al resolver la mayoría de las peticiones de los pacientes. Esta corriente clínica ha sufrido transformaciones con el paso de los años debido a la mejora constante de las tecnologías aplicadas en su fabricación y a inmensidad de estudios que buscan el refinamiento de las técnicas empleadas, así como favorecer la biocompatibilidad de los implantes.(2)

Después de la osteointegración que es un fenómeno ampliamente estudiado desde la década de los sesenta, está el fenómeno de la remodelación de los tejidos blandos que se encuentran en contacto con los elementos protésicos transgingivales permitiendo un correcto sellado de la unión implante-aditamento, deteniendo la migración más apical del epitelio de unión, la reabsorción ósea y limitando la infiltración de bacterias a los tejidos perimplantares. Este elemento conocido como aditamento debe de ser fabricado en base a un material biocompatible, que no solo sea bien recibido por las células de su periferia, sino que también promueva la proliferación, la diferenciación y la unión con estas células. (3) (4)

El dióxido de zirconio (ZrO_2) o zirconia es un compuesto del elemento zirconio que aparece en la naturaleza, se utiliza en odontología principalmente en la fabricación de coronas monolíticas o en núcleos para ser estatificados ya sea sobre implantes u órganos dentales preparados. Destacando por sus características mecánicas, estéticas y buena biocompatibilidad. Recientemente gracias a la tecnología CAD/CAM se ha comenzado a incursionar en el uso de este material para la fabricación de la zona

transmucosa de los aditamentos protésicos mostrando excelentes resultados en su adaptación a los tejidos blandos (5)(6).

La integración por completo de los tejidos blandos y duros perimplantares es la meta por alcanzar cuando se coloca un implante. Estudios comprueban que el sellado periférico por parte de las estructuras gingivales da un mejor pronóstico y un tiempo mayor de vida útil al implante (7). Recientemente se ha introducido el uso de aditamentos personalizados fabricados con zirconia, sin embargo, hoy en día no se cuenta con estudios que comparen los diferentes tipos de zirconio, referentes a la integración que pudiesen tener con las células de los tejidos blandos perimplantares (8).

Es importante determinar las características de los materiales para lograr una adaptación más adecuada de los tejidos blandos en la zona en que el epitelio entra en contacto con el aditamento, puesto que una sana relación implante-aditamento nos ayuda a tener un mejor pronóstico del tratamiento. Actualmente no existen estudios que evalúen a las zirconias modernas con sus diferentes estratos y niveles de translucidez en el aspecto de compatibilidad con tejidos blandos. El empleo de cultivos celulares *in-vitro* y el uso de las tecnologías CAD/CAM facilita la obtención de resultados debido al control que se puede alcanzar sobre las condiciones en las que se desarrollará este estudio.

Por ende, este estudio pretende dar a conocer el panorama más reciente sobre cómo es la interacción de las superficies de zirconia con fibroblastos humanos, evaluando el nivel de viabilidad celular para optimizar lo mejor posible la adaptación, remodelación y unión de los tejidos blandos hacia los componentes implantares. Esto influirá en las decisiones clínicas respecto al proceso de fabricación de aditamentos personalizados de zirconia en pacientes cuyas demandas estéticas así lo requieran.

6. Capítulo I. Marco contextual

Ubicación espacio temporal

La redacción de esta tesina y su respectiva revisión bibliográfica se realizó en la base de datos de la biblioteca electrónica de la BUAP consultando en 8 diferentes motores de búsqueda conocidos y referenciados en el área de la investigación en estomatología y ciencias de la salud (EBSCO, Dental and Oral Sciences Sources, Science Direct, PUBMED, Springer, Wiley, Scopus y Access medicin, así como con asesoramiento y uso de las instalaciones de la FEBUAP, del departamento de Fisiología celular de la FMBUAP.

Entre el mes de agosto 2020 y enero 2021

Planteamiento del problema

La integración por completo de los tejidos blandos y duros perimplantares es la meta por alcanzar cuando se coloca un implante. Estudios comprueban que el sellado periférico por parte de las estructuras gingivales da un mejor pronóstico y un tiempo mayor de vida útil al implante. Recientemente se ha introducido el uso de aditamentos personalizados fabricados con zirconia, sin embargo, es importante conocer el panorama actual con estudios que comparen materiales de última generación, así como los diferentes tipos de traslucidez de zirconio, referentes a la integración que pudiesen tener con las células de los tejidos blandos perimplantares. De esta forma poder determinar la mejor ruta clínica y poder proponer nuevos temas de interés y proyectos de investigación para que sean analizados a profundidad con este propósito.

Justificación

Es importante determinar las características de los materiales para lograr una adaptación más adecuada de los tejidos blandos en la zona en que el epitelio que entra en contacto con el aditamento, puesto que una sana relación implante-aditamento nos ayuda a tener un mejor pronóstico del tratamiento.

Actualmente no es fácil encontrar estudios que evalúen la compatibilidad de tejidos blandos con zirconias modernas con sus diferentes estratos y niveles de traslucidez.

El empleo de cultivos celulares *in-vitro* y el uso de las tecnologías CAD/CAM facilita la obtención de resultados debido al control que se puede alcanzar sobre las condiciones en las que se desarrollan los estudios.

Por ende, este estudio de revisión pretende determinar con base a los materiales modernos las características que la superficie de zirconia que se encuentra en contacto con los tejidos blandos debe tener para optimizar lo mejor posible la adaptación, remodelación y unión de los tejidos blandos hacia los componentes implantares. Esto influirá en las decisiones clínicas respecto al proceso de fabricación de aditamentos personalizados de zirconia en pacientes cuyas demandas estéticas así lo requieran, así como abrir nuevas preguntas para futuras investigaciones respecto al tema.

Objetivo general.

Revisar sistemáticamente la información más reciente que compare la viabilidad celular de fibroblastos gingivales humanos sobre diferentes tipos de zirconia

Objetivos específicos

- Conocer el panorama actual sobre el tipo de traslucidez de zirconio en donde existe mayor adaptación celular de fibroblasto humanos mediante una búsqueda de información en bases de datos EBSCO, Dental and Oral Sciences Sources, Science Direct, PUBMED, Springer, Wiley, Scopus y Access medicin.
- Conocer el panorama actual sobre las características de superficie en aditamentos fabricados en zirconio con las que se propicia mayor adaptación celular de los fibroblastos humanos mediante una búsqueda de información en bases de datos EBSCO, Dental and Oral Sciences Sources, Science Direct, PUBMED, Springer, Wiley, Scopus y Access medicin.
- Determinar a los autores más relevantes sobre el tema mediante el software Gephi 0.9.2
- Fomentar el desarrollo de futuras investigaciones sobre la biocompatibilidad y características de superficie de materiales con los que son fabricados los aditamentos transmucosos mediante la identificación de la información disponible actualmente.

7. Capítulo II. Marco Conceptual.

Un implante dental es un componente quirúrgico que se integra con el hueso de la mandíbula o el maxilar con el fin de soportar un elemento protésico como una corona, un puente, una dentadura, una prótesis facial o actúa como un anclaje quirúrgico u ortodóntico. Un aditamento provee de soporte a la corona, es decir es un interfaz entre la corona y el implante (2).

Uno de los implantes dentales más antiguos fue fabricado con un tipo de cerámica natural llamada nácar, reportado en un cráneo humano encontrado en playa de los muertos, Honduras, en 1931 con 3 fragmentos de concha colocados en los alveolos del cráneo (9).

Uno de los descubrimientos de mayor impacto en el campo de la implantología dental fue el descubrimiento del fenómeno de osteointegración por serendipia del profesor P. I. Branemark de la Universidad de Gothenburgo (Suecia) mientras estudiaba la reología en fémures de conejos vivos. Durante estos estudios, al retirar las cámaras intraóseas observó fragmentos de huesos en la superficie de su implante de titanio, en aquellos días un metal que no se usaba comúnmente en la medicina confirmando así una íntima unión entre el hueso y el titanio (10).

Más tarde el profesor André Schroeder, de la Universidad de Berna (Suiza), empezó a investigar la adaptación tisular con distintos materiales, siendo el primero en reportar el contacto directo de manera histológica con hueso no descalcificado. Unos años más tarde, también informó por primera vez sobre las reacciones de los tejidos blandos a los implantes de titanio (11).

Los implantes dentales son frecuentemente una de las primeras elecciones para la rehabilitación de problemas funcionales, estéticos o anatómicos severos derivados de la pérdida dental. El éxito o el fracaso de la terapia con implantes depende de la salud de la persona que recibe los implantes, de los medicamentos que interfieran con el proceso de osteointegración y del estado de los tejidos orales. La cantidad de carga que reciban los implantes y su aditamento durante la función normal son de vital importancia. Así

como la posición y el número de implantes son también relevantes para el éxito a largo plazo del tratamiento (2).

Un factor importante a considerar es la elección del paciente adecuado, es decir que cuente con las características físicas que lo hagan un candidato a recibir tratamientos con implantes dentales, ya que los implantes dentales están acompañados por estrés físico y mental debido a que el paciente debe de ser sometido a un proceso quirúrgico, el tratamiento requiere de tiempos de cicatrización y osteointegración, se pueden presentar complicaciones y el costo económico es más alto que en otras opciones de tratamiento, lo que convierte a un fracaso en el tratamiento en algo muy duro de sobrellevar para un paciente (12).

Zirconia en odontología

Las restauraciones totalmente cerámicas o “libres de metales” son un pilar actual en los tratamientos protésicos para los odontólogos, por ende el aumento de estudios, ensayos clínicos y el desarrollo de estos sistemas se ha incrementado con el objetivo de mejorar los valores estéticos y de biocompatibilidad de los materiales modernos.(13) uno de estos materiales es el zirconio ($ZrSiO_4$) que es una molécula mineral del grupo de los silicatos descubierta por el químico M.H. Klaproth en el año 1789 en Alemania. Este elemento químico, es un metal duro, blanco grisáceo resistente a la corrosión situado en el grupo 4 de la tabla periódica de número atómico 40 y de un peso atómico de 91,22. Tiene una fuerza flexural de 1600MPa y una resistencia a la fractura de 9MPa mm² siendo superior a cualquier material restaurativo cerámico actual (14). El Dióxido de zirconio es un material polimórfico que se puede encontrar en tres formas: monocíclico, tetragonal y cúbico. Dependiendo de la temperatura ambiente del material esté cambia su forma, es decir, a temperatura ambiente está en estado monocíclico, calentando el material a 1170 grados Celsius se logra alcanzar la fase tetragonal y sobre los 2370 grados de logra la forma cubica. Viéndolo desde una perspectiva biomecánica la estructura tetragonal es la que brinda mejor disposición para las moléculas. Gracias a los aditivos como el Yttrium, el Magnesio y el Cerio es posible alcanzar esta fase a temperatura ambiente. Agregando el 8% de óxido de magnesio desencadena cambios volumétricos durante el enfriamiento (15).

Translucidez del zirconio

La translucidez es una de las más importantes características de los materiales protésicos para alcanzar los valores estéticos deseados, es definida como la relación entre la transmisión de la luz y la difusión de esta a través de un material (16). La translucidez del Dióxido de zirconio es determinada por las impurezas y los defectos estructurales que se reflejan en defectos en la absorción y dispersión de la luz. La translucidez del zirconio también es reducida por la cantidad de alúmina agregada para lograr la estabilización(17). También se ha establecido que el tamaño de la partícula de Dióxido de zirconio tiene un efecto directo sobre la dispersión de la luz solo cuando el tamaño de la partícula es similar con la longitud de onda de la luz, incrementando la temperatura de sinterizado se obtienen una partícula más grande y de mayor densidad, aumentando la translucidez. La porosidad del zirconio afecta en gran nivel la translucidez del material debido a la diferencia entre los índices de refracción entre el aire y el zirconio (16) (18). Existen 2 técnicas principales para teñir el Dióxido de zirconio, la primera consiste en adherir a él Y-TZP óxidos metálicos en polvo antes ser sinterizada a altas temperaturas. La otra técnica se basa en sumergir totalmente las prótesis una vez maquinadas en soluciones clorhídricas de elementos de tierras raras antes de ser sinterizado. Ha sido documentado que estos procesos de coloración afectan el grado de translucidez del zirconio (19).

Zirconia en implantología

El dióxido de zirconio es utilizado actualmente en la fabricación de implantes y aditamentos, la mayoría de los sistemas de implantes actuales constan del uso de implantes y aditamentos para llevar la parte protésica de la restauración. Además de las características antes mencionadas, las superficies de Dióxido de zirconia son duras densas y bioquímicamente inertes con una alta resistencia a agresiones por agentes químicos, lo que lo hace un material que puede ser sometido a varios procesos de superficie para incrementar sus propiedades de biocompatibilidad, siendo una alternativa ideal en la fabricación de implantes (20). Los aditamentos fabricados en zirconia han demostrado tener propiedades biológicas buenas, como una elevada biocompatibilidad, menor adhesión de bacterias y no sufren de efectos como la corrosión y la producción de cargas galvánicas. La zirconia también cuenta con un alto valor de reflexión de la luz

y recientemente niveles diferentes de translucidez, esto soluciona el problema estético creado por los aditamentos de titanio en sectores anteriores de fenotipo delgado donde el color obscuro del aditamento se trasluce a través de los tejidos blandos (21)(22). Gracias a la implementación de la tecnología CAD/CAM es posible la fabricación de aditamentos donde se pueden combinar materiales para la base que está en contacto con el implante y tejidos blandos y otra porción superior destinada a estar en contacto con la restauración final (23).

Sellado biológico en dientes

Los primeros estudios que describen una unión entre el diente y el epitelio fueron descritos durante la primera mitad del siglo pasado, pero esta unión más tarde es definida por Cohen como “espacio biológico” hasta el año 1962. Siendo dentro de este complejo el epitelio de unión quien da esa inserción entre diente y tejido blando. El epitelio de unión está compuesto por epitelio escamoso, estratificado no queratinizado. Está conformado por queratinocitos (capa basal y estrato espinoso) y otras células (no queratinocitos o células claras) como son melanocitos, células de Merckel, linfocitos T y B, macrófagos y Polimorfonucleares. Es más grueso en su zona más coronal (15-20 capas celulares), que, en su zona basal, donde se producen las mitosis. Desde ahí las células migran hacia el surco gingival (el suelo de la hendidura está constituido por los elementos superiores del epitelio de unión). La adherencia epitelial real al diente es efectuada por las hemidesmosomas y la lámina basal interna, que se adhieren a la superficie del diente (esmalte, cemento). La adhesión con el tejido conectivo gingival se realiza por medio de la lámina basal externa (24).

Sellado biológico de tejidos blandos en implantes

Los tejidos peri-implantares deben de proveer una barrera que evite el paso de microorganismos y sus subproductos. El éxito de la terapia con implantes depende de la salud de sus tejidos periféricos. El desarrollo de una buena mucosa peri-implantar depende de varios factores, incluyendo la calidad de los tejidos blandos, la profundidad del implante, el tipo de material que este en contacto y las características de su superficie (4).

La calidad del sellado biológico alcanzado en un implante no es comparable a la que se logra de manera natural en un diente, esto puede ser debido a que el epitelio que se une al implante es no queratinizado sobre la lámina basal y hemidesmosomas. Además, la fibras de colágeno del tejido conectivo perimplantar están en su mayoría distribuidas en forma circular u oblicua con respecto a la superficie del implante conformando una barrera mucho más débil comparada a las fibras de Sharpey dispuestas de manera perpendicular hacia las superficies de los órganos dentales (3).

Cuando la superficie que contacta con el epitelio es de zirconia pasa que el epitelio alrededor del implante tiene hemidesmosomas que al contacto con proteínas actúan como una especie de pegamento para los tejidos. Este epitelio de unión está compuesto de una capa de 3 o 4 células en sentido longitudinal que se extiende 2 mm de manera apical y 1.5 mm sobre la cresta alveolar (25). Ciertas proteínas han sido identificadas debido a su importancia en la adhesión de los tejidos hacia el aditamento como la laminina que conecta la lámina basal a las membranas de la células, la fibronectina que es abundante en el exterior de la lámina basal (26). El gap general entre la mucosa y el implante es de 100 micras pero existen zonas donde este espacio se ve reducido a 15nm llamadas zonas adhesivas focales en las que se encuentran grandes cantidades de actina en el citoplasma adyacente (27). Estos filamentos de actina están indirectamente conectados a la matriz extracelular por medio de proteínas de adhesión transmembranales como las integrinas y proteínas de unión específicas como las vinculinas. La presencia de vinculinas se traduce como una fuerte adhesión de las moléculas hacia el sustrato (28).

Cultivo de fibroblastos

El cultivar células involucra el mantenerlas vivas y proliferarlas en un apropiado medio que mimetice las condiciones naturales. Se le conoce como cultivo primario al primer conjunto de células generalmente heterogenias y con una tasa de crecimiento menor, pero mucho más representativas de los tejidos a representar puesto a que son obtenidos directamente de ellos. Un subcultivo es un nuevo cultivo obtenido mediante un pase celular desde un cultivo primario (29)(30).

Las líneas celulares son aquellas células que pueden ser mantenidas y extenderse a través de pasajes a otros cultivos celulares, estas líneas celulares se pueden clasificar en tres tipos líneas finitas, líneas continuas y líneas de células madre. Las líneas celulares continuas muestran la propiedad de ser subcultivadas indefinidamente, es decir no muestran entrar en una etapa de senectud, estas líneas celulares son derivadas de tumores o de tejidos embrionarios normales. Las líneas celulares de células madre son líneas como las embrionarias y géminalas, estas células son conocidas porque son capaces de diferenciarse en diferentes tipos de células, este tipo de cultivos requieren de cuidados más extensivos en su mantenimiento, su manejo y su preservación para mantener sus características y su capacidad de diferenciación sin alteraciones. Las líneas celulares finitas son células que pueden ser subcultivadas varias veces, pero estas eventualmente perderán su capacidad de replicación y entrarán en un estado de senectud donde también las funciones metabólicas se ven disminuidas. Se han establecido muchas líneas celulares finitas, la mayor parte de estas son líneas celulares diploides de fibroblastos humanos, las cuales son genéticamente estables y permanecen diploides, estas líneas celulares alcanzan la senectud entre 60 y 70 pases celulares (30).

Existen varios tipos de cultivos celulares, los que generalmente se realizan en estudios de materiales son conocidos como cultivos de monocapa, en este tipo de cultivos las células se encuentran en una capa única y continua de células que se encuentran adheridas al sustrato del fondo del recipiente que contiene el cultivo, por ende, existen varios métodos para poder suspender las células y poder contabilizarlas y realizar otro pasaje para realizar otros cultivos. Los cultivos de suspensión son aquellos en donde las células pueden proliferar y crecer suspendidas en el medio de cultivo (30).

Los fibroblastos son células dominantes en el tejido conectivo, es una célula dinámica que cumple con funciones locales y participa en funciones del sistema inmune. Su principal función es la elaboración de colágeno y elastina, también cuenta con la capacidad de fagocitar colágeno y otros componentes de la matriz extracelular en procesos de remodelación. También al producir citoquinas son capaces de promover procesos de destrucción celular y procesos de reabsorción ósea (31).

Los colágenos son las principales proteínas producidas por los fibroblastos, de entre su alrededor de 14 tipos destacan los llamados colágenos clásicos que forman fibrillas, incluyen los tipos de colágeno I, II, III, V y XI. Estos colágenos se caracterizan por su capacidad de reunirse en agregados supramoleculares orientados con una supraestructura característica compuesta de un conjunto de fibrillas escalonadas con diámetros entre 25 y 400 nm. El colágeno de tipo I es el más abundante y mejor documentado a lo largo de la historia. Forma más del 90% de la totalidad de tejido del hueso y es el colágeno principal de otros tejidos importantes como los tendones, la piel, los ligamentos, la córnea y muchos tejidos conectivos intersticiales, con la excepción de muy pocos tejidos como el cartílago hialino, el cerebro y el cuerpo vítreo. La estructura molecular del colágeno tipo uno se basa en triple hélice del colágeno tipo I suele estar formada por un heterotrímero de dos cadenas $\alpha 1(I)$ idénticas y una cadena $\alpha 2(I)$. En la inmensa mayoría de los órganos especialmente en los tendones y las fascias, el colágeno de tipo I proporciona las propiedades físicas de sustento como la rigidez a la tracción, por ejemplo, al tejido óseo concede sus propiedades biomecánicas considerables relativas a la capacidad de carga, la resistencia a la tracción y la rigidez a la torsión, especialmente después de terminado el proceso de calcificación (32).

Los cultivos de fibroblastos humanos se llevan a cabo en condiciones especiales, es decir, el tejido gingival debe de ser extraído de pacientes sanos se colocado inmediatamente en un medio de transporte a 4 grados centígrados. Se maneja en un ambiente estéril, las células se cultivan bajo 4-6% de CO₂ y a una temperatura de 37 grados Celsius. El cultivo se debe de realizar en una solución de suplemento de suero bobino fetal al 10%, 500g/ml de gentamicina (Gibco), 200 IU/ml penicilina -200g/ml streptomycina (Lonza, Verviers, Bélgica) and 25g/ml fungicida (Gibco)(33).

Citotoxicidad *In vitro*

La citotoxicidad *in vitro* es evaluada en los biomateriales para determinar la biocompatibilidad de estos mismos y representa una en un 97% de correlación con los estudios de implantación. Estos se basan en poder documentar la inhibición del crecimiento, daño o muerte celular. Esto puede ser provocado por el material en si, por alguno de sus componentes agregados o por trazas de algún otro material añadido en

su manufactura (34). Existen tres tipos de pruebas de citotoxicidad ~~que son~~ más utilizadas que son las pruebas de citotoxicidad por filtración molecular, método de difusión por agar y ensayo de citotoxicidad por contacto directo con tinción de Tripán azul (34)(35).

En la filtración de molecular la monocapa de células se cultiva primero en un filtro de éster de celulosa y el medio de cultivo original se reemplaza posteriormente con medio que contiene agar. Finalmente, el gel de membrana unicelular se separa y se invierte para exponer la membrana hacia arriba. Después de la exposición a la muestra, se retira el filtro y se mide la actividad metabólica de las células afectadas por la muestra. En el método de difusión por agar se coloca una barrera de agar entre la monocapa celular y los biomateriales a evaluar permitiendo que nutrientes, gases y sustancias tóxicas se puedan difundir y penetrar a través del agar. Este método tiene una alta sensibilidad para extraíbles de bajo peso molecular y solubles en agua (baja sensibilidad y viceversa). Después se evalúa el grado de destrucción de la membrana celular mediante una microscopía electrónica. El método de contacto directo es cuando un biomaterial sólido entra en contacto directo con la capa de células. La evaluación se realiza observando todos los cambios en la morfología y número de las células en el cultivo. La forma más común en análisis de materiales es revisando el conteo de las células en base a una razón de tiempo. Esto se lleva a cabo suspendiendo las células con la ayuda de tripsina-EDTA. La tripsina tiene propiedades proteolíticas, y el EDTA es un quelante con afinidad al calcio. Estos separan los medios de unión conocidos como integrinas que se encuentran en la membrana celular de la capa de proteína adherida que se forma sobre la superficie del recipiente donde está nuestro cultivo suspendiendo las células en el medio de cultivo. Después se lleva la suspensión a una cámara de Neubauer con tinción de tripán azul y se calcula la media de células visibles vivas que son las que se tiñen y se toma como referencia para la citotoxicidad comparándose con un grupo control (34)(35).

Evaluación de la citotoxicidad por contacto directo en biomateriales según la ISO 10993-5

La preparación del material para la evaluación de citotoxicidad consta de varios requerimientos, entre ellos que el biomaterial a evaluar sea sólido y que tenga por lo menos una de sus superficies planas, si no es así se deberán hacer modificaciones para lograr una de superficies cumpla las características. Las muestras de prueba que requieran estar estériles deben de estarlo y este proceso debe de ser llevado a cabo por un método recomendado por el fabricante, así como se deben de manipular asépticamente durante todo el procedimiento. Por otro lado, las muestras de prueba que no requieran estar estériles deben de manipularse de manera aséptica durante las pruebas y pueden ser esterilizadas para así evitar la influencia de microorganismos en las células siempre y cuando los procesos de esterilización no alteren las propiedades del biomaterial. Si se usan muestras de prueba no esterilizables se debe de descartar contaminación bacteriana o de alguna solución empleada dado que estas pueden dar un falso positivo de citotoxicidad. Los cultivos celulares que se someterán a contacto el biomaterial deberán ser cultivados hasta logra confluencia a una temperatura de (37 ± 1) ° C en aire con o sin dióxido de carbono según sea la línea celular. Una vez alcanzado la confluencia esta se debe de verificar junto con la morfología de las células antes de comenzar la prueba. En casos excepcionales como con células primarias o de alta proliferación se pueden sembrar células en el momento de iniciar la prueba. Al iniciar la prueba se debe de eliminar el medio de cultivo y sustituir por nuevo, después se debe de colocar la muestra de biomaterial sobre la monocapa celular en el centro del recipiente. Esta muestra debe de cubrir al menos una décima parte de la superficie de la monocapa celular, aunque es posible usar otras dimensiones con relación a la superficie de la capa si esto se justifica. Esto se debe de hacer de una manera gentil evitando movimientos innecesarios de la muestra ya que esto puede causar daño físico en las células. Se deben de preparar al mismo tiempo que los grupos control y deben ser cultivados bajo las mismas condiciones por un intervalo mínimo de 24 horas. Se debe desechar el medio de cultivo antes de aplicar colorantes para hacer los análisis correspondientes (36).

Los niveles de reactividad celular a biomateriales en contacto directo o por difusión de agar deben ser evaluados mediante la siguiente Tabla.

Tabla 1. Clasificación de la reactividad en cultivos celulares de cuerdo a iso10993-5

Grado	Reactividad	Descripción de la zona de reactividad
0	Ninguna	Zona no detectable debajo o alrededor del espécimen
1	leve	Algunas malformaciones o degeneraciones de las células bajo el espécimen
2	media	Zona limita al área bajo el espécimen
3	moderada	Zona extensa estimada a 1.0cm del espécimen
4	severa	Zona extensa más allá de 1.0cm del espécimen

8. Capítulo II. Marco Referencial.

Yang Yang y cols., en 2015 realizaron un estudio para evaluar la influencia de la radiación con rayos ultravioletas sobre superficies de zirconia pulidas y rugosas. Un total de 60 discos de zirconia que tenían un diámetro de 20mm y 2mm de grosor y fueron obtenidos mediante el uso de una máquina de corte. A la mitad (2 grupos de 15 discos) de especímenes se les dio pulido mediante el uso de papeles de silicón con carburo en una secuencia descendente de tamaño de grano del 150Cw a 600Cw. A la otra mitad de los especímenes con superficie rugosa fueron preparados mediante el uso de abrasión con aire que contenía partículas de óxido de aluminio (AL_2O_3) de 25um a una distancia de 20mm a .2MPa de presión. Después de eso los especímenes fueron irradiados con luz ultravioleta por 24 horas utilizando una lampara bactericida de 10W (Philip, Eindhoven,) con una intensidad calibrada a $17Mw/cm^2$. Los 2 grupos control fueron almacenados en un lugar oscuro y seco. Antes de realizar los cultivos celulares los especímenes fueron lavados por medio de limpieza ultrasónica durante 15min utilizando etanol puro y agua bidestilada, para después ser desinfectados por 30 min con una solución de alcohol al 75%. Los GFH fueron obtenidos de biopsias realizadas durante cirugías periodontales de pacientes sanos. Después de la obtención de las biopsias estas eran lavadas con una

solución de antibióticos y antimicóticos al 3% (Gibco BRL Co.), 3 veces. Después los especímenes fueron trasladados a platos de cultivo de 10cm de diámetro que contenían medio de cultivo Dubelco modificado con medio Eagle y suplementado con suero fetal bovino al 10%. Las células fueron cultivadas a 37C⁰ con humedad atmosférica y con una concentración de dióxido de carbono al 5%. El medio de cultivo era reemplazado cada dos días y las células usadas en el estudio fueron obtenidas de estos cultivos en un rango de 4-7 pasajes únicamente. En este estudio evaluaron la adhesión celular, la proliferación, la morfología, la morfometría y la formación de matrices de los FGH. Como resultado los investigadores reportaron que después de 3 horas de cultivo los FGH se adhirieron por toda la superficie en los 4 grupos presentando una morfología aplanada, pero notaron que en las superficies de control las células se disponían en pequeños procesos celulares, mientras que en las superficies irradiadas las células eran claramente más largas y extendidas lo que representa una diferencia significativa en el área ocupada por las células. También notaron que también pasadas 3 horas de cultivo las células sobre superficies expuestas a rayos ultravioleta presentaban una diferencia significativa y favorable en el nivel de adhesión celular, y esta diferencia no estaba presente entre los grupos con superficie pulida o rugosa. Esta diferencia se incrementó al pasar 48 y 72 horas de manera significativa. Después de 3 y 7 días la cantidad de colágeno en los medios de cultivo fue calculada dando como resultado un aumento significativo de este en las superficies tratadas con radiación UV. Y no existiendo diferencia significativa entre los grupos con diferentes superficies pero sin irradiación UV (37).

Young-Sungkim y cols., en 2015 Evaluaron la relación que existe entre las características de la superficie de aditamentos y el nivel de adhesión que tienen Fibroblastos gingivales humanos sobre estos mediante un estudio *in-vitro*. La metodología del estudio consistió en la elaboración de un total de 152 discos (6mm de diámetro y 1 mm de espesor) los cuales fueron separados en grupos de 22 y fresados en diferentes materiales como Titanio fresado (Ti6Al4V), aleación cromo-cobalto-molibedum, aleación de titanio, composite cubierto de una aleación de titanio y zirconia. De estos 22 discos que componían cada grupo, unos 10 discos se usaron para realizar evaluaciones de topografía de superficie, 3 para mediciones de Angulo de contacto de agua y 9 para

pruebas de fijación de fibroblastos gingivales. Los discos de Zirconio se mecanizaron a partir de bloques de zirconio (Ssangyong Materials, Daegu, Corea) y se pulieron de acuerdo con el fabricante. Posterior a eso se utilizó agua destilada para enjuagar los discos y se secaron durante 24 horas a 50C⁰. Tres especímenes de cada grupo se colocaron en un pocillo de una placa de 24 pocillos con medio de Dulbecco modificado Eagle (DMEM) sin suero. Se utilizaron GFH de la línea HGF-1; ATCC CRL 2014, ATCC, Manassas, VA y el método de fijación utilizado para la prueba fue el método indirecto. Las células fueron llevadas a una concentración de 1.105 por ml y la placa se colocó en una incubadora a 37C⁰c a una concentración de 5% de CO₂ durante 60 min hasta que las células alcanzaran confluencia, después los discos se lavaron 3 veces con solución salina taponada con fosfato para eliminar las células no adheridas. Después las células que estaban adheridas fueron fijadas con formaldehído al 10% a 4⁰C durante 1 hora. Las células adheridas a las muestras se tiñeron con violeta de cresilo al 0,04% en metanol al 20% durante 30 minutos. Unos 200ml de la solución enlutada de cada pozo se transfirieron en una placa de 96 pocillos y la medición colorimétrica de violeta de cresilo se realizó en un DTX880 (BeckmanCoulter, Brea, CA) con una lectura de densidad óptica a 590 nm. Como resultaron se reportó que los grupos Ti6Al4V, de titanio y de zirconia tenían mayor cantidad de células adheridas a su superficie siendo el grupo de zirconia el tercer lugar. Con esto se llegó a la conclusión de la adhesión de los FGH era significativamente afectada por la humectabilidad, especialmente en las superficies que tienen una rugosidad de 0.2um o menos y que tiene diferentes resultados en una rugosidad dentro del rango de 0.2-0.5um, es decir que entre una superficie más pulida es mejor adhesión celular (38).

Vygandas Rutkunas y cols., en el 2015 realizaron un estudio en el que compararon la viabilidad, citotoxicidad, y adhesión de FGH sobre diferentes materiales (titanio Grado 2, Everest_ T-Blank, KaVo, Biberach, Alemania, zirconio Everest Z-Blank, KaVo, aleación cromo-cobalto Ceralloy C, Eukamed, Essen, Alemania, y aleación de oro Ceralloy C, Eukamed, Essen, Alemania,) Y se dividieron en 5 grupos de qué costaban de 5 elementos pulidos según las especificaciones del fabricante y 5 elementos que fueron arenados a una instancia de 1 cm, con una presión de 3 bares, durante 3 segundos utilizando una partícula de óxido de aluminio de 50 micrones. Quedando así 5

especímenes de 5.2mm de diámetro con 2mm de grosor con un procesamiento diferente de superficie por grupo. Para los experimentos con células los especímenes fueron esterilizados en una solución del 96% de etanol seguido por una exposición de radiación ultravioleta por medio de una lámpara durante 15 minutos por ambos lados. Después de esto fueron transferidos a una placa de 96 pocillos en donde se pusieron en contacto directo con una suspensión fibroblastos. Las células fueron incubadas durante 48, 72, 96 y 120 horas. Se mantuvo un grupo de control dentro de los pocillos sin entrar en contacto con ningún material. El efecto los materiales sobre las células se evaluó utilizando el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolio (MTT, Sigma-Aldrich Inc., EE. UU.) en un formato de contacto directo según las especificaciones ISO-10993-5:1999. La toxicidad celular se evaluó mediante un ensayo de MTT que uso como parámetro el resultado obtenido en uno de los grupos de control. Como resultados después de 48hrs. se obtuvo que el material de aleación cromo cobalto y el oro fueron los que tuvieron mayor toxicidad con un porcentaje del 80 y un 86% viabilidad celular respectivamente. Después de 120 horas de cultivo no se encontró diferencia significativa de citotoxicidad entre las muestras de titanio y zirconio, arenado o pulido. Como tampoco se encontró alguna diferencia significativa entre los demás materiales, con excepción de la aleación cromo cobalto (39).

NEVAREZ y cols. en el 2016 realizo un estudio donde evaluó además de la viabilidad celular, la micro dureza y la resistencia a la flexión de alúmina contra zirconia. Los materiales usados fueron mezclas homogéneas compuestas por 78wt%Al₂O₃+20wt%3Y TZP+2wt%Al₂O₃w (AZ) y 80wt%3YTZP+18wt%Al₂O₃+2wt%Al₂O₃w (ZA), así como 3Y-TZP (Z), Al₂O₃ puro (A) y 3Y-TZP monolítico comercial (Zc). Para la realización de los análisis de biocompatibilidad se obtuvieron 9 muestras de cerámica con unas dimensiones de 1,5 ±0,05 mm de longitud y 6,6±0,19 mm de diámetro para cada grupo dando un total de 45 muestras (n=45). Estas muestras fueron esterilizadas por medio de luz ultravioleta durante 5mm. Sobre cada una de las muestras se colocaron células 3T3-L1 que son células embrionarias de ratón similares a fibroblastos. Con esto evaluaron la proliferación evaluando la actividad de una enzima llamada reductasa mediante la transformación del bromuro de 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) en una forma reducida coloreada.

Para que línea celular alcanzara niveles de confluencia fue cultivada en el Medio Águila Modificado (DMEM) de Dulbecco (Gibco, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) complementado con 10% de suero fetal bovino (Gibco) y 100 U/mL de penicilina-estreptomicina en una atmósfera de 95% RH, 5% CO₂ a 37°C. Para la medición de la citotoxicidad se preparó un medio de cultivo siguiendo las especificaciones ISO10993- descritas por ANSI/AAMI/ISO 10993- 5:1999 el cual se colocó en placas estériles de 24 pozos (Nunc-Thermo Fisher Scientific, Roskilde, Dinamarca) donde se introdujeron 1×10⁴ células que se incubaron durante 24 horas. Se colocaron tres muestras por grupo con un período de tiempo en contacto directo con las células y se incubaron durante 24, 48 y 72 h a 37°C. posterior a esta incubación se retiró la tinción y se realizó un ensayo de MTT (Sigma Aldrich), después se midió la absorbancia de la MTT reducida a una longitud de onda de 655 nm en un Bio-Rad 680 (PROMEGA Biotech Ibérica, Madrid, España) lector de microplacas. Célula se utilizaron como control cultivos sin cerámica. Cada uno de los ensayos se realizó 3 veces. Los resultados arrojaron que no existe ningún efecto toxico de la cerámica sobre las células fibroblásticas vivas y no se encontraron diferencias significativas entre ninguna de las cerámicas estudiadas. Sin embargo, se encontraron diferencias en los valores de viabilidad entre los tiempos de inmersión ($p < 0,05$), además de un aumento observado en la proliferación celular a las 24 h y una tendencia decreciente del número de células de fibroblastos a las 48 h excepto en los grupos cerámicos A y Zc. La biocompatibilidad de ZA y AZ fue superior al 115%, superando a las cerámicas puras (A y Z). Sin embargo, todos los grupos cerámicos registraron altos valores de células de viabilidad, superiores al 91,5% excepto para la zirconia (Z) que mostró el más bajo de los valores de viabilidad celular (83,58%). En 72 h de inmersión los valores de viabilidad de la célula estaban alrededor del 100% de los compuestos cerámicos ZA y AZ, eran más bajo para la cerámica pura (A y Z) y comercial zirconio (Zc), entre el 92 y el 93%, aunque esta disminución no fue estadísticamente significativa con respecto a la Tiempo de inmersión de 48 horas. Finalmente, Z y Zc fue el único material que no proporcionó diferencias significativas en la viabilidad de las células en los tres casos estudiados (40).

Pabst y cols., en 2016 realizaron un estudio en el que investigaron la influencia de tres zirconias CAD/CAM para aditamentos sobre implante (Sirona inCoris ZI, Sirona, Bensheim, Alemania; VITA In-Ceram YZ, VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen, Alemania; Ivoclar IPS e.max ZirCAD, Ivoclar Vivadent, Ellwangen, Alemania;) sobre la viabilidad celular, la migración celular y la citotoxicidad en fibroblastos gingivales humanos. Para el estudio se fabricaron discos de un diámetro de 12 mm con 2 mm de grosor realizando primero el fresado de un cilindro desde los bloques originales para este se rebanado posteriormente con las dimensiones deseadas. Los discos de cerámica no fueron pulidos, se procedió a una evaluación visualización 3 por medio de un microscopio (VHX-1000; Keyence, Neu Isenburg, Alemania;) Los discos que presentaban diferente nivel de rugosidad fueron eliminados antes de comenzar el estudio. También se fabricaron unos discos de acrílico elaborados con las mismas dimensiones de grosor y diámetro, así como las mismas características de superficie para ser utilizados como grupo control. Después de ser sinterizados los discos de zirconia fueron desengrasados mediante un proceso de lavado con acetona, ácido fólico y ácido hidrofúorhídrico para después ser esterilizados utilizando un limpiador de plasma de oxígeno. Como resultados todas las zirconias mostraron una diferencia significativa en el nivel de viabilidad celular comparadas con el grupo control sin embargo Sirona inCoris ZI tuvo mayor nivel de habilidad que VITA In-Ceram YZ esto comparado a los 6 días de cultivo (41).

Esfahanizadeh y cols., en 2016 realizaron un estudio donde evaluaban la morfología, la proliferación y la expresión genética de fibroblastos gingivales humanos sobre diferentes superficies de aditamentos, el estudio consistió en el cultivo de fibroblastos gingivales humanos sobre 45 discos de diferentes materiales (Laser-Lok, titanio, y zirconia). Estos discos fueron elaborados con diámetro de 9 mm y un grosor de 1 mm y a su vez divididos en 3 grupos de 15 discos cada uno para de esta manera ser evaluados en la morfología, el rango de proliferación y la expresión de IL-10, TNF α , fibronectina y en la expresión de genes propios de los fibroblastos gingivales humanos utilizando microscopia electrónica un ensayo de MTT y un ensayo de PCR en tiempo real respectivamente (5 discos por ensayo). Los fibroblastos gingivales humanos correspondían a la línea celular (NCBI C165), estas células fueron llevadas a confluencia hasta lograr un total de 5×10^3 células en 0.1 ml. Posteriormente esto fue colocado en medio de cultivo encubado a 37°C. El

ensayo de proliferación celular directa fue realizado de acuerdo con la ISO 10993-5. Después de 3 días de su incubación el medio de cultivo fue eliminado y se agregaron 500ul de solución para MTT en cada pocillo. Gracias al resultado que se obtuvo de la evaluación de la morfología celular por medio de microscopio electrónico se reveló que en los grupos de titanio había adición celular en todos los discos mediante la presencia de células elongadas con procesos parecidos a pseudópodos, lo cual no estuvo presente en los grupos de zirconio. A lo que respecta a la viabilidad celular y proliferación los investigadores encontraron que existía diferencia significativa entre Laser-Lok y los otros materiales, pero no existía esta diferencia entre los grupos de titanio y zirconio. Los resultados de los ensayos demostraron que si existía diferencia significativa en la expresión de IL-10, fibronectina y gen de integrina entre los grupos de Laser-Lok y titanio, y entre los grupos de zirconio y titanio. También demostraron que existía una diferencia significativa de factor de necrosis tumoral (TNF α) entre los grupos de titanio y zirconio y entre los grupos de Laser-Lok y titanio (42).

Grenade y cols., en el 2016 realizaron un estudio donde comparaban la adhesión, proliferación y diseminación de fibroblastos gingivales humanos sobre titanio grado V (Procera, Nobel Biocare, Göteborg, Suiza), Yitium de zirconio (Procera, Nobel Biocare), disilicato de litio (IPS e.max Press, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) y una red de polímero infiltrado con cerámica (PICN). Para esto se fabricaron 34 discos de 13.5 mm de diámetro por grupo. Los discos fueron limpiados ultrasónicamente con etanol al 80%, y después esterilizados mediante exposición a radiación ultravioleta por 30 minutos en cada cara. Los especímenes fueron obtenidos mediante biopsias tomadas de pacientes que fueron sometidos a cirugía maxilofacial. Para evaluar la viabilidad celular en los diferentes materiales se realizaron test de viabilidad directamente sobre los discos a las 24,48 y 72 horas. Se tomó como parámetro de 100% de viabilidad al índice de crecimiento obtenido en el grupo control de fibroblastos gingivales humanos en contacto directo con el poliestireno de los discos. Tras 72 h, el PICN y el Disilicato mostraron resultados comparables, con un alto porcentaje de células viables (78,01 y 75,4%, respectivamente), al igual que Ti y Zi (93,4 y 90,5%, respectivamente), mientras que PTFE mostró un aumento de la viabilidad significativamente menor que todos los demás materiales (30,33%). El Ti y el Zi mostraron un aumento de la viabilidad

significativamente mayor que el PICN y el Disilicato. En cuanto esparcimiento las células todos los materiales mostraron un incremento lineal entre las 24 y 48 horas seguido de un crecimiento significativo entre las 48 y 72 horas. El zirconio mostró un esparcimiento celular similar al de silicato mientras que el titanio mostró un mayor nivel de esparcimiento celular que el Disilicato. El grupo control exhibió un nivel significativamente menor de esparcimiento celular comparado con los otros materiales (43).

Okabe y cols., en el 2016 realizó un estudio donde evaluó las propiedades de adhesión de los materiales de zirconia con células epiteliales, comparándolas con propiedades del titanio y la alúmina. Se cultivaron células epiteliales orales humanas en muestras de superficie lisa de titanio comercialmente puro (cpTi), nanocompuesto de zirconio/alúmina estabilizada con ceria (P-NANOZR), zirconio estabilizado con itria (Cercon) y óxido de alúmina (inCoris AL). La morfología celular, la viabilidad de las células y el ARNm de la integrina $\beta 4$, la laminina 2, la catenina $\delta 2$ y la cadherina E se evaluaron mediante SEM, Cell Counting Kit-8 y PCR en tiempo real, respectivamente. Para muestras fueron fabricados 20 discos de 15 mm de diámetro por 1 mm de grosor para cada grupo. Los discos de zirconio fueron sinterizados a 1500° centígrados durante dos horas y después de eso fueron pulidos con instrumentos de pulido que contenían partículas de diamante alrededor de 9, 3, y 0.06 micrones. Todos los especímenes fueron limpiados de manera ultrasónica durante 10 minutos en acetona, alcohol etílico y agua destilada como para después ser esterilizados en autoclave durante 20 minutos a una temperatura de 126° centígrados bajo dos atmósferas de presión. Los resultados revelaron que todos los especímenes mostraron una viabilidad celular significativamente baja comparado con el fondo de poliestireno a las 2 y a las 24 horas de cultivo. No existió diferencia significativa a lo que respecta a la viabilidad celular después de 2 horas de cultivo, pero después de 24 horas de cultivo, la viabilidad celular fue significativamente mayor en las muestras de zirconia y Disilicato de litio comparadas con las de titanio. A las 24 horas de incubación la expresión de mRNA de integrina $\beta 4$ and laminina $\gamma 2$ no fue diferente entre las muestras del grupo control de poliestireno. La presencia de mRNA para Catenina $\delta 2$ fue significativamente mayor en el zirconio y en el nano- composite (44).

Mehl y cols., en el 2016 realizaron un estudio en donde probaban las propiedades de adhesión de fibroblastos gingivales sobre 3 diferentes materiales para la fabricación de aditamentos, así como de dentina humana y cemento de resina. Para grupos de silicato de litio, zirconia y titanio fueron facturados 24 Cilindros de 10 mm de profundidad por 10 mm de grosor y 1 mm de altura. Para las muestras de cemento de resina fueron fabricadas mediante la impresión y replica de los especímenes de titanio. Dentro de los grupos los discos fueron separados según las características de superficie rugosa, maquinada y pulida. Como resultado se observó que existía diferencia estadísticamente significativa entre las superficies pulidas y rugosas dentro del mismo material, y no se observó diferencia significativa cuando se trataba superficies máquinas. A lo que respecta a las pruebas de fuerza de una célula, es decir, de adhesión celular no se encontró diferencia significativa en la edición de células entre superficie rugosa y maquinada con excepción cuando se trataba de zirconia que tuvo mucha mejor respuesta que la dentina humana. Se encontró que las superficies pulidas dentina humana muestran la mayor intensidad adhesión de las células, seguidas por el titanio. El cemento de resina y la zirconia que no tuvieron diferencias significativas entre ellos, pero si hubo una diferencia significativa entre las superficies pulidas de titanio y si miento de resina con el silicato de litio (45).

Altmann y cols., en el 2017 realizaron un estudio dónde se evaluó la adhesión de fibroblastos sobre una superficie lisa de zirconio estabilizado con ceria e itria. Se determinó la expresión de 90 genes relevantes para el tema a nivel de transcripción de ARNm mediante la tecnología "PCR Array" en tiempo real tras periodos de crecimiento de 1 y 7 días. El día 1, se expresaron claramente más genes, aunque no de forma significativa, en los fibroblastos de Ce-TZP e Y-TZP, que en el día 7. Entre estos genes, varios biomarcadores asociados a la MEC, a saber, COL6A2, COL8A1, COL16A1, LAMA1 y LAMA2 (laminina), VCAN (versicán) y TGFBI, se expresaron hasta 2,7 veces menos en el Ce-TZP en el día 1 que en el control Y-TZP (46).

Grenade y cols., en el 2017 Realizaron otro estudio similar al anterior donde valoraron la proliferación, la adhesión, y la difusión de queratinocitos gingivales humanos sobre PICN, titanio (Ti) de grado V, itrio-zirconia (Zi), vitrocerámica de Disilicato de litio (eM) y

politetrafluoroetileno como grupo control. Para este estudio se utilizaron 34 muestras en forma de disco de 13000 metros de diámetro por 1 mm de grosor para los grupos de titanio y zirconia y 40 muestras de las mismas dimensiones para los grupos de Disilicato de litio y PICN. Todos los procedimientos de manipulación sobre las células fueron elaborados en un ambiente estéril con una saturación de dióxido de carbono del 5% y una temperatura de 37° centígrados, las muestras de tejido gingival fueron tomadas de pacientes sanos que fueron sometidos a algún procedimiento de cirugía oral o maxilofacial. Las células fueron expuesta directamente a los discos de material y evaluadas a las 24,48 y 72 horas. Las muestras a base de titanio zirconio mostraron mejores resultados a lo que viabilidad celular, número y esparcimiento de células se refiere, el silicato de litio fue el que mostró peores resultados. No se encontró algunas sustancias secundarias como monómeros en las muestras de PICN, además este material mostró resultados similares a los del Disilicato litio (47).

Fischer y cols., en 2017 compararon la adhesión de fibroblastos humanos en diferentes niveles de pulido utilizando marcas comerciales. Para esto realizaron la fabricación discos de 95 mm de diámetro por 15 mm de grosor en zirconio monolítica (ZirkonZahn, Gais, Italia). Los cuales dividieron en 4 grupos con diferente nivel de pulido, el primer grupo el cual fue arenado para ser utilizado como grupo control, el segundo grupo que fue pulido con grano grueso, el tercer grupo que fue pulido con grano grueso y medio, y el tercer grupo que fue pulido con grano grueso, medio y fino subsecuentemente, todo esto siguiendo las instrucciones del fabricante el sistema de pulido (shofu Dental Corp., Kyoto, Japón) Los resultados arrojaron que en la superficie más suave había más proliferación de fibroblastos esto hablando a largo plazo debido a que presento mayor nivel de integración de 24 a 48 horas las cuales son cruciales para el futuro éxito clínico del implante (48).

De Luca y cols., en 2018 realizaron un estudio en el que evaluaron la biocompatibilidad de silicato de litio reforzado con zirconia (Suprinity; Vita Zahnfabrik, Alemania) comparándola con la biocompatibilidad de zirconio tetragonal policristalino estabilizado con itrio (ProtMatMateriaisAvançados, SP, Brasil) en diferentes niveles de pulido de superficie. Para esto se fabricaron 72 muestras con unas dimensiones de 14 mm de

diámetro por 2 mm de espesor quedando separadas en 4 grupos repartidos en 18 Y-TZP; 18 ZLS cristalizado; 18 ZLS pulido antes y después de la cristalización; 18 ZLS pulido después de la cristalización. La proliferación celular fue definida por un solo evaluador que contó las células teñidas y las no teñidas utilizando microscopía de etapa inversa (Nikon Eclipse TS100, Nueva York, EE. UU.). Los precipitados celulares se suspendieron en 1 ml de P B S a para después ser dispensados en una cantidad de 10ul en un tubo de ensayo al que se le agregó la misma cantidad de tripán azul (Sigma, EE. UU.) se transfirieron 10µl de esta nueva solución a una cámara de Neubauer (Boeco, Hamburgo, Alemania) para hacer el recuento de células en un microscopio de etapa inversa. Los resultados arrojaron que en el caso del Disilicato de litio reforzado con zirconio, ya sea pulido o no, la viabilidad a las 48 y 72 horas del recubrimiento fue significativamente mayor que a las 24 horas. A las 48 horas, el disilicato de litio reforzado con zirconio cristalizado y el policristalino de zirconio tetragonal estabilizado con itria no mostraron diferencias en los resultados de viabilidad con respecto a las otras superficies. En la superficie policristalina de Zirconio tetragonal estabilizado con itria, la viabilidad después de 72 horas no difería significativamente de la observada en tiempos anteriores (49).

Ting Sun y cols., en el 2018 realizaron un estudio donde evaluaron la biocompatibilidad las superficies de zirconio infiltradas como un nano-Cristal/zirconio modificando superficie de la zirconia tetragonal estabilizada por itrio, para esto se hizo la fabricación de unos discos de 1.5cm de ancho por 1.5cm de alto y por 0.2 cm de grueso de acuerdo a la ISO 13356. Tanto como las muestras de zirconia sin modificar y decir como la modificada con estas nanopartículas de vidrio fueron sometidas a pruebas de viabilidad celular a las 2, 24, 48,72 horas de exposición a las células. Como resultado se observó un significativo de desgaste metabólico, estrés oxidativo y en adhesión celular en las células a las 72 horas pero no hubo diferencia significativa entre ambos grupos (50).

Sampatanukul y cols., en el 2018 llevaron a cabo un estudio clínico en dónde por medio de estudios histológicos se determinaba el comportamiento de los tejidos alrededor del implante en contacto con aditamentos de 3 diferentes materiales: titanio, zirconia y aleación de oro, a lo largo de 3 semanas de tratamiento. Se colocaron implantes en 15

espacios para después de 8 semanas ser tomada una biopsia del tejido alrededor del implante. Después se evaluó el nivel de adhesión de los tejidos blandos al implante mediante un índice de puntuación gingival que se dividía en 4 estadios (0 De rosa pálido a rosa, 1 Ligeramente más rojizo o rojo azulado, 2 Rojo o azul rojizo, 3 Marcadamente rojo o rojizo-azulado), una puntuación de estadio quirúrgico (1 No hay desprendimiento, tejido firme, 2 Algún desprendimiento-tejido firme, 3 Desprendimiento completo-tejido suelto) y por medio de una evaluación histológica de las muestras. Según los resultados los grupos de zirconio y titanio demostraron los mismos resultados hablando de índice gingival mientras que en este mismo rubro la rehabilitación de oro recibió un 1. Los resultados revelados en la puntuación de estadio quirúrgico revelaron que la zirconia muestra mejores resultados que la aleación de oro en un 40% de los casos. A lo que refiere los estudios histológicos, se observó que el titanio y la zirconia presentaron porcentajes similares de adhesión. También se notó que la aleación de oro presenta dos veces más inflamación que cualquiera de los otros dos grupos (51).

Dal Piva y cols., en el 2018 realizaron un estudio donde se evaluó la morfología, formación de biofilm, y la viabilidad de fibroblastos gingivales humanos que están en contacto directo con dos cerámicas monolíticas que presentan diferentes características, pulido o esmaltado en su superficie. Para estos usaron 92 bloques de 4.5 x 34.5 x 31.5 milímetros usando zirconia de alta traslucidez parcialmente estabilizada por itrio (YZHT; Vita Zahnfabrik, Bad, Saßkingen, Alemania; número de lote 48980) y disilicato de litio reforzado con zirconio (ZLS Vita Suprinity (ZLS; Vita Zahnfabrik; número de lote 49142). Los discos de zirconia comerciales fueron cortados con un disco de diamante en una máquina cortadora (Isomet 1000, Precision Sectioning Saw, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) bajo refrigeración constante. Se obtuvieron 92 ejemplares de cada material, los cuales fueron lijados para estandarizar sus dimensiones en una pulidora automática (EcoMet/ AutoMet250, Buehler) utilizando lijas de grano decreciente hasta #1200 (30 segundos por grano), y bajo refrigeración por agua. Después de limpiarlos en un baño de ultrasonido con alcohol isopropílico (5 minutos), los especímenes fueron sinterizados en sus hornos específicos. La mitad de los bloques recibieron una fina capa de esmalte Vita Akzent Spray HT (Vita Zahnfabrik; número de lote E33820) en su lado de trabajo. La otra mitad se sometió al protocolo de pulido en dos etapas sugerido por el fabricante para

ambas cerámicas monolíticas (VITA Suprinity Polishing Set clínico; número de lote E6510). Los resultados del ensayo MTT indicaron que las células FMM-1 en contacto temprano con la cerámica (24 horas) o con una exposición más prolongada (7 días) no causaron suficiente daño para caracterizarlas como materiales citotóxicos, salvo en los grupos pulidos, que presentaron una viabilidad celular inferior al 50% después de 24 horas, caracterizándolas así con una citotoxicidad grave, según la Organización Internacional de Normalización 10993-5 (52).

Rizo-Gorrita y cols., en 2018 realizaron un estudio que compara la superficie, la proliferación celular, y la morfología celular entre el Y-TZP (Vita YZ® T [Vita Zahnfabrik (Postfach, Alemania)]) y ZLS (Dúo Celtra® [Degudent (Hanau-Wolfgang, Alemania)]).

se fresaron muestras en forma de disco (tamaño 10mm de diámetro por 2 mm de grosor). Se realizó el procedimiento de sinterización de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los discos se limpiaron por inmersión con un sistema hasta alcanzar la limpieza absoluta utilizando etanol y esterilizado con exposición a los rayos UV para 30 minutos por cada lado dentro de la estación de trabajo de flujo laminar, finalmente fueron colocados en una placa de Petri estéril, de esta manera se preparó para realizar el experimento. Los fibroblastos gingivales humanos (HGF, Lonza, Basilea, Suiza) fueron cultivados en frascos T75 dentro de una incubadora con un medio 5% de CO₂, 95% de aire a 37 C. Se utilizó el preparado Medio de Águila Modificado de Dulbecco (DMEM, Biowest, Nuaille, Francia) como medio de cultivo, suplementado con 10% de suero bovino fetal (FBS, Biowest) y 1% de penicilina-estreptomicina de glutamina (Biowest, Nuaille, Francia) por cada 500 ml de medio de cultivo. El medio se cambiaba cada 48 h y las células se subcultivaban regularmente al llegar a 80% de confluencia usando la solución salina amortiguadora de fosfatos sin calcio y magnesio de Dulbecco (DPBS, Lonza, Basilea, Suiza) y un 0,25% de tripsina calentada a 37 (Biowest, Nuaille, Francia). Se verificó la adhesión inicial y la propagación celular entre los pasajes. Las células fueron sembradas en los discos del tercer pasaje y nunca llegó al décimo pasaje, como indica el fabricante. Las muestras de ambos materiales fueron pegadas en su base a una placa de Petri estéril. Los HGF se cultivaron en las discos a una concentración previamente calculada de 1×10^3 células en 40ml de medio de cultivo por disco. Después de varias horas, la adhesión celular inicial fue comprobada en la superficie del disco con

un microscopio de contraste de fase invertida CKX41SF2 (Olympus, Shinjuku-ku, Tokio, Japón). Posteriormente, la placa de Petri se llenó con medio de cultivo hasta el nivel de la superficie de los discos con una pipeta. Las células se incubaron durante 24 horas antes de la tinción inmuno-histoquímica. Los resultados de este estudio sugieren que los HGF cultivados en Y-TZP tienen una mayor proliferación celular, y difusión que los cultivados en ZLS, lo que se traduce en una mayor afinidad por la superficie de Y-TZP. La mejor respuesta celular en el Y-TZP podría atribuirse a una mayor una topografía de superficie homogénea y menos áspera (53).

Thoma y cols. en 2018 evaluaron la respuesta clínica, la respuesta histológica temprana, microbiológica y radiográfica en pacientes que recibían o bien una corona de silicato de litio cementada directamente sobre un aditamento personalizado de zirconia, o recibían una corona del silicato de litio atornillada directamente sobre un aditamento barnizado de zirconia con un seguimiento de 6 meses, en 33 pacientes. Como punto de comparación para los estudios radiográficos se usó el diente colateral. Posterior 6 meses a la colocación se realizó una biopsia en el área palatina oh lingual las cual se extendía 2 mm hacia el tejido cristalizado y 2 mm a lo largo del surco del implante. Los resultados demostraron que el número de células inflamatorias fue mayor los tejidos alrededor de los implantes que recibieron restauraciones cementadas, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Estudio radiográficos revelaron que la diferencia de pérdida ósea en ambos grupos fue muy similar a los niveles óseos marginales medios cambiando sólo mínimamente, midiendo 0,31 y 0,32 mm en el grupo cementado y 0,47 y 0,36 mm en el grupo Atornillado , respectivamente (54).

Thoma y cols., también en 2018 hicieron un estudio clínico en que participaron 44 pacientes los cuales tenían un espacio edéntulo único anterior. Se asignaron al azar para recibir restauraciones basadas en zirconio elaboradas con CAD/CAM retenidas con cemento con revestimiento submucoso (CR-P), retenido con cemento sin revestimiento submucoso (CR-W), retenido con tornillo con revestimiento submucoso (SR-P) y retenido con tornillo sin revestimiento submucoso (SR-W). Los parámetros clínicos se evaluaron en la línea de base (después de la inserción de la corona), a los 6 y 12 meses. Se

realizaron análisis histológicos y microbiológicos a los 6 meses. La evaluación clínica reveló, en general, tejidos blandos periimplantarios estables con diferencias mínimas para todos los parámetros medidos entre los cuatro grupos, excepto por la hemorragia al sondeo, ya que los dos grupos cementados mostraron valores más altos a los 12 meses ($35,0\% \pm 26,5\%$ para CR-W y $25,0\% \pm 38,8\%$ para CR-P frente a $13,1 \pm 14,8$ para SR-W y $13,0 \pm 18,2$ para SR-P). La histología descriptiva y semicuantitativa mostró una tendencia a una mayor reacción inflamatoria en los dos cementados (un número medio a alto de células inflamatorias) en comparación con los grupos atornillados (bajo número de células inflamatorias) a los 6 meses. El enchapado submucoso de los pilares de zirconio no afectó negativamente a la salud de los tejidos periimplantarios. Sin embargo, los grupos cementados sí mostraron una tendencia clínica e histológica a mayores niveles de inflamación (55).

Atalay y cols., en 2018 evaluaron el posible mecanismo de toxicidad/apoptótica y genotoxicidad celular de las nanopartículas de ZrO_2 . El estudio se diseñó para investigar su citotoxicidad, el daño oxidativo y la apoptosis en las células de fibroblastos de ratones L929 expuestas a nanopartículas de ZrO_2 . L929 fibroblastos de ratón fueron cultivadas utilizando un medio constituido por Roswell Park Memorial Institute que contiene 10% de suero fetal bovino, 1% de antibióticos (100 μg / ml de penicilina y 100 μg / ml de estreptomycin) y piruvato de sodio. Las células se incubaron en 37 °C con % 5 CO_2 . Este medio de cultivo fue cambiado cada 4 días hasta lograr confluencia. Se determinó que las nanopartículas de ZrO_2 causaron estadísticamente importantes efectos apoptóticos tempranos y tardíos y efectos necróticos en una forma dependiente de la dosis por parte del análisis de citometría de flujo. Entre los parámetros estudiados en el análisis de citometría de flujo, existe una fuerte correlación positiva que sugería que las nanopartículas de ZrO_2 tenían un efecto apoptótico en los fibroblastos. Por ende, en este estudio se concluyó que las nanopartículas de ZrO_2 tienen efectos apoptóticos y genotóxicos en las células fibroblásticas de mamíferos L929. Para detectar la apoptosis, se utilizó el kit de detección de apoptosis Annexin V-FITC con PI. El kit se basa en la observación de la translocación de la fosfatidilserina de la membrana desde la cara interna de la membrana plasmática a la superficie de la célula. En los análisis de citometría de flujo se contaron las células apoptóticas tardías, las células apoptóticas

tempranas, las células vivas y las células necróticas. Las células fueron lavadas 2 veces con PBS frío y resuspendidas con 1 x Binding Buffer. 100 μ l de esta mezcla preparada se transfirió a tubos de cultivo de 5 ml. 5 μ l FITC Anexo V y 5 μ l PI se añadieron a cada tubo y se mezclaron y los tubos se dejaron en la oscuridad durante 15 minutos. 400 μ l 1 x Se añadió 1 x Binding Buffer a todos los tubos y leer en un dispositivo de citometría de flujo. Se determinó que las nanopartículas de ZrO₂ causaron estadísticamente importantes efectos apoptóticos tempranos y tardíos y efectos necróticos en una forma dependiente de la dosis por parte del análisis de citometría de flujo. Entre los parámetros estudiados en el análisis de citometría de flujo, hay era una fuerte correlación positiva que sugería que las nanopartículas de ZrO₂ tenían un efecto apoptótico en los fibroblastos (56).

Rizzo – Gorrita y cols., en 2019 Realizaron un estudio con 4 diferentes materiales CAD/CAM ((VITA CAD-Temp (polimetilmetacrilato, PMMA), Celtra Duo (cerámica de silicato de litio reforzada con zirconio, ZLS), IPS e.max CAD (disilicato de litio disilicato de litio (LS2)), y VITA YZ (policristal de zirconio tetragonal de itrio, Y-TZP)) Para ver el efecto que tenían sobre la citotoxicidad y la secreción de colágeno tipo 1 en fibroblastos gingivales humanos. Para la prueba se utilizaron un total de 160 discos 10 mm de diámetro por 2 mm de espesor que fueron obtenidos a partir de bloques comerciales. Los ensayos de citotoxicidad fueron hechos a las 24, 48, y 72 horas. La presencia de colágeno tipo 1 fue evaluada por medio de una prueba Elisa a las 24 y 72 horas. A las 24 horas del estudio se reveló que el silicato de litio tenía la mayor biocompatibilidad y el PMMA la peor, quedando la zirconia en un valor intermedio, este resultado se repitió a las 48 horas, pero en general todos habían subido su nivel de biocompatibilidad, al cumplir 72 horas todos los materiales mostraron un alto nivel de biocompatibilidad con una diferencia estadísticamente no significativa. A las 72 horas del estudio todos los grupos mostraron decrementos considerables en la secreción de colágeno tipo 1 comparado con el resultado obtenido después de las primeras 24 horas del estudio (57).

Gehrke y cols., en el 2019 Realizaron un estudio en el que evaluaban el efecto que tenía un protocolo de lavado ultrasónico sobre diferentes superficies máquinas de titanio y zirconio. Un total de 64 discos con un diámetro de 10 mm y 1.7 mm de espesor fueron

maquinados BEGO Implant Systems GmbH & Co. KG, Bremen, Alemania) A base de titanio grado 4 y zirconia estabilizada con itria, fueron asignados 4 grupos 16 discos cada uno los cuales se separaron en zirconia maquinada, zirconia pulida, titanio maquinado, y titanio pulido. Estos grupos fueron divididos en dos y la mitad de ellos fueron lavados 3 veces dentro de una tina ultrasónica a una temperatura de 30° centígrados durante 5 minutos. El primer proceso limpiado fue hecho con una solución antibacterial (FINEVO 01, Sirius Ceramics, Frankfurt, Alemania), el segundo con una solución que contenía 80% de alcohol etílico, y el tercer proceso fue hecho con agua pura de grado médico (agua destilada). La otra parte los grupos fue únicamente limpiada por medio de vapor. Los resultados mostraron una diferencia estadísticamente significativa de viabilidad celular en los discos de zirconia pulidos y ultrasónica mente limpiados. En tanto a los otros grupos no se observó diferencia estadísticamente significativa entre ellos (58).

Pandoleon y cols. en el 2019 Realizaron un estudio en el que investigaron los efectos biológicos la zirconia estabilizada con itria comparada con otros materiales con los que se fabrica aditamentos para implantes como el silicato de litio y la aleación de titanio, así como los efectos de la zirconia sobre la viabilidad proliferación y adhesión de fibroblastos gingivales humanos. Se utilizaron los siguientes materiales: 1. zirconio estabilizado con itrio; Zr (IPS e-max ZirCAD, Ivoclar-Vivadent AG, Lichtenstein). 2. cerámica de disilicato de litio; LS2 (IPS e-max CAD, Ivoclar-Vivadent AG, Lichtenstein). 3. aleación de titanio; Ti (Ti 6AL4V- ELI Titanium Alloy for implants, grade V, Zapp MedicalAlloys GmbH). Las muestras de óxido de zirconio se dividieron en los siguientes grupos experimentales en función del tipo de tratamiento: 1. no se aplicó ningún procedimiento de envejecimiento (Zr0), 2. se realizó el envejecimiento durante 5 h (Zr5), 3. se realizó el envejecimiento durante 10 h (Zr10). Se fabricaron 189 discos de zirconia, 63 discos de silicato de litio y 63 discos de titanio con unas dimensiones de 8 mm de diámetro por 2 mm de grosor dando un cálculo estimado de 1.5 cm² de área total por disco. Sí realizaron pruebas de citotoxicidad directa sobre algunas muestras las cuales fueron colocadas en placas de 48 pasillos a las cuales se les sembraron fibroblastos gingivales humanos hasta alcanzar una densidad de 10⁴ células por pocillo. Posterior a eso se realizaron pruebas de MTT. Los resultados arrojaron que se detectó una diferencia menor pero estadísticamente significativa de incremento en el metabolismo celular los fibroblastos gingivales humanos

que crecieron en contacto directo con titanio después de las 72 horas con paradas con los grupos control. Los resultados mostraron una diferencia estadísticamente significativa de reducción del metabolismo los fibroblastos gingivales humanos en contacto directo con la zirconia envejecida. No se encontró diferencias significativas entre los grupos de titanio de silicato de litio y zirconia que no sufrieron algún proceso de envejecimiento a lo que él metabolismo celular refiere (59).

Gali y cols., en 2019 Realizaron un estudio en donde evaluaron la compatibilidad De un vidrio de mica reforzado con zirconio con la ayuda de cultivos de fibroblastos gingivales humanos de la línea G20Z. Las muestras vidrio modificado con zirconia fueron lavadas mediante un baño ultrasónico y esterilizadas mediante un auto clavo seguido de otra utilización por medio de radiación ultravioleta. Las muestras esterilizadas fueron empapadas en una solución de etanol al 70% y después lavadas en un buffer de fosfato salino. Después de eso las células fueron sembradas en una densidad de 3000 a 5000 células por ml en una placa de 24 pocillos. Las muestras sembradas se sometieron a una prueba de viabilidad celular utilizando el ensayo MTT (3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliobromuro, Sigma Aldrich). Los resultados arrojaron niveles altos de biocompatibilidad y de esparcimiento celular a través de toda la muestra con la presencia de puentes entre células y una aceptable proliferación (60).

Yang y col esta vez en el 2020 realizaron un estudio en el cual a través de un método de modificación de la superficie por medio de películas de polidopamina lograron inmovilizar los péptidos por los cuales las células obtiene la adhesión a la superficie. Se compararon las respuestas de fibroblastos gingivales humanos mediante la evaluación del acoplamiento del péptido la célula hacia la película de PDA a través de espectroscopia LT foto electrones de rayos X y microscopia de fluorescencia. Dando como resultado que este aumento en la biocompatibilidad obtenido por la modificación de la superficie por medio las películas de PDA aumentó significativamente las actividades biológicas de los fibroblastos gingivales humanos (61).

Branco y cols., en el 2020 realizaron un estudio comparativo de la biocompatibilidad de zirconia para la fabricación de aditamentos por medio de tecnologías manufactura aditiva (AM), es decir impresos mediante tecnología de impresión 3D y zirconia obtenida a través

de tecnologías de manufactura sustractiva (SM). El polvo de zirconio estabilizado con itria (3% mol) Zpex de Tosoh se utilizó para producir la pasta para fabricar las muestras de AM. Además, el uso jarabe de maíz orgánico (La Finestra Sul Cielo), la de fructosaEPR Ph. Eur. (Labkem) y Zusoplast C92 (Zschimmer andSchwarz) que se utilizaron como plastificantes y estabilizadores, y Dolapix CE 64 (Zschimmer and Schwarz) como dispersante. En el caso de las muestras de SM, se utilizaron bloques de zirconio estabilizado con itria (3% mol), Ice Zirkon Translucent de Zirkonzahn. Las células se cultivaron en DMEM complementado con un 10% de suero de ternera, 2,5 g/ml de anfotericina B, 1ml de piruvato sódico, 2 ml de l-glutamina, 100 U/mL de penicilina y 0,1 mg/mL de estreptomicina. Las células se cultivaron de forma rutinaria en frascos de cultivo de 25 cm³ y se mantuvieron a 37°C en una atmósfera humidificada de 5% de CO₂. Se fabricaron dos especímenes de cada material que aproximadamente 64mm³ de volumen los cuales fueron expuestos durante 12 horas a radiación ultravioleta para reducir el riesgo de contaminación biológica después de este proceso fueron incubados aproximadamente 2 ml medio de cultivo con células en confluencia durante 1 y 7 días a 37° centígrados, a la humedad de la atmósfera y con una concentración de dióxido de carbono del 5%. Pasadas 24 horas de cultivo se realizaron estudios de MTT para evaluar la toxicidad del material. No se encontramos diferencias significativas en la cantidad de proliferación los fibroblastos entre los dos grupos, tampoco se mostraron índices de citotoxicidad de acuerdo con la ISO 10993-5 en ninguno de los grupos. No se alcanzaron en ninguno de los dos materiales niveles por debajo del 70% de viabilidad de los fibroblastos, esta viabilidad tuvo un decrecimiento parecido en ambos materiales del día 1 al día 7 de incubación. También se encontraron morfologías elongadas y muy similares de las células adheridas en ambos materiales (62).

Rohr y cols., en el 2020 realizaron un estudio en el cual investigaban la influencia que tenía la superficie y la estructura cristalina de la zirconia sobre la biocompatibilidad de fibroblastos gingivales humanos. Se fabricaron discos de 13 mm de diámetro por un grosor de 2 mm a los cuales se les caracterizaron sus superficies y alguno de ellos fueron llevados a una temperatura de sinterizado por encima de los 1250° centígrados. Las superficies que se eligieron para la elaboración del estudio fueron: Zirconia pulidas [Zp],

pulidas y tratadas térmicamente [Zpt], mecanizadas (sinterizadas) [Zm], tratadas térmicamente [Zmt] o la estructura aplicada clínicamente para la parte endoscópica [Z14], que es arenada, grabada y tratada térmicamente. Para evaluar el efecto de la superficie de zirconia sobre los fibroblastos gingivales, se realizó un ensayo de viabilidad celular WST-1 (reactivo de proliferación celular WST-1, Sigma Aldrich) después de 24 h. Los resultados arrojaron la viabilidad celular fue significativamente mayor en las superficies lisas, así como que las células presentaron una morfología más regular sobre estas superficies, no se encontró diferencias significativas viabilidad celular entre los discos que fueron tratados térmicamente y los que no fueron sometidos a este proceso (63).

Borie y cols., en el 2020 realizaron un estudio clínico aleatorio controlado en el que colocaron 90 implantes Straumann Bone-level A los cuales a su vez les colocaron aditamentos tras mucosos fabricados con diferentes materiales para después ser tomada una biopsia a las 8 semanas posteriores de la colocación, estos materiales fueron titanio (Ti), polimetilmetacrilato (PMMA), polietereetercetona (PEEK), zirconio (Zi), cromo-cobalto (Co-Cr) y disilicato de litio (LD) en un modelo humano. Además, se probaron pilares de Zi con tres rugosidades superficiales diferentes (Maquinada, ultra pulida y rugosa.) Este estudio solo reporto resultados preliminares de los aditamentos de titanio (64).

Shahramian y cols., en el 2020 realizaron un estudio en qué colocaron 23 postes en deónticos de zirconia colocados como implantes a través de explantes de tejido gingival de origen porcino, un total de 31 muestras de cultivos tisulares fueron evaluadas en este estudio. Los cultivos tisulares fueron incubados a una temperatura de 37° centígrados con una concentración del 5% de dióxido de carbono por 14 días dichos especímenes fueron analizados por medio de tinción inmunohistoquímica que identifica la cadena de laminina (Ln) 2 específica para Ln-332, que se conoce que es una molécula determinante para la idónea fijación del epitelio a el área del diente-implante .Cada poste endodóntico se cortó por la mitad usando una sierra quirúrgica para obtener materiales implantables con una longitud de 9 mm y diámetros de $1,90\pm 0,02$ mm (n=23). Posterior a esto, los implantes se limpiaron en baños ultrasónicos de acetona y etanol a lo largo de 5 min cada uno. Se hicieron 2 conjuntos experimentales, de zirconio revestido con TiO₂

derivado del sol-gel, y de zirconio no revestido como control. Como resultado no se detectó tinción de laminina 2 en el contacto del epitelio con la zirconia no recubierta en el día 7. Las observaciones del día 14 de cultivo revelaron una firme incorporación del epitelio y del tejido conectivo a las áreas revestidas del implante. La laminina 2 estaba presente en las células más internas de ambos tercios apicales del epitelio adherido al implante. Tras 2 semanas de cultivo con implantes no recubiertos, el tejido se desprendió del área del implante al recortar las secciones. Se detectaron ciertos aspectos de tinción positiva débil de laminina 2 en las células epiteliales que se habían adherido al implante. Tanto en los implantes de zirconia revestidos como en los no revestidos, el epitelio no demostró migración apical entre el explante y el área del implante, lo cual posibilita la maduración de la unión del tejido conectivo (65).

Serichetaphongse y cols., en 2020 realizaron un estudio en donde evaluaban la respuesta inflamatoria de los tejidos alrededor de los implantes en respuesta a aditamentos elaborados con distintos materiales. Para elaborar este estudio se colocaron 20 implantes en 17 pacientes. A estos implantes se les colocaron aditamentos compuestos de diferentes materiales tales como titanio, zirconia, aleación de oro y una base de titanio los cuales fueron distribuidos de manera aleatoria el mismo día de la cirugía. Después de 8 semanas de cicatrización todos los aditamentos fueron removidos con un 1 mm de tejido periimplantario suave intencionalmente para ser sometido a análisis inmunológicos de ensayos de estreptavidina-biotina marcada para identificar células T, células B, macrófagos, células plasmáticas e infiltración microvascular. Los pilares de titanio, de base de titanio y de zirconio mostraron perfiles de infiltración comparables; los pilares de aleación de oro mostraron la mayor infiltración de células B, células T y macrófagos. Ninguno de los materiales de los pilares provocó una inflamación clínica.(66)

Da Rocha y cols., en 2021 realizaron un estudio para observar el efecto físico-químico de titanio y zirconio, materiales con los que son fabricados los implantes expuestos al envejecimiento. Se elaboraron discos de estos materiales con dimensiones de 8 mm de diámetro y 2 mm de grosor, un total de 72 especímenes de titanio y 72 especímenes de óxido de zirconio fueron divididos en 4 grupos que fueron Ti no envejecido (TNA) (n=36), Ti envejecido (TA) (n=36), ZrO₂ no envejecido (ZNA) (n=36) y ZrO₂ envejecido (ZA)

(n=36). Para simular el envejecimiento natural por LTD, los discos experimentales se sometieron a un termo ciclo en una autoclave (Bench-top autoclaves-25; Phoenix Lufanco) a 134 C y 0,2 MPa de presión a lo largo de 20 horas. Para limitar aún más las condiciones orales los especímenes fueron colocados en placas de 24 pasillos y sumergidos en 500ul de saliva no estimulada recolectada de pacientes sanos a 37° centígrados durante 60 minutos. Para evaluar la viabilidad celular se realizó el cultivo de fibroblastos gingivales humanos directo sobre los grupos de estudio. Como resultado se obtuvo que los fibroblastos lograron confluencia en ambos materiales Y después de 48 horas de incubación la viabilidad celular de los fibroblastos fue muy similar en los grupos envejecidos artificialmente y los grupos que no fueron envejecidos (67).

9. Capítulo III. Metodología y Análisis.

Fuentes de información

Se realizó una búsqueda en noviembre del año 2020 en 8 diferentes motores de búsqueda conocidos y referenciados en el área de la investigación en estomatología y ciencias de la salud (EBSCO, Dental and Oral Sciences Sources, Science Direct, PUBMED, Springer, Wiley, Scopus y Accses medicina.

Criterios de búsqueda

Dentro de estos motores se la realizo una búsqueda sistemática utilizando en un rango temporal del año 2015-2020, los descriptores a la búsqueda en ingles Medica "Subjets Headings" y el buscador bolear "AND" los cuáles f fueron: "Zirconia AND Fibroblast AND Translucency" y "Translucent Zirconia AND" "Gingival AND Fibroblast AND CADCAM AND Zirconia" y "Gingival AND Fibroblast AND Zirconia AND Abutment" (Tabla 2). Dando un total de 1211.

Criterios de selección

Criterios de inclusión: artículos que describiera la viabilidad celular sobre zirconia, artículos en inglés, material bibliográfico indexado.

Criterios de exclusión: Bibliografía que fueran en otro idioma que no fuera inglés, artículos en donde el estudio de viabilidad celular no fuera en pleno contacto con la superficie de zirconia.

Eliminación: Material Bibliográfico que no hicieran pruebas de biocompatibilidad sobre zirconio, material bibliográfico que no hablaran de pruebas celulares sobre zirconio y artículos que se hubieran encontrado como resultado antes en otra base de datos.

Tabla 2. Reporte de resultados de las búsquedas

Base de datos	Fecha de búsqueda	Términos de búsqueda	No. De resultados
EBSCO	15/11/2020	Zirconia AND Fibroblast AND Translucency	1
Dental and Oral Sciences Sources	15/11/2020	Zirconia AND Fibroblast AND Translucency	1
Science Direct	15/11/2020	Zirconia AND Fibroblast AND Translucency	44
PUBMED	17/11/2020	Zirconia AND Fibroblast AND Translucency	1
Springer	16/11/2020	Zirconia AND Fibroblast AND Translucency	15
Wiley	17/11/2020	Zirconia AND Fibroblast AND Translucency	41
Scopus	17/11/2020	Zirconia AND Fibroblast AND Translucency	1
acsses medicina	17/11/2020	Zirconia AND Fibroblast AND Translucency	0
EBSCO	17/11/2020	Translucent Zirconia AND Fibroblast	513
Dental and Oral Sciences Sources	17/11/2020	Translucent Zirconia AND Fibroblast	148
Science Direct	17/11/2020	Translucent Zirconia AND Fibroblast	44
PUBMED	17/11/2020	Translucent Zirconia AND Fibroblast	1
Springer	17/11/2020	Translucent Zirconia AND Fibroblast	15
Wiley	17/11/2020	Translucent Zirconia AND Fibroblast	41
Scopus	17/11/2020	Translucent Zirconia AND Fibroblast	0
acsses medicina	17/11/2020	Translucent Zirconia AND Fibroblast	0
EBSCO	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND CADCAM AND Zirconia	33
Dental and Oral Sciences Sources	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND CADCAM AND Zirconia	7

Science Direct	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND CADCAM AND Zirconia	2
PUBMED	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND CADCAM AND Zirconia	5
Springer	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND CADCAM AND Zirconia	0
Wiley	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND CADCAM AND Zirconia	6
Scopus	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND CADCAM AND Zirconia	16
acsses medicina	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND CADCAM AND Zirconia	0
EBSCO	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND Zirconia AND Abutment	29
Dental and Oral Sciences Sources	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND Zirconia AND Abutment	13
Science Direct	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND Zirconia AND Abutment	77
PUBMED	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND Zirconia AND Abutment	25
Springer	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND Zirconia AND Abutment	34
Wiley	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND Zirconia AND Abutment	73
Scopus	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND Zirconia AND Abutment	25
acsses medicina	02/01/2021	Gingival AND Fibroblast AND Zirconia AND Abutment	0

Resultados de la búsqueda

La búsqueda arrojó un total de 1211 referencias de las cuales se identificaron 38 en total, de los cuales fueron excluidos 7, dejando un número de 31 artículos que cumplían con los criterios de selección los cuales fueron evaluado a través de un proceso de análisis minucioso y de un instrumento de calidad de información (Tabla 3) para así formar parte de este trabajo de revisión.

Proceso de análisis

Todos los títulos y resúmenes del material encontrado fueron analizados y seleccionados de acuerdo con los criterios de selección. Solo se incluyeron artículos en inglés y que fueran del año 2015 a la fecha de la búsqueda. Aquellos estudios que parecían cumplir dentro al análisis de su resumen y título se los descargo para su posterior lectura y análisis completo. Los Artículos incluidos fueron ensayos clínicos aleatorizados, *in-vivo* e *in-vitro*.

Análisis y evaluación de calidad de los resultados de la búsqueda

Los 31 resultados obtenido de los filtros de selección llegaron a la última evaluación a través de un instrumento elaborado por el autor de este documento, el cual fue evaluado y aceptado para su aplicación por el comité directivo responsable de esta tesina. El documento consta de 77 aspectos referentes a la estructura y redacción de los artículos. Este instrumento de evaluación fue elaborado basado en estrategia PICO y PRISMA para la evaluación y depuramiento de las partes de los artículos seleccionados, tales como título, palabras clave, resumen, introducción, objetivos, metodología, resultado, conclusiones y referencias de cada artículo asignando una letra "S" si se cumplían con el elemento y una letra "N" si esto no era así. Se estipuló por el autor que aquellos artículos que no cumplieran con el 80% de estos elementos serian excluidos de la evaluación por este motivo. Ningún artículo tuvo un incumplimiento de estos elementos menor al 80% por ende ningún artículo fue excluido por este motivo. Tabla 3

Tabla 3. Resumen de porcentaje resultado de la aplicación del instrumento de calidad de artículos (Anexo1)

Artículos	Porcentaje
1	90.91
2	90.91
3	90.91
4	89.62
5	89.62
6	92.21
7	90.91
8	90.91
9	90.91
10	90.91
11	90.91
12	89.62
13	89.62
14	90.91
15	89.62
16	90.91
17	89.62
18	90.91
19	90.91
20	89.62
21	89.62
22	88.32
23	89.62
24	92.21
25	89.62
26	90.91
27	92.21
28	92.21
29	90.91
30	90.91
31	93.51

Para indagar más en los autores que son más relevantes en el tema, se realizó un análisis de las referencias de los 31 artículos que fueron seleccionados para componer el marco referencial de este manuscrito. En este análisis se utilizó software especializado (Excel, Microsoft 365 y Gephi 0.9.2) con el fin de elaborar tablas y esquemas que

explique la relación entre los títulos seleccionados y sus 10 principales referencias. El procedimiento y los datos obtenidos son explicados a continuación.

El primer paso fue realizar una búsqueda de los 31 artículos seleccionados en el buscador de la plataforma Scopus apoyándose del sistema de búsqueda avanzada pues como se muestra en el Capítulo IV Metodología. Los diferentes algoritmos de búsqueda arrojaban resultados diferentes dependiendo de la plataforma en los que eran introducidos, por ende, se realizó la búsqueda por este método con el fin de lograr localizar en esta sola plataforma la totalidad de los 31 artículos incluidos en esta revisión. Una vez concluida la búsqueda se realizó una lista dentro de la plataforma del buscador Scopus para de esta manera obtener un archivo “.csv” En donde se encontrarán los atributos de Título de cada artículo y sus referencias. Posterior a eso utilizando la plataforma “Tabla 2 Net” poder transformar el archivo .csv En un documento .gephi bipartito en donde se les atribuyera a los nodulos del eje “x” los metadatos correspondientes a los títulos de los 31 artículos seleccionados y a los nodulos del eje “Y” los atributos correspondientes a cada una de las referencias de dichos artículos. Una vez con este documento .gephi elaborado se procedió a su gestión dentro del software “Gephi 0.9.2” para la elaboración de esquemas. (Imagen 1)

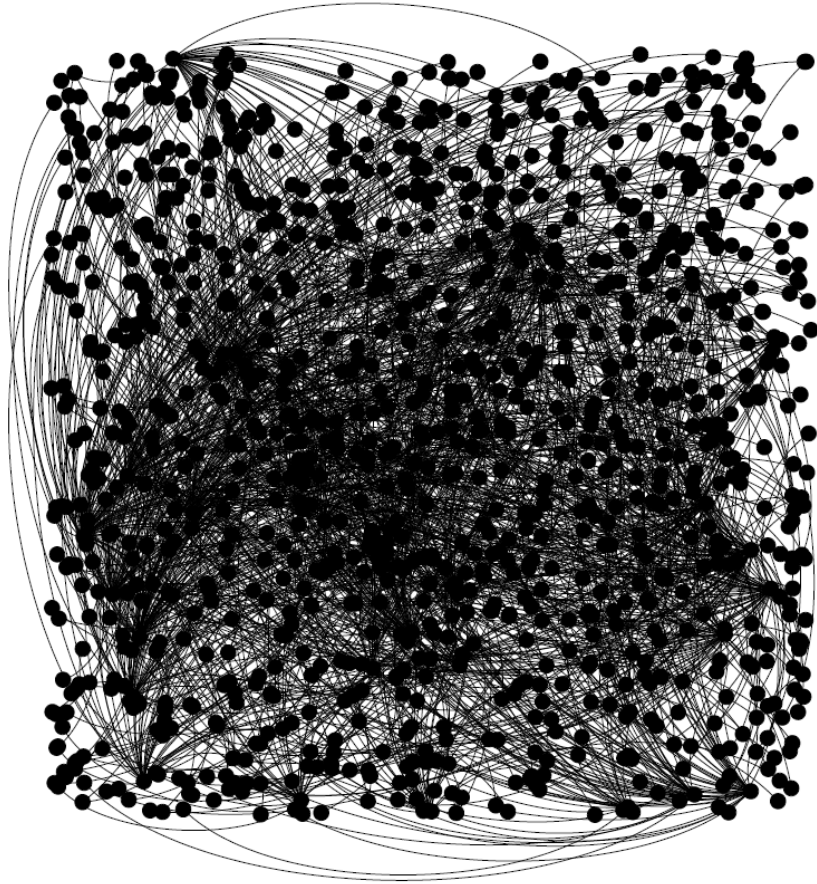


Imagen1. En esta imagen se muestra la totalidad de los nódulos que representan todos los títulos y referencias sin establecer varianzas para su mejor interpretación.

Para que la fidelidad de estos esquemas el primer paso dentro de este software fue la revisión de las tablas dentro del laboratorio de datos. En las que se revisó uno por uno la totalidad de los nódulos además se agruparon y sumaron la cantidad de recurrencias para así no se grafiquen. También de esta manera obtenido el resultado donde se muestra los 10 principales autores citados en los artículos de esta búsqueda y la cantidad de recurrencias en lo que fueron citados. (Tabla 4)

Una vez definido la cantidad verdadera de recurrencias en las citaciones. Se procedió a la elaboración de gráficos entendibles para su explicación para esto se tomó al universo donde se muestra el universo de nódulos y se les dio color a estos para diferenciar entre referencias (azul) y títulos (rojo). (Imagen 2)

Tabla 4. Lista de los artículos más referenciados por los resultados de la búsqueda

CITA	TIPO	RECURRENCIAS GLOBALES
Abrahamsson, i., berglundh, t., glantz, p.o., lindhe, j., the mucosal attachment at different abutments. an experimental study in dogs (1998) j. clin. periodontol., 25 (9), pp. 721-727	Referencia	11
Rutkunas, v., bukelskiene, v., sabaliauskas, v., balciunas, e., malinauskas, m., baltriukiene, d., assessment of human gingival fibroblast interaction with dental implant abutment materials (2015) j. mater. sci. mater. med, 26, p. 169	Referencia	9
Welander, m., abrahamsson, i., berglundh, t., the mucosal barrier at implant abutments of different materials (2008) clin oral implants res, 19, pp. 635-641	Referencia	9
Messer, r.l., lockwood, p.e., wataha, j.c., lewis, j.b., norris, s., bouillaguet, s., in vitro cytotoxicity of traditional versus contemporary dental ceramics (2003) j prosthet dent, 90, pp. 452-458	Referencia	7
Brackett, m.g., lockwood, p.e., messer, r.l., lewis, j.b., bouillaguet, s., wataha, j.c., in vitro cytotoxic response to lithium disilicate dental ceramics (2008) dent mater, 24 (4), pp. 450-456	Referencia	6
Linkevicius, t., vaitelis, j., the effect of zirconia or titanium as abutment material on soft peri-implant tissues: a systematic review and meta-analysis (2015) clinical oral implants research, 26, pp. 139-147. , https://doi.org/10.1111/clr.12631	Referencia	6

<p>Nothdurft, f.p., fontana, d., ruppenthal, s., may, a., aktas, c., mehraein, y., differential behavior of fibroblasts and epithelial cells on structured implant abutment materials: a comparison of materials and surface topographies (2015) clin implant dentistry related res, 17, pp. 1237-1249</p>	<p>Referencia</p>	<p>6</p>
<p>Yamano, s., ma, a.k., shanti, r.m., kim, s.w., wada, k., sukotjo, c., the influence of different implant materials on human gingival fibroblast morphology, proliferation, and gene expression (2011) int j oral maxillofac implants, 26, pp. 1247-1255</p>	<p>Referencia</p>	<p>6</p>
<p>Zheng, m., yang, y., liu, x.q., liu, m.y., zhang, x.f., wang, x., li, h.p., tan, j.g., (2015) plos one, 10, p. e0140278</p>	<p>Referencia</p>	<p>6</p>
<p>Grenade, c., de pauw-gillet, m.c., gailly, p., vanheusden, a., mainjot, a., biocompatibility of polymer-infiltrated-ceramic-network (picn) materials with human gingival fibroblasts (hgfs) (2016) dental materials, 32 (9), pp. 1152-1164</p>	<p>Referencia</p>	<p>5</p>

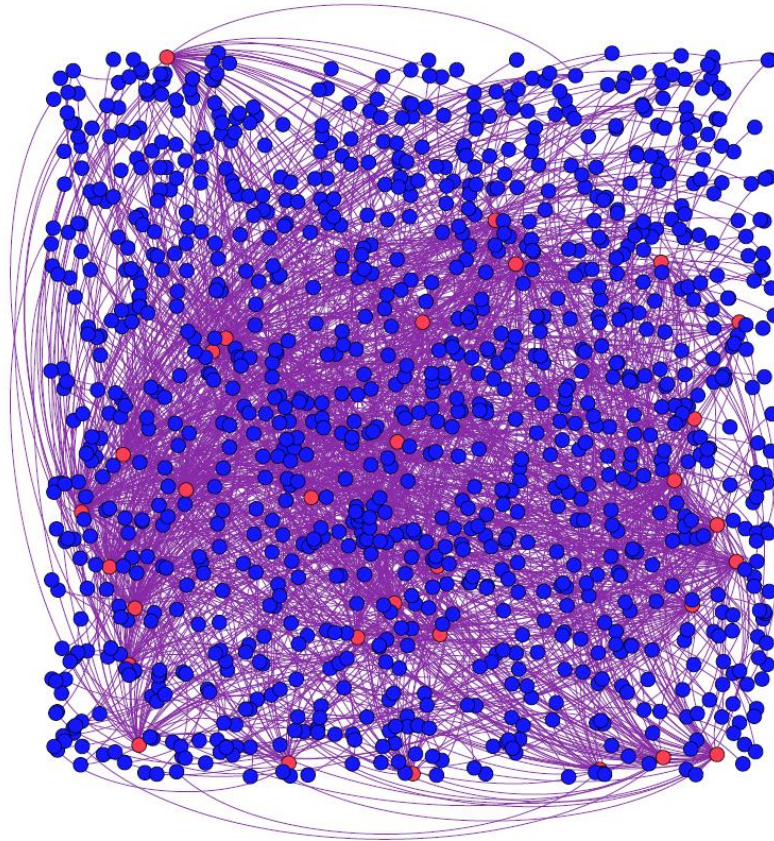


Imagen 2. En esta imagen se pueden apreciar de manera desorganizada los 31 títulos (rojo) y sus referencias (azul) ligadas por aristas que se representan con una línea que une a los artículos con las referencias que son citadas en ellos.

Para lograr una mejor comprensión de estos esquemas se le dio a este universo primo una distribución de “Fruchteran reingold” en una escala de 20,000 a una gravedad de 10 y una velocidad de 1.0 obteniendo una expansión de los nódulos dentro del universo. Posterior a esto ya para lograr una correcta esquematización del universo se aplicó una distribución de “Forcé altas 2” con unos valores de escalado 50 y gravedad de 50 puntos también obteniendo un esquema entendible favorable en donde se aprecia la relación de los artículos con sus citas bibliográficas y cuáles de ellas coinciden en más de un artículo. (Imagen 3)

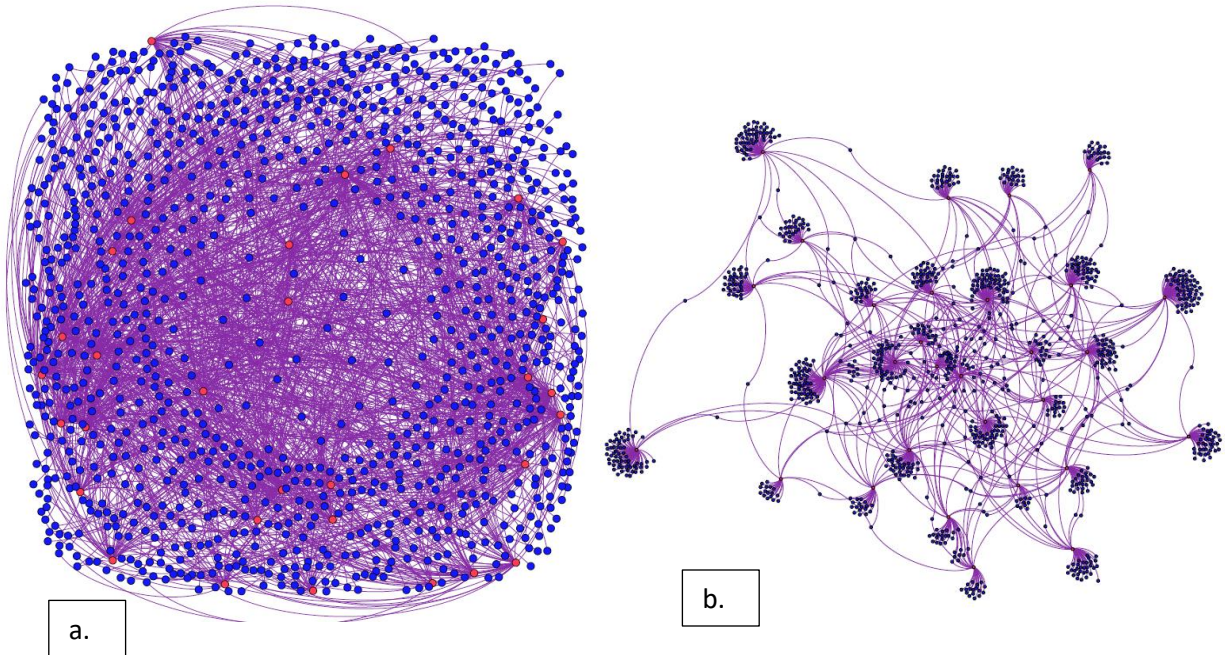


Imagen 3. En la imagen “a.” se muestra la expiación del universo tras aplicar la distribución “Fruchteran reingold” y en la imagen “b.” se muestra el resultado al aplicar la distribución “Forcé altas 2”.

Para terminar de esquematizar la relación entre los artículos y sus citas bibliográficas se modificó el tamaño y el color de las principales referencias para ser identificados con mayor facilidad y ver sus relaciones con los artículos seleccionados en esta revisión con el fin de saber porque estos artículos se pueden considerar de gran relevancia a lo que el tema supone. (imagen4.)

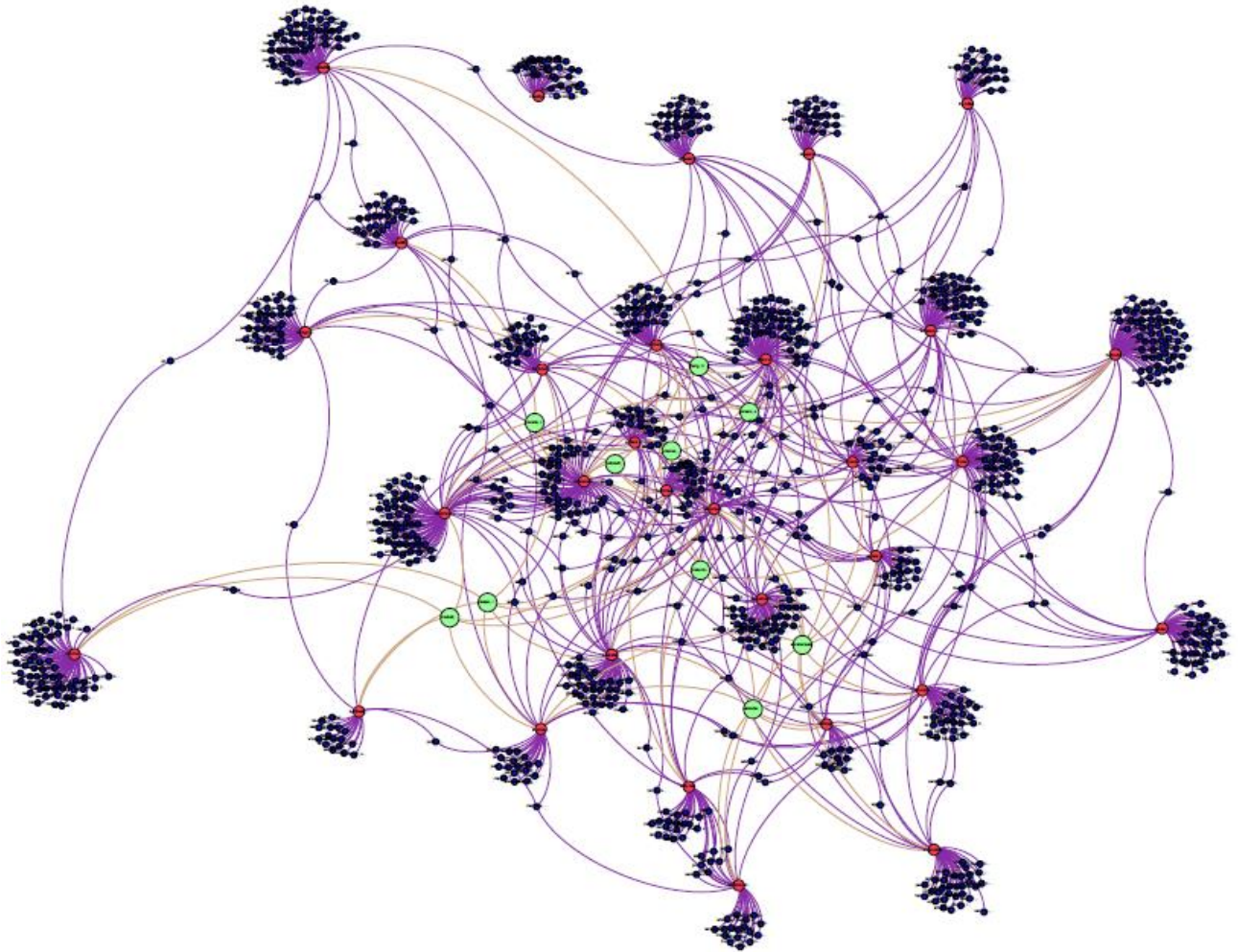


Imagen 4. En esta imagen se puede notar la distribución y coincidencias que existen entre los títulos de los artículos elegidos en esta revisión (rojo) y las 10 citas de mayor recurrencia por ende de mayor relevancia en el tema (verde)

Diagrama de procedimientos:





Se transfirió el documento obtenido al software de procesamiento y análisis de datos Gephi 0.9.2.



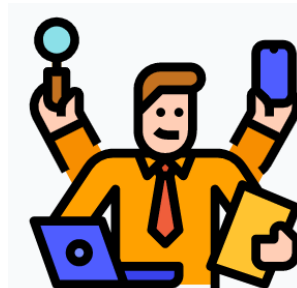
Se realizó una revisión y reagrupación manual de todas las referencias obtenidas de los artículos incluidos.



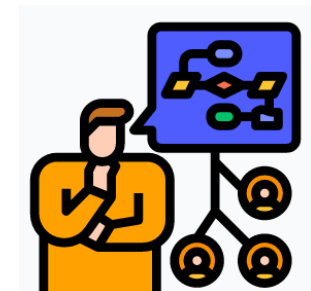
Se aplicaron los parámetros de distribución para la obtención de gráficos que reflejen la relación existente entre las referencias de los artículos



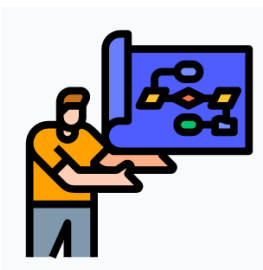
Como resultado del procesamiento de datos se obtuvieron los artículos más citados y por lo tanto con mayor impacto en el tema



Se realizó la discusión y análisis con la información obtenida.



Se llegó a una conclusión sobre el panorama actual del tema



Se realizó la divulgación de la información obtenida

10. Capítulo IV. Discusión y Conclusión

Uno de los antecedentes reportados en la literatura más trascendental para el tema fue de la autoría de Yoichiro Ichicawa y cols., que en 1992 realizaron un estudio donde dejaron de manera subdérmica fragmentos de zirconia en ratas Wistar de 8 semanas de edad. Observaron que después de 3 meses, el fragmento había sido encapsulado por fibroblastos, 6 meses después del estudio la capsula seguía ahí y no se encontraron con ninguna reacción inflamatoria resultante (68).

Una vez esquematizada esta relación podemos observar que 3 de los diez artículos más citados en los resultados de esta búsqueda son también parte de los incluidos en esta revisión los cuales son los de los autores Grenade, Rutkunas y Yang. (imagen5)

Los experimentos de Grenade y Rutkunas comparten los mismos principios en evaluar la adhesión y viabilidad celular de materiales con los que se fabrican aditamentos para implantes y ambos coinciden en que el titanio y el zirconio presentan una mayor cito compatibilidad estadísticamente importante frente a otros materiales. Grenade en su comparación con el material a base de polímero que está evaluando lo considera como un buen material pero el Gold estándar siguen siendo la zirconia y el titanio(33)(39).

Rutkunas en su artículo describe que el mejor material cuando se trata de nivel de adhesión de los FGH es el titanio con una superficie arenada, después el titanio con una superficie pulida y posteriormente la zirconia con una superficie rugosa. Lo cual contrasta con los resultados de Young-Sungkim y cols. en su estudio donde evaluaron viabilidad celular en diferentes materiales con los que se fabrican aditamentos, aunque Young-Sungkim y cols., también llegaron a la conclusión de que los materiales a base de zirconia son una alternativa ideal cuando se trata de viabilidad celular, aunque si difiere en las características de superficie ya que comentan que una superficie más lisa y que tenga menor ángulo de mojamiento tendrá mejores características de biocompatibilidad. Los autores refieren que la adhesión de los FGH era significativamente afectada por la humectabilidad, especialmente en las superficies que tienen una rugosidad de 0.2um o menos y que tiene diferentes resultados en una rugosidad dentro del rango de 0.2-0.5um,

es decir que entre más pulida este una superficie esta tendrá mejor adhesión celular. Este resultado coincide con el encontrado por Rohr y cols. (38) (39) (63).

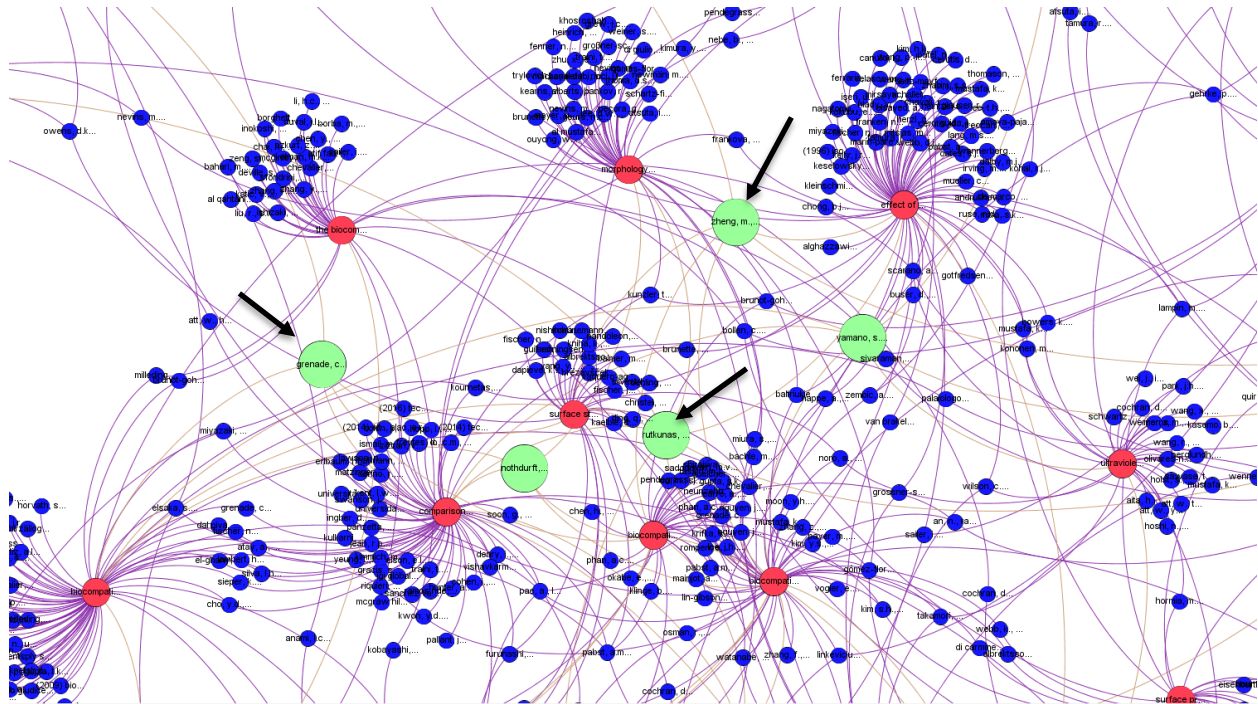


Imagen 5. Señalados con una flecha los artículos que coincidieron en este estudio con los 10 más citados

Mehl y cols., encontraron que cuando se trata de fuerza de adhesión de una sola célula en zirconia ni las superficies arenadas o pulidas presentan mejores propiedades que las superficies solo maquinadas, y establece como Gold Estándar a lo que adhesión celular se refiere a la dentina humana pulida (45).

Fischer y cols., en su estudio resaltan la importancia de una superficie pulida diciendo que a las 24 y 48 horas de incubación de fibroblastos estos están más distribuidos en superficies lisas que en rugosas, y esto llevándolo al ambiente clínico es de vital importancia en el éxito a largo plazo del implante debido a que entre más rápido se logre este sellado mejor probabilidades de éxito tendrá el tratamiento (48).

El artículo con mayor incidencia de citación elaborado por Abrahamson y cols. de 1998 fue un estudio aleatorio de la respuesta de los tejidos periimplantarios a diferentes materias de aditamentos como oro, titanio y alecciones sobre un modelo animal, que, aunque no utilizó ningún material a base de zirconia ya dejaba ver el interés de la relación de los materiales con el tejido blando periimplantario (imagen 6).

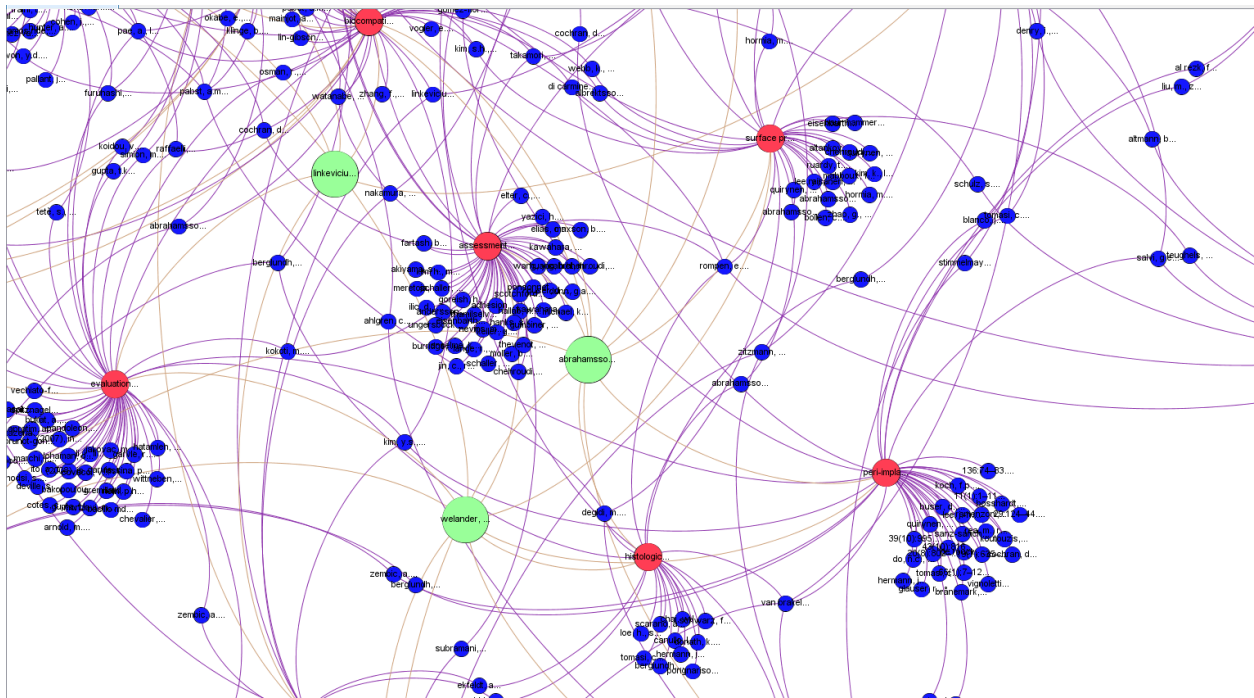


Imagen 6. Muestra conexión y ocurrencia del artículo elaborado por Abrahamsson y cols. siendo la referencia con mayor índice de ocurrencia dentro de los 31 artículos incluidos en esta revisión.

Brito da Cruz y cols. en el 2018 compararon el comportamiento de osteoblastos y fibroblastos humanos en contacto con PEEK, Zirconia y Titanio. 16 discos de 8mm de diámetro y 3mm de grosor fueron fabricados para cada grupo. Los discos fueron llevados al alto pulido usando una suspensión de óxido de aluminio. Después fueron limpiados por ultrasonido en una solución de HNO_3 al 5%, HF al 10% y agua bidestilada al 85%. Después los discos fueron arenados usando partículas de alúmina de un tamaño de 100um. Finalmente, los discos fueron autolavados. Los fibroblastos gingivales humanos fueron cultivados por 14 días sobre los discos. La morfología y adhesión celular fue evaluada por microscopio electrónico. Los resultados arrojaron que hubo una mayor

proliferación de osteoblastos y fibroblastos en las superficies de PEEK y de Zirconia comparado con el titanio. Esto asociado con la mayor humectabilidad de estas superficies en comparación con el titanio (69).

Uno de los 10 artículos que más se referenció, que también contrasta en este tema de superficie es el de F. Nothdurf y cols., (imagen 7) que en 2015 realizaron un estudio donde prepararon diferentes superficies en aditamentos de zirconia y titanio, maquinada, pulida y arenada. Usando espectroscopía con rayos x de energía dispersa, un análisis topográfico y cálculo del ángulo de mojamiento. Cultivaron fibroblastos humanos y células epiteliales en los especímenes y fueron evaluados y contados a las 24 y 72 horas usando estudios de imágenes por fluorescencia. La abundancia de la proteína de adhesión focal la vinculina fue analizada por inmunohistoquímica. Los resultados arrojaron que hubo más proliferación en las superficies de zirconia y que las superficies pulidas y maquinadas son mejores que las arenadas para la adhesión de fibroblastos (70).

En el campo de los estudios clínicos podemos comparar los 2 estudios de Thoma y cols., en el que evalúan la influencia de coronas cementadas o atornilladas sobre aditamentos de zirconio, en el primero de sus estudios parece no haber diferencia significativa en ambos grupos lo cual hace suponer que el uso de aditamentos de zirconia es un punto no perjudicial hacia los tejidos blandos por lo cual no sumaría más factores de riesgos de perimplantitis a coronas que fueron cementadas y que ya tienen este factor de por medio (54). Esto se confirma en su otro estudio de 2018 en el que se realizó un experimento en el que se colocan coronas sobre implantes que de igual manera se segregan en restauraciones cementadas y atornilladas pero esta vez sobre aditamentos con revestimiento de zirconia o sin este revestimiento, en este estudio se llega a la conclusión que el revestimiento de zirconia no tiene un efecto negativo a lo que inflamación de los tejidos en contacto con este refiere a diferencia del uso de coronas cementadas que si presentaron infiltrado de células inflamatoria en sus resultados (55).

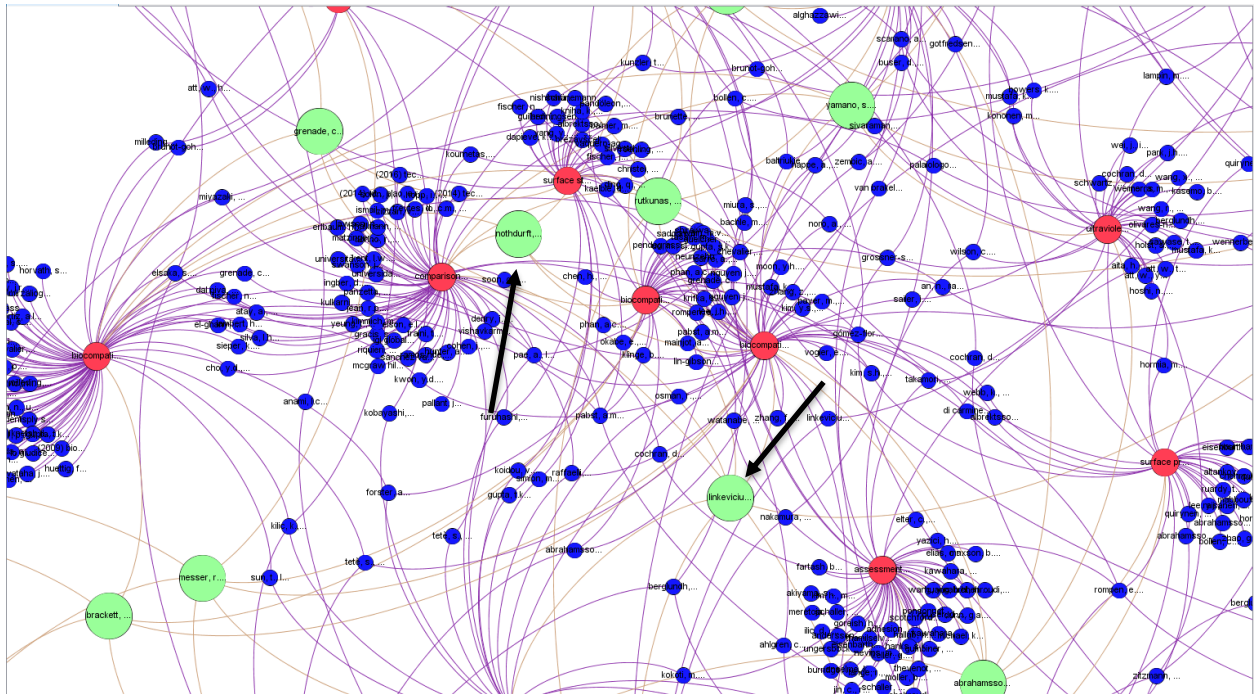


Imagen 7. Se muestra como las aristas de los artículos de F. Nothdurft y cols. y Linkevicius y cols. interactúan con otros nódulos marcando así su relación de ocurrencias de citación.

Dentro de esta misma línea clínica Sampatanukul y cols. elaboraron evaluaciones clínicas y biopsias en aditamentos de oro, zirconia y titanio en los que los resultados revelaron que la zirconia y el titanio tienen buen desempeño clínico, que esto coincide con los resultados encontrados por Serichetaphongse y cols. en su estudio clínico (51) (66). Sin embargo, en un metaanálisis hecho por Linkevicius y cols. se llega a la conclusión de que los aditamentos fabricados en base a zirconia tiene mejores propiedades ópticas en comparación con los de titanio y estos deberían de ser utilizado en caso de fenotipos periodontales delgados en la zona vestibular, lo cual puede ser considerado un sesgo para decantarse a elegir aditamentos de zirconia sobre titanio (71). Estudios como el de Borie y cols. deberían de publicar los resultados clínicos de sus investigaciones de biocompatibilidad de los otros materiales probados en su estudio aparte del titanio para brindar más información respecto al tema (64).

Por su parte Yang y cols. en su estudio revela la importancia de los tratamientos de superficie más allá de lo que una superficie pulida o rugosa significan, el evalúa mediante un proceso de radiación UV se puede aumentar la propiedad de biocompatibilidad de los

aditamentos fabricados con zirconia. Este estudio concluyó que el efecto de la radiación ultravioleta tenía efectos positivos, pero a la vez diferentes sobre los materiales dependiendo de la rugosidad y del ángulo de humectabilidad. Mientras que las superficies suaves presentaron un incremento en el nivel de adhesión celular, las superficies rugosas presentaron un aumento significativo en lo que a proliferación celular se refiere y también al nivel de producción de colágeno tipo 1. Cabe señalar que los cambios fueron más notables en la superficie rugosa que en la pulida los autores refieren que este fenómeno se puede deber a que una superficie rugosa tiene mayor área de superficie por lo tanto es capaz de absorber más radiación (37).

Gehrke y cols. incorporan dentro de estos procesos de preparación de superficie el uso de un lavado ultrasónico prolongado pero este factor no marco una diferencia en sus resultados al contrario de las características de superficies que si tiene un efecto significativo (58).

Nevares y cols., así como Ratkunas y cols., Gali y cols., Rizo-Gorrita y cols., y Grenade y cols., incorporaron la exposición de luz ultravioleta a sus muestras como método de esterilizado lo cual, según el estudio de Yang y cols., puede tener un efecto sobre la biocompatibilidad de las muestras (33) (37) (39) (40) (53) (60).

Miao Zheng que es uno de los coautores dentro del estudio de Yang que también ha hablado sobre modificaciones a la superficie más allá de arenado o pulido, en 2015 evaluó la presión atmosférica y plasma frío colocado por descarga dieléctrica de barrido en discos de zirconia y su efecto en los fibroblastos humanos. Los discos eran fresados a 20mm de diámetro y 2 mm de grosor y fueron expuestos a la terapia de plasma y helio por 30, 60 y 90 segundos. Como resultado después del tratamiento el ángulo de contacto bajo de 78.31 a 43.71. la densidad de fibroblastos aumento en todas las zonas tratadas especial mente las que fueron tratadas por 60 segundos los genes expresados durante la adhesión de los fibroblastos aumentaron significativamente en los grupos expuestos durante 30 y 60 segundos a las 3 y 24 horas de cultivo (72).

Otros autores como Ting Sun y cols. realizaron investigaciones en esta línea de modificación de superficie evaluaron la respuesta celular de zirconia estabilizada con itrio

modificada esta vez con nano cristales de zirconio, que, aunque al principio de la prueba es decir a las 24 y 48 horas del estudio se encontraron con un mayor desgaste celular en las muestras modificadas esta diferencia ya no fue significativa a las 72 horas del estudio (50).

Otras modificaciones a los materiales como el envejecimiento artificial demostraron tener efectos negativos importantes sobre el metabolismo celular de FGH como es en el caso del estudio de Pandoleon y cols. pero a su vez las elevaciones de la temperatura que no fueron cíclicas no tuvieron efecto alguno sobre el comportamiento celular como se demostró en el estudio de Rohr y cols. cambios en la metodología de envejecimiento pueden ser los responsables de que los resultados de Shahramian y cols. y Pandoleon y cols. contrasten (59) (63) (65).

Estudios más recientes de Yang y cols. han incursionado en nuevas técnicas respecto a lo que la modificación de superficie refiere como por ejemplo en su estudio de 2020 en donde empleó películas de polidopamina que mejoró la adhesión de fibroblastos debido a que refuerza las características de los enlaces de los péptidos hacia la superficie de zirconia. Lo cual sigue la misma línea de modificación de superficies como en el caso del estudio de Shahramian y cols. en el cual se utilizó la integración de titanio sobre la superficie zirconio para elevar sus propiedades de adhesión celular, esto abre el camino a más investigaciones con esta intención de mejora de compatibilidad de la superficie de los materiales con los tejidos blandos (65) (73).

A lo que traslucidez respecta es difícil cumplir con el primer objetivo de esta revisión debido a que no se encuentran estudios en donde se evalué la traslucidez como una variable que influya en la biocompatibilidad celular y solo se menciona en el estudio realizado por Dal Piva y cols. donde concluye que las muestras de zirconio de alta traslucidez en los que se llevaron a cabo las pruebas de que son expuestas a un pulido presentan una viabilidad celular inferior al 50% después de 24hrs lo que lo convierte en un material citotóxico (52).

Conclusión

Las características propias de los materiales, así como sus características de superficie y algunos tratamientos que se le puedan dar a estos materiales como el proceso de esterilizado o bien la modificación de su superficie por medio de radiación UV o por algún otro agente, tiene un efecto significativo en el desarrollo y comportamiento de las células que entran en contacto con esté. Se encontró que el factor que tiene mayor efecto sobre la biocompatibilidad de FGH es la topografía de superficie que adquieren los materiales biocompatibles como consecuencia a tratamientos de pulido o maquinado, teniendo influencia directa sobre el Angulo de mojamiento y por lo tanto área de contacto que las células tienen con la superficie del material. Esta revisión sistemática cumple con el objetivo de ser un instrumento para conocer el panorama actual de biocompatibilidad de las zirconias y que factores tienen efectos positivos o negativos sobre esta. Es necesario destacar que se requieren más estudios que comparen la biocompatibilidad de los nuevos materiales a base de zirconia como por ejemplo la zirconia translucida, y deduzca que tanto de estos efectos sobre la biocompatibilidad son propios al material o bien, a las características de superficie, para así trazar rutas clínicas más adecuadas.

11. Bibliografía

1. Gutierrez Vargas VL, León Manco RA, Castillo Andamayo DE. Edentulismo y necesidad de tratamiento protésico en adultos de ámbito urbano marginal. *Rev Estomatológica Hered.* 2015;25(3):179.
2. Qassadi W, Alshehri T, Alshehri A. Review on Dental Implantology. *Egypt J Hosp Med.* 2018;71(1):2217–25.
3. Chai WL, Brook IM, Palmquist A, Van Noort R, Moharamzadeh K. The biological seal of the implant-soft tissue interface evaluated in a tissueengineered oral mucosal model. *J R Soc Interface.* 2012;9(77):3528–38.
4. Obădan F, Crăițoiu Ș, Manolea HO, Hîncu MC, Iacov-Crăițoiu MM. The evaluation of the morphological evolution of the tissue integration of dental implants through conventional histology and immunohistochemistry techniques. *Rom J Morphol Embryol.* 2018;59(3):851–9.
5. Guerrero-González M, Monticelli F, García-Martín DS, Herrero-Climent M, Ríos-Carrasco B, Ríos-

- Santos JV, et al. Reliability of the resonance frequency analysis values in new prototype transepithelial abutments: A prospective clinical study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(18):1–13.
6. Oumvertos Koutayas S, Vagkopoulou T, Pelekanos S, Koidis P, Rudolf Strub J. Zirconia en odontología: segunda parte. Revolución clínica basada en la evidencia. *Eur J Esthet Dent* [Internet]. 2010;3(2):126–61. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-the-european-journal-esthetic-dentistry-312-articulo-zirconia-odontologia-segunda-parte-revolucion-X2013148810538873>
 7. López Pinedo M. Tejidos mucosos peri-implantarios. *Rev Estomatológica Hered*. 2014;14(2–1):89–94.
 8. De Kok IJ, Katz LH, Duqum IS. CAD/CAM Custom Abutments for Esthetic Anterior Implant-Supported Restoration: Materials and Design. *Curr Oral Heal Reports*. 2018;5(2):121–6.
 9. Piconi C, Sandri M. New Materials for Dental Implantology. *Key Eng Mater*. 2017;750(Table 1):189–94.
 10. Tjellström A. The father of Osseointegration and the godfather of the BAHA: Professor Per-Ingvar Brånemark, Göteborg Sweden has passed away in his 86th year. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2015;272(4):779–80.
 11. Buser D, Sennerby L, De Bruyn H. Modern implant dentistry based on osseointegration: 50 years of progress, current trends and open questions. *Periodontol 2000*. 2017;73(1):7–21.
 12. Ken Y, Tachikawa N, Kasugai S. Differences in knowledge related to dental implants between patients with and without a treatment history of dental implants. *Clin Oral Implants Res*. 2017;28(9):1062–6.
 13. Martínez Rus F, Pradíes Ramiro G, Suárez García MJ, Rivera Gómez B. Cerámicas dentales: clasificación y criterios de selección. *Rcoe*. 2007;12(4):253–63.
 14. Administrativas C, Montece-seixas ER, Lima-tamay KE. Importance of Zirconium for fixed partial denture free of metal. *Importancia del Zirconio para prótese parcial fija libre de metal*. *Dominio las Ciencias*, ISSN-e 2477-8818, Vol 3, N° 3, 2017, págs 613-627 [Internet]. 2017;3(3):613–27. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6326669>

15. Wirwicki, Mateusz; Topoliński T. Zirconium Dioxide As a Biomaterial; the Microstructure. 2012;14–7.
16. Vichi A, Sedda M, Fabian Fonzar R, Carrabba M, Ferrari M. Comparison of contrast ratio, translucency parameter, and flexural strength of traditional and “augmented translucency” zirconia for CEREC CAD/CAM system. *J Esthet Restor Dent*. 2016;28:S32–9.
17. Dangra Z, Gandhewar M. The Use of Newer High Translucency Zirconia in Aesthetic Zone. *Case Rep Dent*. 2014;2014(Figure 1):1–3.
18. Tuncel İ, Turp I, Üşümez A. Evaluation of translucency of monolithic zirconia and framework zirconia materials. *J Adv Prosthodont*. 2016;8(3):181.
19. Kurtulmus-Yilmaz S, Ulusoy M. Comparison of the translucency of shaded zirconia all-ceramic systems. *J Adv Prosthodont*. 2014;6(5):415.
20. Ahmed DM, Omar SS. Cementing Line Configuration of Bioactive Engineered Zirconia Implants (*In Vivo* Histological Study). *Key Eng Mater*. 2018;786:236–47.
21. Laass A, Sailer I, Hüsler J, Hämmerle C, Thoma D. Randomized Controlled Clinical Trial of All-Ceramic Single-Tooth Implant Reconstructions Using Modified Zirconia Abutments: Results at 5 Years After Loading. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2018;39(1):17–27.
22. Atsü S, Aksan M, Bulut A. Fracture Resistance of Titanium, Zirconia, and Ceramic-Reinforced Polyetheretherketone Implant Abutments Supporting CAD/CAM Monolithic Lithium Disilicate Ceramic Crowns After Aging. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2019;34(3):622–30.
23. Mangano F, Margiani B, Admakin O. A Novel Full-Digital Protocol (SCAN-PLAN-MAKE-DONE®) for the Design and Fabrication of Implant-Supported Monolithic Translucent Zirconia Crowns Cemented on Customized Hybrid Abutments: A Retrospective Clinical Study on 25 Patients. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(3):317.
24. Delgado Pichel A, Inarejos Montesinos P, Herrero Climent M. Espacio biológico: Parte I: La inserción diente-encía. *Av en Periodoncia e Implantol Oral*. 2001;13(2):1–8.
25. Ikeda H, Yamaza T, Yoshinari M, Ohsaki Y, Ayukawa Y, Kido MA, et al. Ultrastructural and Immunoelectron Microscopic Studies of the Peri-Implant Epithelium-Implant (Ti-6Al-4V) Interface of Rat Maxilla. *J Periodontol*. 2005;71(6):961–73.

26. McKinney RVJ, Steflik DE, Koth DL. Evidence for a junctional epithelial attachment to ceramic dental implants. A transmission electron microscopic study. *J Periodontol.* 1985;56(10):579–91.
27. Jansen JA, de Wijn JR, Wolters-Lutgerhorst JML, Van Mullem PJ. Ultrastructural Study of Epithelial Cell Attachment to Implant Materials. *J Dent Res.* 1985;64(6):891–6.
28. Baharloo B, Textor M, Brunette DM. Substratum roughness alters the growth, area, and focal adhesions of epithelial cells, and their proximity to titanium surfaces. *J Biomed Mater Res - Part A.* 2005;74(1):12–22.
29. Coecke S, Balls M, Bowe G, Davis J, Gstraunthaler G, Hartung T, et al. Guidance on good cell culture practice: A Report of the Second ECVAM Task Force on good cell culture practice. *ATLA Altern to Lab Anim.* 2005;33(3):261–87.
30. Oyeleye OO, Ogundeji ST, Ola SI, Omitogun OG. Basics of animal cell culture: Foundation for modern science. *Biotechnol Mol Biol Rev.* 2016;11(2):6–16.
31. Acosta Gómez AP. El fibroblasto: su origen, estructura, funciones y heterogeneidad dentro del periodonto. *Univ Odontológica.* 2006;25:26–33.
32. Gelse K, Pöschl E, Aigner T. Collagens - Structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003;55(12):1531–46.
33. Grenade C, De Pauw-Gillet MC, Pirard C, Bertrand V, Charlier C, Vanheusden A, et al. Biocompatibility of polymer-infiltrated-ceramic-network (PICN) materials with Human Gingival Keratinocytes (HGKs). *Dent Mater* [Internet]. 2017;33(3):333–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2016.06.020>
34. Hernandez miriam rios, Cañas janec cepero. Citotoxicidad in vitro: sistema para la evaluación de biomateriales y equipos médicos implantables en Cuba. Miriam Rios Hernandez. *Rev CENIC ciencias Biol.* 2006;37(2).
35. LI W, ZHOU J, XU Y. Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. *Biomed Reports.* 2015;3(5):617–20.
36. (CSA) CSA. ISO 10993-5 in vitro cytotoxicity. *Int Organ.* 2009;2007:1–11.
37. Yang Y, Zhou J, Liu X, Zheng M, Yang J, Tan J. Ultraviolet light-treated zirconia with different roughness affects function of human gingival fibroblasts in vitro: The potential surface

- modification developed from implant to abutment. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2015;103(1):116–24.
38. Kim YS, Shin SY, Moon SK, Yang SM. Surface properties correlated with the human gingival fibroblasts attachment on various materials for implant abutments: A multiple regression analysis. *Acta Odontol Scand*. 2015;73(1):38–47.
 39. Rutkunas V, Bukelskiene V, Sabaliauskas V, Balciunas E, Malinauskas M, Baltriukiene D. Assessment of human gingival fibroblast interaction with dental implant abutment materials. *J Mater Sci Mater Med*. 2015;26(4).
 40. Nevarez-Rascon A, González-Lopez S, Acosta-Torres LS, Nevarez-Rascon MM, Orrantia-Borunda E. Synthesis, biocompatibility and mechanical properties of ZrO₂-Al₂O₃ ceramics composites. *Dent Mater J*. 2016;35(3):392–8.
 41. Pabst AM, Walter C, Bell A, Weyhrauch M, Schmidtman I, Scheller H, et al. Influence of CAD/CAM zirconia for implant-abutment manufacturing on gingival fibroblasts and oral keratinocytes. *Clin Oral Investig*. 2016;20(5):1101–8.
 42. Esfahanizadeh N, Motalebi S, Daneshparvar N, Akhoundi N, Bonakdar S. Morphology, proliferation, and gene expression of gingival fibroblasts on Laser-Lok, titanium, and zirconia surfaces. *Lasers Med Sci*. 2016;31(5):863–73.
 43. Grenade C, De Pauw-Gillet MC, Gailly P, Vanheusden A, Mainjot A. Biocompatibility of polymer-infiltrated-ceramic-network (PICN) materials with Human Gingival Fibroblasts (HGFs). *Dent Mater* [Internet]. 2016;32(9):1152–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2016.06.020>
 44. Okabe E, Ishihara Y, Kikuchi T, Izawa A, Kobayashi S, Goto H, et al. Adhesion Properties of Human Oral Epithelial-Derived Cells to Zirconia. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016;18(5):906–16.
 45. Mehl C, Kern M, Schütte AM, Kadem LF, Selhuber-Unkel C. Adhesion of living cells to abutment materials, dentin, and adhesive luting cement with different surface qualities. *Dent Mater* [Internet]. 2016;32(12):1524–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2016.09.006>
 46. Altmann B, Rabel K, Kohal RJ, Proksch S, Tomakidi P, Adolfsson E, et al. Cellular transcriptional response to zirconia-based implant materials. *Dent Mater* [Internet]. 2017;33(2):241–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2016.12.005>

47. Grenade C, De Pauw-Gillet MC, Pirard C, Bertrand V, Charlier C, Vanheusden A, et al. Biocompatibility of polymer-infiltrated-ceramic-network (PICN) materials with Human Gingival Keratinocytes (HGKs). *Dent Mater* [Internet]. 2017;33(3):333–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2017.01.001>
48. Fischer NG, Wong J, Baruth A. Effect of Clinically Relevant CAD / CAM Zirconia Polishing on Gingival Fibroblast Proliferation and Focal Adhesions.
49. De Luca Pedro G1*, Carvalho Geraldo AP2, Franco Aline BG2, Kreve Simone2, Avila Gisseli B2 DSC, 1. *Journal of International Dental and Medical Research* ISSN 1309-100X <http://www.jidmr.com> Post-orthodontic treatment Yenita Alamsyah and et al. *J Int Dent Med Res*. 2018;Volume 11,(ISSN 1309-100X):759–64.
50. Sun T, Liu R, Liu X, Feng X, Zhang Y, Lai R. The Biocompatibility of Dental Graded Nano-Glass-Zirconia Material After Aging. *Nanoscale Res Lett*. 2018;13.
51. Sampatanukul T, Serichetaphongse P, Pimkhaokham A. Histological evaluations and inflammatory responses of different dental implant abutment materials: A human histology pilot study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2018;20(2):160–9.
52. Dal Piva AMO, Contreras LPC, Ribeiro FC, Anami LC, Camargo SEA, Jorge AOC, et al. Monolithic ceramics: Effect of finishing techniques on surface properties, bacterial adhesion and cell viability. *Oper Dent*. 2018;43(3):315–25.
53. Rizo-Gorrita M, Luna-Oliva I, Serrera-Figallo MÁ, Gutiérrez-Pérez JL, Torres-Lagares D. Comparison of cytomorphometry and early cell response of human gingival fibroblast (HGFs) between zirconium and new zirconia-reinforced lithium silicate ceramics (ZLS). *Int J Mol Sci*. 2018;19(9).
54. Thoma DS, Wolleb K, Bienz SP, Wiedemeier D, Hämmerle CHF, Sailer I. Early histological, microbiological, radiological, and clinical response to cemented and screw-retained all-ceramic single crowns. *Clin Oral Implants Res*. 2018;29(10):996–1006.
55. Thoma DS, Sailer I, Mühlemann S, Gil A, Jung RE, Hämmerle CHF. Randomized controlled clinical study of veneered zirconia abutments for single implant crowns: Clinical, histological, and microbiological outcomes. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2018;20(6):988–96.
56. Atalay H, Çelik A, Ayaz F. Investigation of genotoxic and apoptotic effects of zirconium oxide

- nanoparticles (20 nm) on L929 mouse fibroblast cell line. *Chem Biol Interact* [Internet]. 2018;296:98–104. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.09.017>
57. Rizo-Gorrita M, Herráez-Galindo C, Torres-Lagares D, Serrera-Figallo MÁ, Gutiérrez-Pérez JL. Biocompatibility of polymer and ceramic CAD/CAM materials with human gingival fibroblasts (HGFs). *Polymers (Basel)*. 2019;11(9):13–7.
 58. Gehrke P, Smeets R, Gosau M, Friedrich RE, Madani E, Duddeck D, et al. The influence of an ultrasonic cleaning protocol for CAD/CAM abutment surfaces on cell viability and inflammatory response in vitro. *In Vivo (Brooklyn)*. 2019;33(3):689–98.
 59. Pandoleon P, Bakopoulou A, Papadopoulou L, Koidis P. Evaluation of the biological behaviour of various dental implant abutment materials on attachment and viability of human gingival fibroblasts. *Dent Mater* [Internet]. 2019;35(7):1053–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.04.010>
 60. Gali S, K RK. Zirconia toughened mica glass ceramics for dental restorations: Wear, thermal, optical and cytocompatibility properties. *Dent Mater* [Internet]. 2019;35(12):1706–17. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.08.112>
 61. Yang Z, Liu M, Yang Y, Zheng M, Yang Y, Liu X, et al. Biofunctionalization of zirconia with cell-adhesion peptides: Via polydopamine crosslinking for soft tissue engineering: Effects on the biological behaviors of human gingival fibroblasts and oral bacteria. *RSC Adv*. 2020;10(11):6200–12.
 62. Branco AC, Silva R, Santos T, Jorge H, Rodrigues AR, Fernandes R, et al. Suitability of 3D printed pieces of nanocrystalline zirconia for dental applications. *Dent Mater*. 2020;36(3):442–55.
 63. Rohr N, Zeller B, Matthisson L, Fischer J. Surface structuring of zirconia to increase fibroblast viability. *Dent Mater* [Internet]. 2020;36(6):779–86. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.03.024>
 64. Borie M, Lecloux G, Bosshardt D, Barrantes A, Haugen HJ, Lambert F, et al. Peri-implant soft tissue integration in humans – influence of materials: A study protocol for a randomised controlled trial and a pilot study results. *Contemp Clin Trials Commun* [Internet]. 2020;19:100643. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.conctc.2020.100643>

65. Shahrmanian K, Gasik M, Kangasniemi I, Walboomers XF, Willberg J, Abdulmajeed A, et al. Zirconia implants with improved attachment to the gingival tissue. *J Periodontol*. 2020;91(9):1213–24.
66. Serichetaphongse P, Chengprapakorn W, Thongmeearkom S, Pimkhaokham A. Immunohistochemical assessment of the peri-implant soft tissue around different abutment materials: A human study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2020;22(5):638–46.
67. da Rocha JFSS, de Avila ED, Rigolin MSM, Barbugli PA, Marin DOM, Mollo Junior FA, et al. Biological and physicochemical implications of the aging process on titanium and zirconia implant material surfaces. *J Prosthet Dent* [Internet]. 2021;125(1):165–74. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2019.11.024>
68. Ichikawa Y, Akagawa Y, Nikai H, Tsuru H. Ompatibility in Vivo and Stability of a New Zirconia Ceramic. *J Prosthet Dent*. 1992;68(2):322–6.
69. da Cruz M, Marques J, Peñarrieta-Juanito G, Costa M, Souza J, Magini R, et al. Hard and Soft Tissue Cell Behavior on Polyetheretherketone, Zirconia, and Titanium Implant Materials. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2018;34(1):39–46.
70. Aktas C, Sci ME, Mehraein Y, Lipp P, Kaestner L. Differential Behavior of Fibroblasts and Epithelial Cells on Structured Implant Abutment Materials : A Comparison of Materials and Surface Topographies. 2014;1237–49.
71. Linkevicius T, Vaitelis J. The effect of zirconia or titanium as abutment material on soft peri-implant tissues: A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2015;26:139–47.
72. Zheng M, Yang Y, Liu XQ, Liu MY, Zhang XF, Wang X, et al. Enhanced biological behavior of in vitro human gingival fibroblasts on cold plasma-treated zirconia. *PLoS One*. 2015;10(10):1–18.
73. Ge Z yu, Yang L ming, Xia J jia, Fu X hui, Zhang Y zhen. Possible aerosol transmission of COVID-19 and special precautions in dentistry. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2020;1581:1–8.

Porcentaje de cumplimiento o de requisitos.																														
---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--