



# TEZĂ DE DOCTORAT

## UTILIZAREA MINI-IMPLANTURILOR ORTODONTICE ÎN TRATAMENTUL COMPLEX AL ANOMALIILOR DENTO- MAXILARE

**Rezumat**

**COORDONATOR ȘTIINȚIFIC:**

**Prof. Univ. Dr. Ion Pătrașcu**

**DOCTORAND:**

**Dr. Andreea Păun**

**BUCUREȘTI**

**2017**



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „CAROL DAVILA”  
FACULTATEA DE MEDICINĂ DENTARĂ  
DISCIPLINA TEHNOLOGIA PROTEZELOR ȘI MATERIALE DENTARE**



# **TEZĂ DE DOCTORAT**

## **UTILIZAREA MINI-IMPLANTURILOR ORTODONTICE ÎN TRATAMENTUL COMPLEX AL ANOMALIILOR DENTO-MAXILARE**

### **Rezumat**

**COORDONATOR ȘTIINȚIFIC:**

**Prof. Univ. Dr. Ion Pătrașcu**

**DOCTORAND:**

**Dr. Andreea Păun**

**BUCUREȘTI**

**2017**

## CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

---

<b>LISTA FIGURILOR.....</b>	<b>5</b>
<b>LISTA TABELELOR.....</b>	<b>8</b>
<b>ABREVIERI.....</b>	<b>9</b>
<b>INTRODUCERE.....</b>	<b>10</b>
<b>PARTEA I : STADIUL CUNOAȘTERII IN DOMENIU – FUNDAMENTAREA ȘTIINȚIFICĂ A CERCETĂRII.....</b>	<b>14</b>
<b>Capitolul 1. MINI-IMPLANTURI ORTODONTICE. GENERALITĂȚI.....</b>	<b>15</b>
1.1. Ancorajul în ortodonție.....	15
1.2. Mini-implanturile ortodontice – definiție și terminologie.....	16
1.3. Scurt istoric privind mini-implanturile ortodontice.....	17
1.4. Structura unui mini-implant ortodontic.....	19
1.5. Cerințe și avantaje ale mini-implanturilor.....	22
1.6. Indicații și contraindicații.....	23
1.7. Complicații.....	25
<b>Capitolul 2. BIOMATERIALE UTILIZATE PENTRU FABRICAREA MINI-IMPLANTURILOR ORTODONTICE.....</b>	<b>27</b>
2.1. Clasificarea biomaterialelor.....	27
2.2. Răspunsul tisular determinat de biomaterialele pentru implanturi.....	28
2.3. Proprietățile biomaterialelor pentru mini-implanturi ortodontice.....	30
2.4. Biomaterialele utilizate pentru fabricarea mini-implanturilor ortodontice.....	31
2.5. Rolul tratamentului de suprafață în formarea interfeței os-implant.....	33
<b>Capitolul 3. STABILITATEA PRIMARĂ ȘI SECUNDARĂ A MINI-IMPLANTURILOR. NATURA INTERFEȚEI OS-IMPLANT.....</b>	<b>37</b>
3.1. Rata de succes a mini-implanturilor.....	37
3.2. Stabilitatea primară a mini-implanturilor.....	38
3.3. Stabilitatea secundară a mini-implanturilor.....	41
<b>PARTEA A II-A: CONTRIBUȚII PERSONALE.....</b>	<b>50</b>
<b>Capitolul 4. METODOLOGIA GENERALĂ DE CERCETARE.....</b>	<b>51</b>
4.1. Introducere.....	51
4.2. Scopul cercetării. Motivația studiului doctoral.....	51
4.3. Obiectivele cercetării.....	52
4.4. Direcții de cercetare. Beneficii estimate. Limitări.....	53
4.5. Materialul de studiu.....	55
4.6. Metode de lucru.....	60
<b>Capitolul 5. STUDIU PRIVIND PERCEPȚIA PACIENȚILOR ȘI MEDICILOR ASUPRA MINI-IMPLANTURILOR ORTODONTICE.....</b>	<b>66</b>
5.1. Introducere.....	66
5.2. Obiective.....	67
5.3. Material și metodă.....	67
5.4. Rezultate.....	70

5.5. Discuții.....	88
5.6. Concluzii.....	91
<b>Capitolul 6. STUDIU IN-VITRO PRIVIND COMPORTAMENTUL MINI- 1IMPLANTURILOR ORTODONTICE FAȚĂ DE PROLIFERAREA ȘI ADEZIUNEA OSTEOLAȘTILOR UMANI.....</b>	<b>92</b>
6.1. Introducere.....	92
6.2. Obiective.....	93
6.3. Material și metodă .....	93
6.4. Rezultate .....	99
6.5. Discuții.....	106
6.6. Concluzii.....	110
<b>Capitolul 7. CERCETĂRI EXPLORATORII-EXPERIMENTALE ASUPRA MODIFICĂRILOR HISTOLOGICE ALE ȚESUTULUI OSOS DIN JURUL MINI-IMPLANTURILOR ORTODONTICE .....</b>	<b>111</b>
7.1. Introducere.....	111
7.2. Obiective.....	112
7.3. Material și metodă .....	112
7.4. Rezultate .....	123
7.5. Discuții.....	132
7.6. Concluzii.....	137
<b>Capitolul 8. Aspecte clinice ale utilizării mini-implanturilor ortodontice în tratamentul anomaliilor dento-maxilare.....</b>	<b>139</b>
8.1. Caz clinic 1 .....	139
8.2. Caz clinic 2 .....	145
<b>Capitolul 9. Concluzii generale. Direcții de cercetare viitoare .....</b>	<b>148</b>
9.1. Concluzii generale și contribuții personale. Elementele de noutate și originalitate ale studiului .....	148
9.2. Direcții de cercetare viitoare.....	151
<b>BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>152</b>
<b>ANEXE.....</b>	<b>169</b>
<b>Anexa 1 – Chestionar de cercetare științifică adresat pacienților .....</b>	<b>170</b>
<b>Anexa 2 – Chestionar de cercetare științifică adresat medicilor.....</b>	<b>172</b>
<b>Anexa 3 – Activitatea de cercetare desfășurată în timpul pregătirii doctorale .....</b>	<b>174</b>

## INTRODUCERE

---

Dintre sistemele care oferă ancoraj stabil, mini-implanturile par să câștige teren în ultimii ani, principalele avantaje ale acestora fiind reprezentate de asigurarea unui ancoraj scheletal și facilitarea unui tratament ortodontic cu aplicații mai largi și cu o predictibilitate de succes mai mare.

Cercetarea de față este structurată în două părți, care își propun să găsească răspunsuri la o serie de întrebări legate de ancorajul scheletal. Prima parte se materializează într-o sinteză a literaturii de specialitate, menite să aducă o viziune de ansamblu a datelor despre mini-implanturi, biomateriale și despre stabilitatea primară și secundară a dispozitivelor de ancorare temporară. A doua parte a tezei include trei studii personale, a căror obiective converg către elaborarea și testarea unor mini-implanturi experimentale, care conferă clinicianului posibilitatea de a personaliza caracteristicile de design ale dispozitivelor. Tipul de mini-implant proiectat a înregistrat rezultate favorabile la testările realizate.

Mini-implantul experimental își propune să fie o opțiune eficientă, accesibilă și convenabilă în contextul în care piața locală este dominată de o multitudine de dispozitive comerciale. Utilizarea mini-implanturilor în cadrul tratamentelor ortodontice a adus o schimbare a perspectivelor terapeutice și trebuie evaluată în detaliu pentru a exploata la maximum avantajele pe care le oferă și a diminua potențialele complicații.

### **PARTEA I. STADIUL CUNOAȘTERII ÎN DOMENIU – FUNDAMENTAREA ȘTIINȚIFICĂ A CERCETĂRII**

#### **Capitolul 1. MINI-IMPLANTURI ORTODONTICE. GENERALITĂȚI**

---

În acest capitol sunt prezentate noțiuni privind zona de sprijin în ortodonție și tipurile de ancoraj utilizate în cadrul deplasărilor dinților cu ajutorul aparatelor ortodontice. De asemenea, sunt expuse dispozitivele utilizate ca mijloace de ancoraj scheletal, făcându-se referire cu precădere la mini-implanturile ortodontice. În literatură se folosesc o multitudine de termeni pentru a desemna mini-implanturile ortodontice, însă termenii utilizați în cadrul prezentei expuneri au fost de mini-implant ortodontic și mini-surub.

Este trecut în revistă un scurt istoric privind ancorajul scheletal, primele mini-implanturi ortodontice cu design similar celor utilizate în prezent fiind descrise de Kanomi, în 1997. Totodată, sunt detaliate noțiuni privind structura mini-implanturilor și implicațiile clinice ale diverselor caracteristici de design.

Ultima parte a acestui capitol are în vedere prezentarea caracteristicilor ideale pe care trebuie să le prezinte un mini-implant, precum și a avantajelor utilizării acestor dispozitive în cadrul tratamentelor ortodontice. Printre acestea din urmă, se numără sporirea opțiunilor de tratament ortodontic prin extinderea posibilităților de mecanoterapie [70,110] și posibilitatea de inserare în multiple zone anatomiche [14,102,133].

De asemenea, sunt expuse indicațiile, contraindicațiile și complicațiile mini-implanturilor în vederea creării unei imagini de asamblu a beneficiilor și limitelor de utilizare a acestor dispozitive în practica ortodontică. Cele mai frecvente complicații și accidente sunt contactul cu rădăcina unui dinte, inflamația mucoasei, depunerea detritusilor alimentare pe suprafața mini-implantului și fractura în timpul inserării și îndepărtării.

## **Capitolul 2. BIOMATERIALE UTILIZATE PENTRU FABRICAREA MINI- IMPLANTURILOR ORTODONTICE**

---

Materialele din care sunt fabricate implanturile influențează răspunsul biologic în ceea ce privește procesul de vindecare și modul de formare și menținere a interfeței implant-os [66]. În funcție de proprietățile fizice ale materialelor din care sunt realizate suprafețele implanturilor, acestea pot facilita absorbția biomoleculelor și adeziunea celulară [66]. De asemenea, acestea stimulează și modulează răspunsul inflamator care apare în vecinătatea șurubului, nu numai răspunsul inflamator inițial, ci și cel osteogenic și resorbția osoasă [103].

Inserarea unui mini-implant produce modificări și la nivel molecular [54]. Tipul materialului și caracteristicile de suprafață ale acestuia stimulează expresia unor gene la nivelul celulelor osoase din jurul implantului, care modulează răspunsul inflamator, apozitia și resorbția osoasă [103]. Spre exemplu, RUNX2 (runt related transcription factor-2) este un factor de transcripție important în diferențierea celulelor mezenchimale spre linia osteoblaștilor și osteoclaștilor [103,106].

Rezistența mecanică a materialului din care este confecționat mini-implantul este una din cele mai importante caracteristici. Aceasta trebuie să fie suficient de mare pentru a rezista la tensiunea de torsiune dezvoltată la nivelul filetelor mini-implantului în timpul inserării și îndepărtării, fără a se produce deformări permanente [128]. De asemenea, modulul de elasticitate trebuie să fie scăzut pentru un transferul optim al forțelor la nivel osos [128].

Materialele din care sunt fabricate mini-implanturile ortodontice sunt diverse. Printre acestea se numără oțelul, titanul comercial pur, aliajul de titan tipul IV și V. Dintre

acestea cel mai frecvent material utilizat este aliajul de titan tipul V (Ti-6Al-4V). Acesta prezintă o rezistență la rupere și la compresie mai mari decât mini-implantul din titan pur [4,67,108,128]. Modulul de elasticitate mai apropiat de cel al osului față de celelalte biomateriale metalice pentru implanturi (cu excepția titanului pur) reprezintă un avantaj care facilitează o distribuție mai uniformă a forțelor de-a lungul interfeței os-implant [4].

Pe suprafața mini-implanturilor ortodontice care intră în contact direct cu osul pot fi aplicate diverse tratamente în vederea creșterii contactului implant-os. Mai des utilizat este procedeul de sablare cu pulbere cu granulație mare și tratare cu acid (SLA – sandblasted, large grit, acid-etched sau SAE – sandblasted and acid-etched. La mini-implanturile din aliaj de titan V sablate și tratate cu acid, inserate la animale (iepuri), nu s-au observat diferențe semnificative în ceea ce privește stabilitatea și rezistența la torque-ul de îndepărtare [137]. Totuși, contactul os-implant este semnificativ mai mare la mini-implanturile cu suprafață rugoasă în comparație cu cele cu suprafață netedă, ceea ce recomandă dispozitivele cu suprafață rugoasă în situațiile cu os de calitate slabă și încărcare imediată sau timpurie [157].

### **Capitolul 3. STABILITATEA PRIMARA ȘI SECUNDARA A MINI-IMPLANTURILOR. NATURA INTERFEȚEI OS-IMPLANT**

---

Modalitatea prin care mini-implanturile sunt menținute în os este larg dezbătută în literatura de specialitate. Există păreri conform cărora mini-implanturile sunt menținute în os doar mecanic, lucru facilitat de suprafața lor relativ netedă și posibil de faptul că suprafața de contact este mai mult un fenomen fizic decât biochimic [29]. Pe de altă parte, alți autori vorbesc despre faptul că mini-implanturile ortodontice se osteointegrează și capătă stabilitate secundară, care poate fi determinată după perioada de vindecare sau la finalul perioadei de utilizare [155].

Stabilitatea primară reprezintă stabilitatea inițială, imediat după inserare obținută prin retenția mecanică a implantului în os [51,68,93,94]. Dintre metodele utilizate pentru testarea acesteia, analiza histologică, testul de percuție, testul de smulgere și examinarea radiologică oferă rezultate cu acuratețe mică [155]. Rezultate mai precise pot fi obținute cu ajutorul testelor care măsoară valoarea torque-ului la inserarea și îndepărtarea dispozitivului [51] și prin analiza frecvenței de rezonanță (Resonance Frequency Analysis, RFA) [91]. Stabilitatea primară a mini-implanturilor este influențată de o serie de factori, care țin de starea osului la nivelul căruia se inseră dispozitivele, de tipul de mini-implant, de tehnica de inserare și de forța aplicată.

Stabilitatea secundară reprezintă o creștere a stabilității atribuită formării și remodelării osoase la interfața implant-os și la nivelul osului peri-implantar [91]. Altfel

spus, este rezultatul osteointegrării apărute după formarea de os nou în jurul implantului [6]. În mod cert, osteointegrarea completă nu ar fi dorită în cazul mini-implanturilor, însă acestea pot fi funcționale chiar și la un index de osteointegrare foarte mic [26]. În literatură mai este folosit termenul de osteointegrare parțială în cazul mini-implanturilor ortodontice pentru că aceasta asigură stabilitatea mini-implanturilor și atunci când sunt aplicate momente de rotație și facilitează, totodată, îndepărtarea ușoară a dispozitivului [60,144]. Stabilitatea secundară poate fi evaluată printr-o serie de procedee: analiza secțiunilor histologice la microscopul optic, analiza histomorfometrică sau teste care măsoară valoarea torque-ului la îndepărtare. Printre factorii care influențează osteointegrarea se numără: perioada de timp până la aplicarea forței ortodontice, forța aplicată, tehnica chirurgicală de inserare, localizarea dispozitivului, forma și dimensiunea mini-implantului.

## PARTEA A II-A. CONTRIBUȚII PERSONALE

### Capitolul 4. METODOLOGIA GENERALA DE CERCETARE

---

#### 4.1. Scopul cercetării. Motivația studiului doctoral

---

**Tema** tezei de doctorat pornește de la premise care vizează să răspundă cerințelor clinice ale mini-implanturilor ortodontice și se materializează în elaborarea și studierea unor mini-implanturi experimentale personalizate.

**Scopul** lucrării constă în optimizarea tratamentului ortodontic cu ancoraj pe mini-implanturi și sporirea succesului acestei terapii, în final urmărindu-se creșterea calității vieții pacienților prin impactul asupra bunăstării fizice, psihice și sociale.

**Motivul** pentru care s-a ales această temă de cercetare rezidă în faptul că ancorajul scheletal reprezintă o metodă de tratament inovatoare, fiind un subiect de interes actual pentru cercetare în vederea optimizării condițiilor de utilizare a mini-implanturilor ortodontice. De asemenea, se are în vedere sublinierea importanței utilizării unui tratament individualizat, bazat pe trăsăturile particulare ale sistemului biologic. Pentru clinician, decizia de a alege un mini-implant este dificilă, ținând cont de varietatea de produse comerciale. De asemenea, literatura de specialitate oferă numeroase date privind influența caracteristicilor de design asupra stabilității mini-implanturilor, ceea ce îngreunează, în plus, selecția dispozitivului potrivit fiecărei situații particulare.

## 4.2. Obiectivele cercetării

---

Cercetarea își propune ca **obiectiv general** analiza mini-implanturilor ortodontice din punct de vedere al implicațiilor clinice la care trebuie să răspundă pentru a asigura un ancoraj optim pentru fiecare situație particulară. **Obiectivele specifice** ale cercetării constau în identificarea oportunității introducerii unor mini-implanturi experimentale, capabile să răspundă cerințelor principiului biocompatibilității prin analize *in-vitro* și *in-vivo*, reprezentând etapele esențiale de analiză înaintea utilizării în practica clinică.

*Primul studiu* al tezei și-a propus ca obiectiv analiza percepției pacienților și medicilor cu privire la mini-implanturile ortodontice actuale și la identificarea factorilor care ar putea fi optimizați din prisma acestora. Astfel, s-a avut în vedere evaluarea factorilor care influențează medicii și pacienții să aplice și, respectiv, să accepte tratamentul cu ancoraj scheletal din punct de vedere al temerilor legate de toxicitatea, stabilitatea, osteointegrarea și costul mini-implanturilor ortodontice. Totodată, s-a analizat și satisfacția pacienților și medicilor legată de rezultatele obținute în urma utilizării mini-implanturilor ortodontice. Plecând de la aceste rezultate, celelalte două studii au avut în vedere proiectarea, realizarea și evaluarea unor mini-implanturi experimentale din perspective diferite.

*Studiul in-vitro* a avut ca obiectiv evaluarea răspunsului biologic al celulelor osoase la contactul cu suprafața mini-implanturilor. De asemenea, s-a realizat o evaluare comparativă între mini-implanturile experimentale și unele comerciale în ceea ce privește compoziția chimică și comportamentul acestora față de proliferarea și adeziunea osteoblastelor în cultură.

*Cel de-al treilea studiu* se bazează pe o analiză *in-vivo* a succesului mini-implanturilor experimentale inserate la un model animal prin investigarea unor parametri clinici și paraclinici. Totodată, se are în vedere un studiu comparativ cu implanturile dentare pentru a înțelege mecanismul de vindecare osoasă și posibilitatea de osteointegrare a acestora.

## 4.3. Direcții de cercetare. Beneficii estimate. Limitări

---

Studiul de față a fost analizat și aprobat de către **Comisia de Etică a Cercetării Științifice** a Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, în acord cu standardele naționale și internaționale ale următoarelor tipuri de cercetări:

### A. Ancheta de cohortă

- I. Evaluarea percepției pacienților și medicilor asupra mini-implanturilor ortodontice, ca alternativă de tratament;

- II. Analiza satisfacției pacienților și medicilor cu privire la rezultatele tratamentelor cu mini-implanturi;

#### **B. Cercetări *in-vitro***

- I. Proiectarea și realizarea mini-implanturilor ortodontice tip șurub autoforant;
- II. Elaborarea pilaturii și a discurilor utilizând materialul folosit la fabricarea mini-implanturilor experimentale;
- III. Studiu de microscopie electronică și analiza energiei de dispersie a radiației X în vederea evaluării morfologiei de suprafață și a structurii chimice;
- IV. Studiu de microscopie optică pentru caracterizarea comportamentului osteoblastelor la contactul cu suprafața mini-implanturilor;
- V. Citometria în flux cu CFDA-SE;
- VI. Testul de reducere a MTS și testul de eliberare a lactat dehidrogenazei (LDH) pentru determinarea gradului de toxicitate a materialului din care sunt realizate mini-implanturile experimentale;

#### **C. Cercetări *in-vivo***

- I. Inserarea de mini-implanturi experimentale și implanturi dentare la un model animal;
- II. Determinarea ratei de succes a mini-implanturilor experimentale;
- III. Studiu de microscopie optică și electronică pentru caracterizarea modificărilor histologice de la nivelul țesutului osos după o perioadă de vindecare.

În urma parcurgerii acestor studii, se are în vedere determinarea modului în care este perceput tratamentul ortodontic cu ancoraj scheletal, pe de o parte, de către clinicieni și, pe de altă parte, de către pacienți și așteptările acestora de la sistemul de mini-implanturi. Datele obținute vor fi utilizate pentru proiectarea unui mini-implant experimental, care se dorește a fi o alternativă individualizată de tratament și convenabilă pentru medic din punct de vedere a selecției. Pentru introducerea în practica clinică, va fi testată biocompatibilitatea mini-implantului *in-vitro* și *in-vivo*.

Studiile selectate reprezintă doar o parte din analizele care se impun înaintea introducerii unui dispozitiv pentru utilizare clinică. Astfel, se are în vedere continuarea cercetării prin evaluarea mini-implanturilor din punct de vedere biomecanic, teste de coroziune și analize prin metoda elementelor finite. Urmează apoi studii clinice preliminare pe un număr restrâns de subiecți (1-10 persoane) pentru o evaluare inițială a mini-implanturilor, urmând studii pe eșantioane mai largi de pacienți, prin care pot fi evaluate complicațiile și efectele secundare.

#### 4.4. Materialul de studiu

---

Elementul supus cercetării în cadrul prezentei teze este reprezentat de mini-implantul ortodontic, dispozitiv utilizat ca mijloc de ancoraj în cadrul tratamentului ortodontic al anomaliilor dento-maxilare.

Mini-implantul prototip realizat în laborator prezintă structura clasică (cap, gât, corp), fiecare element component prezentând o serie de caracteristici particulare. Pentru studiul de față, mini-implanturile ortodontice personalizate au fost fabricate utilizând un design experimental, dar configurația poate fi modificată în funcție de necesitățile clinice. Principalul avantaj al utilizării mini-implanturilor experimentale este reprezentat de posibilitatea de personalizare în ceea ce privește forma șurubului, lungimea, diametrul, caracteristicile filetelui (forma, pasul, adâncimea, lățimea, materialul și tratamentul de suprafață), configurația capului, gâtului, corpului și vârfului.

Mini-implanturile ortodontice experimentale au fost proiectate și fabricate în cadrul societății de profil S.C. TEHNOMED IMPEX CO S.A. București, care dispune de mașini-unelte specializate pentru prelucrarea dispozitivelor medicale implantare. Realizarea mini-implanturilor s-a produs conform desenului de execuție și în conformitate cu standardele și normele tehnice caracteristice acestor dispozitive medicale. Acestea au fost realizate din aliaj de titan (Ti-6Al-4V), fără niciun tratament de suprafață.

#### 4.5. Metode de lucru

---

##### 4.5.1. Chestionarul de cercetare științifică

Ancheta de cohortă a presupus utilizarea chestionarelor de cercetare științifică, adresate pe de o parte, pacienților aflați în curs de tratament sau după tratament ortodontic cu mini-implanturi și, pe de altă parte, medicilor care utilizează aceste dispozitive de ancorare. *Chestionarul adresat pacienților* a inclus zece întrebări de opinie, fie cu o singură variantă de răspuns (nouă întrebări), fie cu variante multiple de răspuns (o întrebare). S-au formulat doar întrebări închise. *Chestionarul adresat medicilor* a inclus, de asemenea, zece întrebări de opinie, dintre care opt sunt de tip complement simplu, iar două – de tip complement multiplu. De asemenea, se regăsesc nouă întrebări închise și o întrebare, iar din punct de vedere al numărului de variante de răspuns la alegere, sunt întrebări dihotomice sau nominal-politome.

##### 4.5.2. Metode de cercetare în cadrul studiului in-vitro

###### 4.5.2.1. Microscopie electronică și spectroscopia de radiație X emisă de probă

Analiza microstructurală a mini-implanturilor experimentale și a dispozitivelor control a fost realizată prin microscopie electronică de baleiaj (SEM) și prin analiza energiei de dispersie a radiației X. Dispozitivele au fost analizate în cadrul Laboratorului

de Microscopie Electronică ESEM al Facultății de Știința și Ingineria Materialelor de la Universitatea Politehnică București, cu ajutorul microscopului electronic *Philips XL 30 ESEM TMP*, care este dotat cu un *dispozitiv de tip EDX*.

#### **4.5.2.2. Microscopie optică**

În cadrul analizei *in vitro*, a fost utilizat microscopul optic *EVOS XL Imaging System (ThermoFisher Scientific)*, dotat cu un sistem computerizat care facilitează captarea imaginilor și prelucrarea acestora. Această analiză *in vitro* s-a desfășurat în cadrul Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare în Domeniul Patologiei și Științelor Biomedicale „Victor Babeș”, București. Într-o primă etapă, analiza a constat în evaluarea formei și adeziunii celulelor. Apoi, s-a determinat densitatea celulelor cu ajutorul microscopului optic și a camerei de numărare *Bürker-Türk*.

#### **4.5.2.3. Teste de analiză a proliferării celulare**

Proliferarea celulară a fost evaluată prin citometrie în flux, folosind drept colorant fluorescent *CFDA-SE* (Carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester). Acesta permite evaluarea numărului de celule care proliferază în generații fiice succesive bazate pe diluția unei ½ de colorant la fiecare diviziune celulară.

#### **4.5.2.4. Teste de analiză a citotoxicității celulare**

*Testul de excludere cu albastru tripan* reprezintă o metodă de evaluare a viabilității celulelor prin măsurarea integrității membranei celulare [79,122]. Acest test permite atât analiza viabilității celulare prin excluderea colorantului, cât și determinarea numărului de celule [65]. În paralel, integritatea membranei a fost evaluată prin *testul de eliberare a lactat dehidrogenazei (LDH)*, care este o măsură a apoptozei celulare prin necroză. Această metodă are avantajul că implică o procedură simplă și evită potențialele erori care pot apărea la numărarea celulelor colorate la microscop [65]. Viabilitatea celulară a fost evaluată și prin *testul de reducere a compusului MTS*, care este o metodă colorimetrică pentru determinarea numărului de celule metabolic active în experimente de proliferare celulară și de citotoxicitate [37].

### **4.5.3. Metode de cercetare în cadrul studiului in-vivo**

#### **4.5.3.1. Analiza parametrilor clinici**

O serie de parametri clinici au fost stabiliți pentru a evalua stabilitatea mini-implanturilor inserate la un model animal. Aceștia au fost măsurați imediat după inserarea mini-implanturilor și după o perioadă de vindecare de 3 luni.

#### **4.5.3.2. Analiza parametrilor paraclinici**

Modificările histologice ale țesuturilor periimplantare au fost inițial analizate la microscopul optic, dotat cu un software de prelucrare digitală a imaginilor. De asemenea, lamele au fost examinate la microscopul electronic de transmisie, conectat la o interfață digitală pentru imagini.

## Capitolul 5. STUDIU PRIVIND PERCEPȚIA PACIENȚILOR ȘI MEDICILOR ASUPRA MINI-IMPLANTURILOR ORTODONTICE

---

### 5.1. Obiective

---

Studiul de față se împarte în două direcții de analiză care își propun, ca **obiectiv principal**, determinarea percepției asupra mini-implanturilor ortodontice din două perspective diferite, pe de o parte, a pacienților și, pe de altă parte, a medicilor. Plecând de la această premisă, **obiectivele specifice** ale studiului sunt reprezentate de:

1. determinarea prevalenței pacienților cu mini-implanturi și a medicilor care utilizează aceste dispozitive;
2. determinarea dificultății cu care pacienții acceptă ancorajul scheletal ca alternativă de tratament, atât din perspectiva acestora, cât și a medicilor;
3. evaluarea factorilor care condiționează acceptarea tratamentului de către pacienți;
4. determinarea numărului mediu de mini-implanturi folosite într-un caz;
5. analiza experienței medicilor cu mini-implanturile ortodontice;
6. evaluarea gradului de toleranță a dispozitivelor de către pacienți;
7. determinarea complicațiilor întâlnite de către pacienți și medici;
8. evaluarea percepției medicilor și pacienților asupra costului mini-implanturilor și a raportului eficiență-cost;
9. analiza satisfacției pacienților și medicilor cu privire la rezultatele obținute cu mini-implanturi;
10. preconizarea așteptărilor medicilor de la un sistem nou de ancoraj;
11. asigurarea unui suport științific adresat atât medicilor, cât și pacienților referitor la atitudinea celor care beneficiază de această alternativă de tratament.

### 5.2. Material și metodă

---

Cercetarea de față se înscrie în categoria studiilor de cohortă, fiind o anchetă realizată pe un eșantion selectat de subiecți. În cadrul studiului, au fost concepute două chestionare, unul adresat pacienților și unul medicilor. *Lotul de pacienți* incluși în studiu a fost selectat dintre subiecții care s-au prezentat pentru tratament ortodontic, în perioada ianuarie 2015 – februarie 2016, în cadrul unui cabinet privat de medicină dentară. Criteriile de selecție a pacienților pentru includerea în studiu sunt: necesitatea corectării malocluziilor cu ajutorul mini-implanturilor ortodontice, lipsa oricărui tratament ortodontic în antecedente și acordul pacienților sau aparținătorilor legali (după caz) pentru includerea în studiu, prin semnarea formularului de consimțământ informat.

*Lotul de medici* luat în studiu a fost selectat dintre medicii specialiști ortodonți, indiferent de vârstă sau gradul de experiență. Au fost excluși din studiu medicii care nu utilizează mini-implanturile ortodontice. Chestionarele au fost trimise și completate în format electronic.

După completare, chestionarele au fost analizate din punct de vedere statistic cu ajutorul programului IBM SPSS Statistics 20. S-a realizat inițial baza de date, pe baza căreia s-a realizat *analiza statistică*. Aceasta a inclus următoarele:

- analiza descriptivă (medii, mediane, intervale de confidență, procente);
- analiza variabilelor calitative. Pentru testarea gradului de asociere între două variabile calitative, s-au folosit testele Pearson Chi pătrat (în cazurile în care acesta a fost parametric), Fisher Exact Test (în cazurile în care rezultatele nu au urmărit o distribuție gaussiană) și testul Mantel-Haenszel. Rezultatele semnificativ statistice ale testelor de asociere au fost verificate suplimentar, în unele cazuri, prin aplicarea aproximării Monte-Carlo, cu un interval de confidență de 99% la 10 000 de cazuri.
- compararea variabilelor calitative cu cele cantitative cu ajutorul testului Compare Means, corelat cu testul ANOVA pentru stabilirea nivelului de semnificație statistică.

Nivelul de semnificație statistic stabilit pentru ca o relație statistică să fie semnificativă a fost stabilit la o valoare probabilistică  $p < 0.05$ .

### 5.3. Rezultate

---

#### *Chestionarul adresat pacienților*

Numărul total de pacienți examinați a fost de 88, iar dintre aceștia, unui număr de 48 de subiecți le-a fost propus tratamentul cu mini-implanturi ortodontice. În final, 23 de pacienți (47.9%) au acceptat această variantă de tratament și au completat chestionarul. Repartizarea pe sexe a indicat că 28% dintre subiecții lotului de studiu sunt de sex masculin și 72% de sex feminin. Vârsta medie a lotului de pacienți la momentul completării chestionarului a fost de 25.83 ani, ușor mai ridicată în cazul persoanelor de sex feminin (25.94 ani) decât a celor de sex masculin (23.40 ani). Majoritatea pacienților care au completat chestionarul (78.26%) au fost adulți și au studii superioare. Un procent de 13.04% dintre subiecți au fost tineri cu studii medii, iar 8.7% au fost adolescenți elevi, care sunt în curs de urmare a studiilor de învățământ pre-universitar.

Majoritatea au beneficiat de tratament cu 2 mini-implanturi (47.8%), iar un procent semnificativ de subiecți au avut un singur mini-implant inserat (39.1%). Majoritatea pacienților au acceptat de la început tratamentul propus (56.5%), însă aproximativ o treime dintre subiecți (34.8%) au fost reticenți la început, solicitând

medicului explicații suplimentare. Corelând gradul de acceptare al tratamentului cu mini-implanturi cu educația subiecților, se poate observa că nivelul cel mai mare de îngrijorare a fost identificat în rândul persoanelor cu studii superioare, iar nivelul cel mai mic de acceptare de la început la persoanele cu studii elementare și medii (Pearson  $\chi^2 = 2.97$ ,  $p = 0.573$ ).

Referitor la temerile pacienților legate de tratamentul cu mini-implanturi, un scor relativ egal s-a înregistrat între procentul de subiecți fără temeri (47.8%) și cei îngrijorați de intervenția de inserare a mini-implantului (43.5%). În total, 52.17% au avut îngrijorări/temeri referitoare la tratamentul cu mini-implanturi. Nu există niciun fel de diferențe în ceea ce privește răspunsurile funcție de sexul, vârsta sau educația respondenților. Mobilitatea mini-implanturilor în cursul tratamentului s-a înregistrat în 39% dintre cazuri, dintre care 34.67% de sex feminin și 4.33% de sex masculin. Persoanele cu studii superioare au identificat mult mai rar mobilitatea mini-implantului comparativ cu cele cu studii elementare (Pearson  $\chi^2 = 5.0$ ,  $p = 0.08$ ). În general, nu s-au întâmpinat dificultăți la îndepărtarea mini-implanturilor, acestea fiind relatate de un singur subiect, de sex masculin. Din totalul respondenților, mai mult de jumătate (56.52%) au considerat costul mini-implanturilor drept unul mediu. Interesant este că persoanele cu studii elementare și medii au fost singurele care au considerat costul mini-implanturilor ca fiind unul mediu (Pearson  $\chi^2 = 4.9$ ,  $p = 0.29$ ).

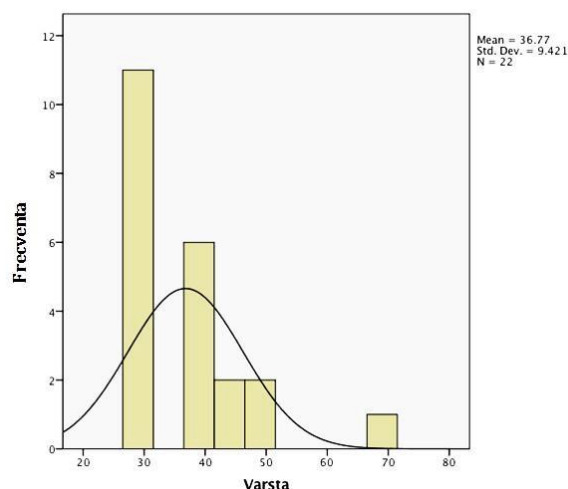
Gradul de satisfacție generat de rezultatul tratamentului cu mini-implanturi a fost unul destul de mare (86.96%). Persoanele de sex masculin au tins să fie mai nemulțumite de rezultatul obținut (8.69% din cei 13.04% subiecți nemulțumiți). Subiecții nemulțumiți de rezultatul tratamentului cu mini-implanturi au considerat costul procedurii ca fiind ridicat, asociere statistic semnificativă (Pearson  $\chi^2 = 9.77$ ,  $p = 0.008$ ). Majoritatea respondenților au considerat că mini-implanturile au un raport eficiență-cost bun (69.6%). Subiecții de sex masculin au considerat că mini-implanturile au fie un raport bun eficiență-preț, fie o eficiență scăzută raportată la preț, în timp ce persoanele de sex feminin au avut o plajă mai largă de răspunsuri (Pearson  $\chi^2 = 8.67$ ,  $p = 0.034$ ). O treime dintre subiecții care au considerat mini-implanturile a avea un cost ridicat au considerat eficiența scăzută raportată la preț, în timp ce jumătate au considerat că eficiența este crescută, chiar în condițiile unui preț ridicat. Asocierile sunt statistic semnificative (Pearson  $\chi^2 = 22.8$ ,  $p = 0.001$ ). Mai mult de jumătate dintre respondenți au fost încântați de modul în care a decurs tratamentul, rezultatele obținute fiind cele așteptate (61%). În general cei încântați de modul în care a decurs tratamentul au considerat că acesta a avut un raport bun eficiență-preț (**Tabelul 5.IX**), în timp ce cei care au suportat greu tratamentul au considerat că acesta a avut o eficiență scăzută (Pearson  $\chi^2 = 15.1$ ,  $p = 0.01$ ).

**Tabelul 5.IX – Percepția pacienților privind rezultatul obținut în corelație cu raportul eficiență-preț**

		Percepția pacienților la finalul tratamentului			Total
		Incântat/ă	Greu tolerabil, dar multumit/ă	Nemulțumit/ă	
Raportul eficiență-preț	Raort bun	47.85	21.75	0	69.6
	Eficiență ↑ Preț ↑	8.7	4.35	0	13.05
	Eficiență ↑ Preț ↓	4.35	0	4.3	8.65
	Eficiență ↓ Preț ↑	0	8.7	0	8.7
Total		60.9	34.8	4.3	100

### *Chestionarul adresat medicilor*

Dintre cei 50 de medici chestionați dacă utilizează mini-implanturile ortodontice în practica clinică, doar 22 (44%) dintre aceștia au răspuns afirmativ și au completat chestionarul. Repartizarea pe sexe a lotului de medici indică un procent de 40.9% subiecți de sex masculin și 59.1% de sex feminin. Vârsta medie a medicilor care au răspuns la chestionar a fost de  $36.7 \pm 11.7$  ani, ușor mai redusă pentru persoanele de sex feminin față de cele de sex masculin (36.1 ani versus 37.8 ani). Distribuția respondenților pe grupe de vârstă este prezentată în histograma de mai jos (**Figura 5.5**). În ceea ce privește experiența medicilor cu mini-implanturile ortodontice, majoritatea respondenților au mai mult de 3 ani experiență (41%). Vârsta medie a persoanelor tinde să crească direct proporțional cu experiența acestora în utilizarea mini-implanturilor (ANOVA,  $F = 1.34$ ,  $p = 0.29$ ).



**Figura 5.5 - Histograma distribuției subiecților pe grupe de vârstă**

În general, persoanele de sex masculin au avut mai multă experiență în ceea ce privește utilizarea mini-implanturilor (Fisher = 6.25,  $p = 0.062$ ). În ceea ce privește numărul de pacienți care beneficiază în medie de ancorajul scheletal pe parcursul unei luni calendaristice, acesta este, pentru majoritatea subiecților (50%), sub 5. Persoanele de sex masculin tind să prezinte un număr mai mare de pacienți tratați cu mini-implanturi comparativ cu cele de sex feminin. Deși asocierea nu este statistic semnificativă (Pearson Chi2 = 4.7,  $p = 0.09$ ), trendul este unul de asociere liniară (testul Mantel-Haenszel are o valoare de 3.8,  $p = 0.05$ ). Majoritatea respondenților au considerat că pacienții au avut nevoie de explicații suplimentare înainte de a accepta această alternativă de tratament (50%). Doar 9.1% dintre respondenți au primit refuzuri, în majoritatea cazurilor, din partea pacienților. Majoritatea respondenților au avut drept principală temere referitoare la tratamentul cu mini-implanturi stabilitatea acestora (59.1%). Respondenții care au raportat ca principală temere stabilitatea mini-implanturilor, au declarat că mobilizarea apare cu precădere în prima lună de la inserare (40.9% din 59.09%). Asocierea între cele două variabile este extrem de puternică (test Fisher = 10.7,  $p = 0.007$ ).

Respondenții care au raportat că nu prezintă temeri legate de tratamentul cu ancoraj scheletal au declarat că, de regulă, nu se întâmplă ca mini-implanturile să se mobilizeze (test Fisher = 8.7,  $p = 0.048$ ). Majoritatea medicilor (90.91%) nu au observat dificultăți la îndepărtarea mini-implanturilor, doar 9% dintre respondenți precizând oarecare greutate la dezinsertie. Majoritatea respondenților (59.09%) consideră costul mini-implanturilor ca fiind unul mediu. Respondenții care utilizează mai frecvent mini-implanturile consideră mai degrabă costul lor ca fiind ridicat, în timp ce cei care folosesc un număr intermediar de mini-implanturi consideră mai frecvent costul lor ca fiind redus (testul Fisher = 8.09,  $p = 0.045$ ). Majoritatea subiecților (95.5%) sunt mulțumiți cu rezultatele obținute cu ajutorul mini-implanturilor. Aproape jumătate dintre respondenți (45.45%) au considerat că mini-implanturile au un raport eficiență-preț bun. Medicii care folosesc mai rar mini-implanturile au considerat mai degrabă că ele au un raport eficiență-preț bun, în timp ce cei care utilizează mai frecvent aceste dispozitive au perceput că eficiența este crescută, dar în condițiile unui preț crescut (Fisher = 13.77,  $p = 0.005$ ). Atunci când au fost întrebați ce ar schimba la sistemul de mini-implanturi utilizat, majoritatea au ales designul (54.54%), urmat de cost (45.45%).

#### 5.4. Discuții

---

Din punct de vedere al gradului de acceptare, tratamentul cu mini-implanturi a fost consimțit de mai puțin de jumătate (47.9%) dintre pacienții luați în studiu. În ceea ce privește medicii, procentul celor care utilizează mini-implanturile în practica clinică a fost de 44%, cu o pondere ușor mai mare a subiecților de sex feminin (59.1%). Dificultatea cu

care subiecții acceptă tratamentul cu ancoraj scheletal a fost evaluată atât din perspectiva pacienților, cât și a medicilor. Circa jumătate (43.5%) dintre pacienți au fost reticenti în prima fază, fiindu-le necesare informații suplimentare din partea medicului, de pe internet sau de la prieteni. Aproximativ aceeași proporție (50%) a fost raportată și de către medici, care au considerat că, mai frecvent, acceptarea mini-implanturilor a fost condiționată de facilitarea unor explicații suplimentare. Mai mult, un studiu relatează un procent mult mai mare de pacienți (90%) care au cerut informații cu privire la durata intervenției și tehnica de inserare, la avantajele utilizării mini-implanturilor, perioada de timp necesară menținerii dispozitivelor în cavitatea bucală sau la dimensiunea acestora [12]. De asemenea, mai mult de jumătate dintre respondenți (52.17%) au avut temeri sau îngrijorători legate de tratamentul cu mini-implanturi, care vizau intervenția de inserare (majoritatea), îndepărtarea dificilă sau posibila toxicitate.

Pentru studiul de față, majoritatea pacienților au beneficiat de tratament cu 2 mini-implanturi, acestea fiind deseori necesare în cazurile de retrudare a grupului frontal, de intruzie a dinților anteriori sau posteriori sau distalizarea grupului lateral. Un procent semnificativ dintre respondenți a beneficiat de un singur mini-implant ortodontic, necesar pentru tracțiunea unui dinte inclus, pentru retrudarea unui molar basculat sau pentru ancoraj indirect. Un studiu a concluzionat faptul că numărul de mini-implanturi inserate nu influențează în mod direct percepția pacienților asupra tratamentului [116]. În ceea ce privește complicațiile, mobilitatea mini-implanturilor s-a înregistrat în 39% dintre cazuri, dintre care majoritatea (34.67%) la sexul feminin. În literatură, rata de stabilitate a mini-implanturilor a fost raportată ca fiind între 59.4 - 100%. Nu s-au înregistrat însă diferențe semnificativ statistice în funcție de sex [88,159].

Mobilizarea dispozitivelor este complicația de care se tem și majoritatea medicilor (50%). Aceștia au raportat că mobilizarea se produce preponderent în prima lună de la inserare și a fost semnalată de două treimi dintre subiecți. Îndepărtarea mini-implanturilor s-a realizat fără dificultate în majoritatea cazurilor, situație raportată atât de către pacienți, cât și de către medici. Se confirmă, astfel, faptul că osteointegrarea chiar dacă se produce, nu este suficient de puternică pentru a împiedica dezinserția dispozitivelor. Aproximativ jumătate dintre respondenții celor două chestionare (56.52% dintre pacienți și 59.09% dintre medici) au perceput costul mini-implanturilor ca fiind unul mediu. Procente semnificative (26.09% dintre pacienți și 31.82% dintre medici) au fost înregistrate și de cei care consideră prețul ca fiind ridicat. Pacienții care au considerat costul dispozitivelor ca fiind mare au fost, în general, cei nemulțumiți de rezultat. Raportul eficiență-cost a fost apreciat ca fiind unul bun de către majoritatea pacienților (69.6%), însă de un procent mai mic de medici (45.45%), care consideră eficiența mini-implanturilor ca fiind crescută, în condițiile unui preț prea mare sau prea mic. În general, gradul de satisfacție al

respondenților cu privire la rezultatele tratamentului cu mini-implanturi a fost mare (86.96% dintre pacienți și 95.5% dintre medici). În literatură, s-a raportat o proporție similară a pacienților mulțumiți de rezultatele obținute: 90% [12], 73% [129], 94.8% [116].

Legat de experiența generală a pacienților cu privire la tratamentul cu mini-implanturi, majoritatea (61%) au fost încântați de rezultate, însă aproximativ o treime (34.8%) au relatat dificultăți în toleranța dispozitivelor. Aceștia din urmă se regăsesc printre cei care au considerat eficiența tratamentului ca fiind scăzută, asociere statistic semnificativă ( $p = 0.01$ ). În literatură, a fost înregistrat un procent de 60% dintre pacienți care au raportat disconfort la igienizare, la masticăție sau unul psihologic [12]. Alte studii au raportat ca efecte adverse ulcere aftoase [92], retenția alimentelor în jurul mini-implanturilor și, într-o proporție mai mică, s-au plâns de dificultăți la vorbire [71,129]. Experiența medicilor cu mini-implanturile a fost evaluată prin determinarea perioadei de utilizare a acestor dispozitive în practica curentă. Majoritatea respondenților (41%) folosesc mini-implanturile de o perioadă mai mare de 3 ani, iar acest lucru a fost întâlnit cu predominanță la sexul masculin. Pe de altă parte, experiența medicilor a fost estimată și prin determinarea numărului de pacienți tratați cu ancoraj scheletal pe parcursul unei luni calendaristice. Pentru studiul de față, în majoritatea cazurilor, mai puțin de 5 pacienți beneficiază lunar de mini-implanturi. Cea mai mare parte a medicilor (86.36%) au relatat faptul că ar modifica sistemul de mini-implanturi folosit. Aceștia au considerat necesare schimbări în special la nivelul designului, urmat de cost.

O limitare a studiului este reprezentată de loturile mici de subiecți (23 pacienți, 22 medici). Alte studii similare din literatură includ, de asemenea, eșantioane relativ mici de subiecți: 10 [12], 25 [72,73], 30 [92,129], 37 [71], 55 [116]. Acest lucru se datorează faptului că mini-implanturile nu au devenit dispozitive utilizate la scară largă, însă interesul pentru acestea este în creștere.

## 5.5. Concluzii

---

Rezultatele studiului au relevat faptul că majoritatea pacienților și medicilor au manifestat o atitudine pozitivă față de rezultatele tratamentului cu mini-implanturi. Totuși, o serie de inconveniente au fost raportate de aceștia privind stabilitatea, costul sau designul mini-implanturilor. Toate aceste elemente necesită o evaluare atentă pentru a îmbunătăți experiența medicilor și pacienților cu mini-implanturile. Datele obținute pot servi ca punct de plecare pentru determinarea factorilor care influențează acceptarea tratamentului cu mini-implanturi ortodontice și, astfel, poate crește adresabilitatea medicilor și pacienților față de această alternativă de tratament.

## Capitolul 6. STUDIU IN-VITRO PRIVIND COMPORTAMENTUL MINI-IMPLANTURILOR ORTODONTICE FAȚA DE PROLIFERAREA ȘI ADEZIUNEA OSTEOLAȘTILOR UMANI

---

### 6.1. Obiective

---

Studiul in-vitro își propune ca **obiectiv principal** determinarea biocompatibilității celulare a unor mini-implanturi experimentale, realizate în laborator, în vederea determinării posibilității de utilizare in-vivo. **Obiectivele specifice** ale studiului sunt reprezentate de:

1. evaluarea comportamentului unei linii celulare de osteoblaste umane în contact cu o serie de mini-implanturi personalizate din aliaj de Ti, în ceea ce privește proliferarea celulară și gradul de adezivitate al osteoblastelor în cultură;
2. determinarea comportamentului celulelor osoase față de o serie de dispozitive control: mini-implanturi comerciale Orlus, discuri, pilitură;
3. determinarea gradului de toxicitate al materialului din care sunt realizate mini-implanturile experimentale;
4. analiza structurii chimice și a morfologiei de suprafață a mini-implanturilor pentru a identifica dacă aceste caracteristici au o influență asupra proliferării și adeziunii osteoblastelor.

### 6.2. Material și metodă

---

#### 6.2.1. Mini-implanturi experimentale și alte probe luate în studiu

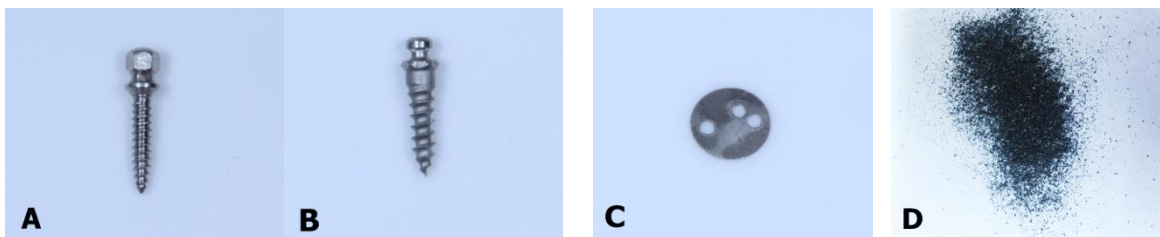
Mini-implanturile experimentale (MIe) prezintă corpul de formă conică și filet fierăstrău unic. Gâtul și porțiunea crestală a corpului sunt netede, fără microfilete. MIe sunt autoforante datorită vârfului tip tirbușon și filetelor ascuțite. MIe (care au fost definite ca **Grupa A**) au fost evaluate comparativ cu o serie de dispozitive, care aparțin următoarelor grupe: **Grupa B** – mini-implanturi comerciale (Orlus, Ortholution, Coreea); **Grupa C** – discuri, obținute din același aliaj folosit ca și pentru MIe; **Grupa D** – pilitură, realizată din același aliaj ca și MIe, și alcătuită din particule cu dimensiune sub 100 μm. Morfologia celor patru probe luate în studiu este redată în **Figura 6.1**, iar detaliile tehnice sunt prezentate în **Tabelul 6.I**.

#### 6.2.2. Designul studiului

În cadrul celor două analize, s-a utilizat un număr total de  $n = 24$  mini-implanturi (câte 12 probe din grupele A și B), precum și  $n = 6$  discuri (din grupa C) și pilitură (**Figura 6.1**).

## 1. Caracterizarea de suprafață și analiza compoziției chimice a mini-implanturilor ortodontice

Pentru prima evaluare, au fost analizat  $n = 2$  mini-implanturi din fiecare din grupele A și B. Morfologia suprafeței mini-implanturilor a fost analizată la microscopul electronic de scanare. Mini-implanturile au fost evaluate la diferite niveluri (cap, corp, sus) și puteri de magnificare (25x, 100x, 200x, 500x și 2000x). Evaluarea cantitativă a concentrației fiecărui element chimic prezent în aliajul folosit pentru fabricarea celor două grupuri de mini-implanturi analizate (A/B) a fost realizată cu ajutorul spectroscopiei de raze X.



**Figura 6.1 – Grupele de eșantioane din aliaj de Ti luate în studiu: mini-implant experimental (A), mini-implant referință Oralus (B), disc (C) și pilitură (D)**

## 2. Analiza *in vitro* în culturi de osteoblaste umane

Intrucât celulele osoase sunt expuse direct efectului citotoxic al ionilor metalici eliberați din mini-implanturile ortodontice, studiul a fost realizat pe osteoblastele umane primare standardizate (*PromoCell, C-12720*). Pentru propagarea celulelor, osteoblastele umane (HOb) au fost însămânțate în flaskuri de cultură T25 (25 cm<sup>2</sup>), la o densitate între 10.000-20.000 celule/cm<sup>2</sup>, și au fost cultivate în mediu de creștere specific osteoblastelor (*PromoCell, C-27001*), la 37°C în atmosferă cu 95% aer și 5% CO<sub>2</sub>. Densitatea celulelor detașate în suspensie a fost măsurată utilizând o cameră de numărare Bürker-Türk. Celulele au fost cultivate în plăci cu 24 sau 96 de godeuri, în prezența sau absența dispozitivelor din aliaj de Ti. Celulele au fost analizate la diferite momente de timp după punerea în contact a Hob cu dispozitivele din aliaj de Ti (24, 48 și 72 de ore), în ceea ce privește viabilitatea celulară, adeziunea și proliferarea.

Viabilitatea celulară a fost evaluată prin *testul de excludere cu albastru de tripan*, iar forma HOb și adeziunea celulelor la substraturile solide (dispozitivele din aliaj de Ti) au fost mai întâi investigate prin microscopie optică. Proliferarea celulară a fost evaluată prin citometrie în flux, folosind drept colorant fluorescent *CFDA-SE (Vybrant® CFDA-SE Cell Tracer Kit, ThermoFisher Scientific)*, în conformitate cu instrucțiunile tehnice furnizate de producător, iar apoi au fost însămânțate pentru experimente în plăci cu 24 de godeuri, cu sau fără probele din aliaj de Ti. Datele cu privire la fluorescența intracelulară a HOb marcate cu CFDA-SE au fost achiziționate și prelucrate cu ajutorul unui citometru în

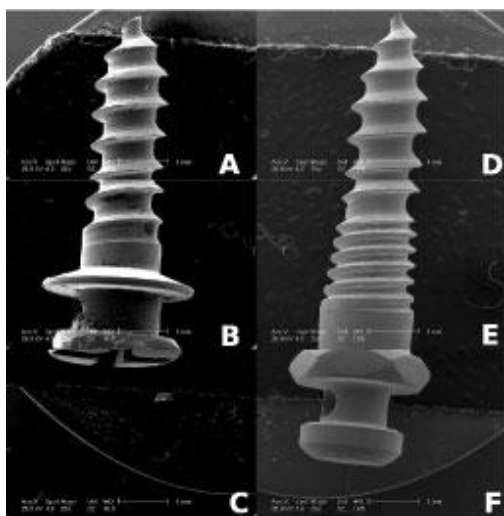
flux FACSCalibur și, respectiv, cu software-ul *CellQuest*. Distribuția celulelor fiice în generații a fost obținută prin prelucrarea datelor de la citometria în flux cu software-ul *ModFit*.

Au fost utilizate teste specifice pentru evaluarea potențialului de acțiune citotoxică a discurilor din aliaj de titan și a mediului de cultură tratat cu pilitură. Viabilitatea celulară a fost evaluată prin *testul de reducere a MTS* și, în paralel, integritatea membranei a fost evaluată prin *testul de eliberare a lactat dehidrogenazei (LDH)*. Eliberarea LDH a fost măsurată prin testul de citotoxicitate non-radioactiv *CytoTox 96® (Promega, SUA)*. Reducerea MTS a fost măsurată prin testul de proliferare celulară *CellTiter 96®Aqueous One Solution (Promega, SUA)*.

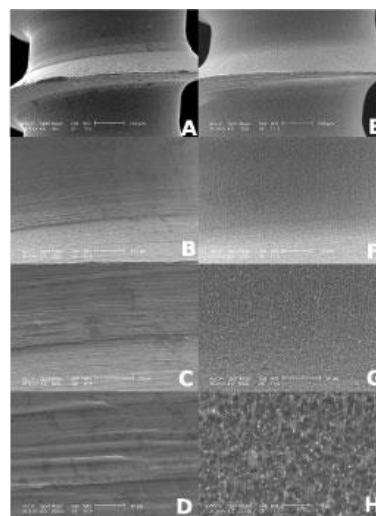
### 6.3. Rezultate

#### *Morfologia de suprafață mini-implanturilor și compoziția chimică*

Analiza SEM a morfologiei mini-implanturilor a demonstrat că suprafața MIE diferă de cea a mini-șuruburilor comerciale. MIE au o suprafață rugoasă caracterizată printr-un aspect de șanțuri concentrice, rezultat al prelucrării mecanice de suprafață. Pe de altă parte, grupul referință de mini-implanturi prezintă un finisaj de suprafață mai neted, în special în zona capului și a gâtului (**Figura 6.2**). De asemenea, acesta prezintă o geometrie neregulată, cu fisuri și microspații înguste (**Figura 6.3**). Aliaje din care sunt realizate cele două tipuri de mini-implanturi investigate prezintă în mare parte procente similare de titan, aluminiu și vanadiu.



**Figura 6.2** – Imagini SEM (x25) ale mini-implantului experimental (a,b,c) și referință (d,e,f)

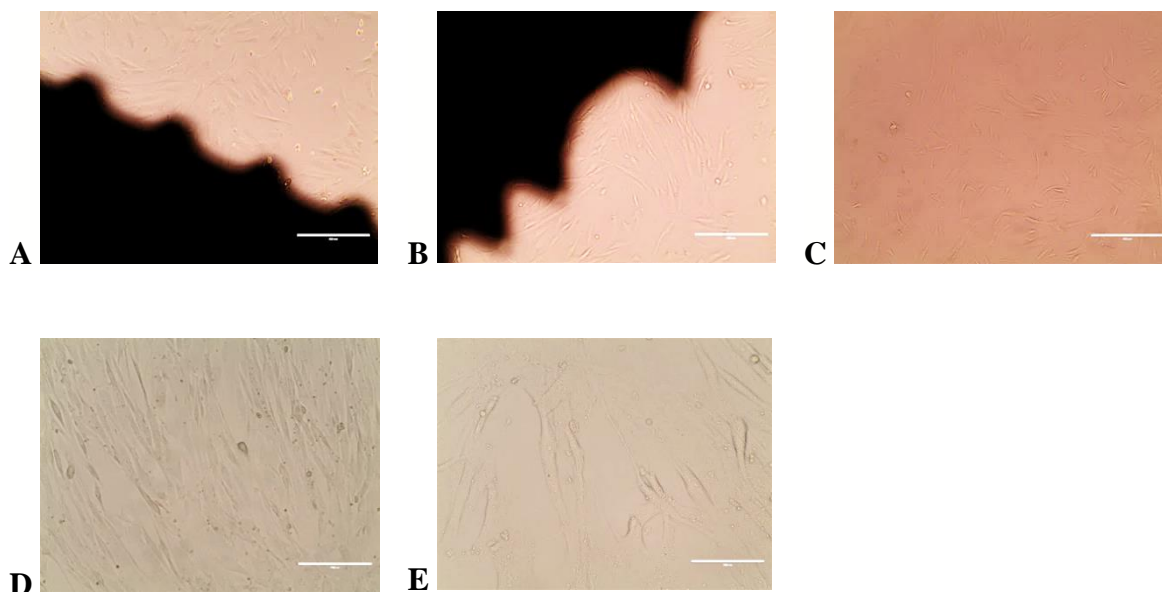


**Figura 6.3** – Imagini SEM (100x, 200x, 500x, 2000x) ale mini-implantului experimental (a-d) și referință (e-h)

### Studiul *in vitro*

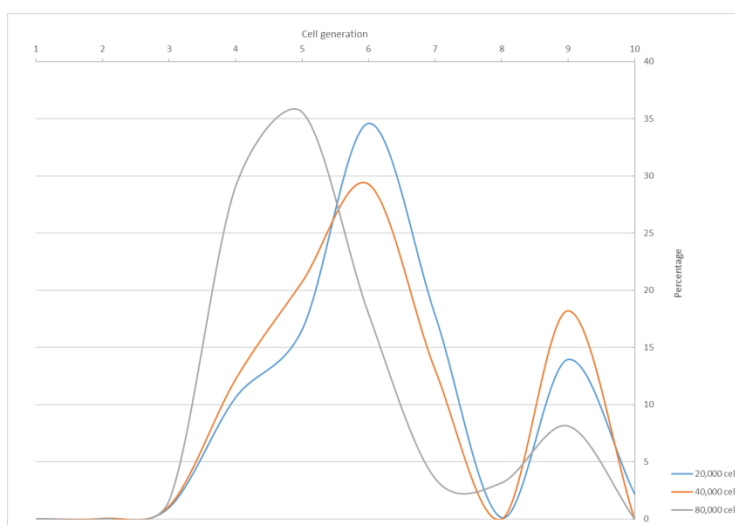
Datele experimentale au arătat că discurile din aliaj Ti au diminuat cu 55% reducerea MTS crescând în același timp doar cu 12% eliberarea de LDH de către HOb. Aceste rezultate indică faptul că HOb ar putea avea o aderență mai mică pe discurile din aliaj de Ti decât pe suprafața obișnuită a plăcilor de cultură, fie din cauza materialului sau a caracteristicilor de suprafață. O altă ipoteză a studiului a fost aceea că deteriorarea mini-implanturilor și eliberarea de molecule libere pot influența comportamentul HOb în cultură. Acest proces a fost mimat *in vitro* prin cultivarea HOb în mediul de cultură, care a fost pre-tratat timp de 7 ore cu pilitură din aliaj de Ti. Testul de reducere a MTS a demonstrat faptul că mediul de cultură tratat cu pilitură nu a avut niciun efect semnificativ statistic asupra numărului de celule metabolic active. Rezultatele au indicat faptul că aliajul de Ti investigat poate reduce numărul de HOb metabolic active, care au aderat la discuri, fapt care ar putea rezulta din efectele de suprafață și nu din eliberarea de molecule libere.

În ceea ce privește interacțiunea dintre HOb și mini-implanturi, forma HOb și adeziunea lor la fundul godeului de cultură nu au fost influențate în mod semnificativ de contactul celulelor cu mini-implanturile (atât în cazul celor experimentale, cât și comerciale), așa cum se observă în imaginile de microscopie optică (Figura 6.6, Figura 6.7). Mai mult decât atât, HOb au aderat bine la suprafața mini-implantului.

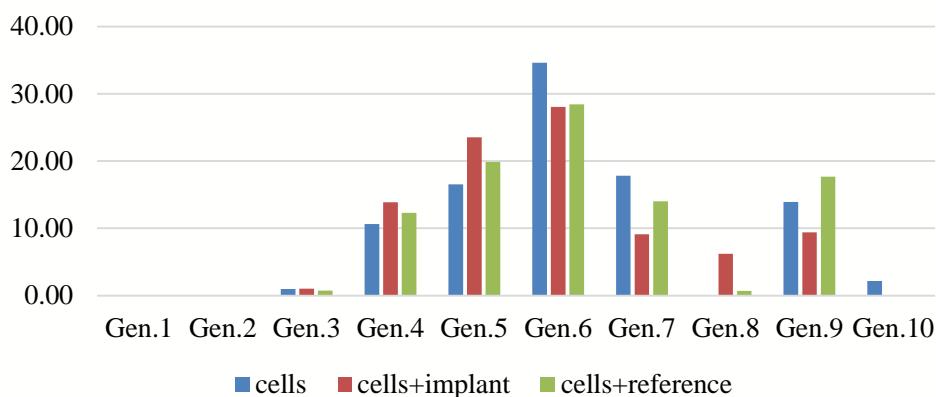


**Figura 6.6 – Culturi de osteoblaste umane: A. cu mini-implantul experimental (10x); B. cu mini-implantul referință (10x); C. fără niciun mini-implant (10x); D. fără mini-implant (20x); E. fără mini-implant (40x).**

În continuare, s-a analizat dacă mini-implanturile pot influența proliferarea HOB. Utilizând citometria în flux cu CFDA-SE, a fost evaluată distribuția HOB în generații fiice în absența și în prezența mini-implanturilor. Datele preliminare au indicat că creșterea HOB a fost dependentă de densitatea de însămânțare a celulelor (20.000, 40.000 și 80.000 celule/cm<sup>2</sup>). Astfel, densitatea optimă de însămânțare a HOB a fost identificată ca fiind între 20.000 și 40.000 celule/cm<sup>2</sup> (**Figura 6.8**) și, prin urmare, experimentele s-au realizat în continuare, la o densitate de însămânțare de 20.000 celule/cm<sup>2</sup>. Multiplicarea HOB nu a fost influențată semnificativ de prezența mini-implanturilor în plăcile de cultură, așa cum se observă prin distribuția aproape identică a celulelor în generații de celule fiice, în prezența sau absența mini-implanturilor experimentale și comerciale (**Figura 6.9**).



**Figura 6.8 – Identificarea densității optime de însămânțare a celulelor**



**Figura 6.9 – Modelul de multiplicare a osteoblastelor umane.**

## 6.4. Discuții

---

Studiul de față a avut drept scop evaluarea *in vitro* a biocompatibilității mini-implanturilor din aliaj de Ti, prin utilizarea unui model relevant pentru remodelarea osului alveolar în timpul interacțiunii cu mini-implanturile ortodontice. Rezultatele au subliniat faptul că mini-implanturile personalizate investigate au fost în același interval de biocompatibilitate ca și mini-șuruburile referință în ceea ce privește interacțiunea cu osteoblastele umane.

Mini-implanturile comerciale au fost folosite ca probe control, cu scopul de a evalua modul în care caracteristicile mini-implantului influențează adeziunea, proliferarea și diferențierea celulelor osoase. Principala diferență dintre cele două tipuri de mini-șuruburi este suprafața care vine în contact direct cu osul. Discurile din aliaj Ti au fost incluse în analiză pentru a imita suprafața plană dintre filetele mini-implantului și pentru a evalua comportamentul celulelor osoase în raport cu forma suprafeței. Pilitura a fost folosită pentru a testa potențialul citotoxic al aliajului folosit pentru mini-implanturile experimentale.

Analiza SEM a fost realizată cu scopul de a obține o analiză descriptivă a designului mini-implanturilor, luând în considerare că suprafața care vine în contact cu osul influențează adeziunea și activitatea osteoblastelor. Cercetarea de față a evidențiat diferențe între rugozitatea de suprafață a celor două tipuri de mini-șuruburi investigate, determinate de tehnologia lor diferită de prelucrare. Corelând influența celor două tipuri de mini-șuruburi asupra proliferării, diferențierii și adeziunii Hob cu caracteristicile lor de suprafață, am putea presupune că tratamentul de suprafață, precum și finisarea influențează comportamentul HOB în contact strâns cu suprafața mini-implantului. Mai mult, analiza EDX a demonstrat că cele două tipuri de mini-implanturi au aceleași elemente în compoziția chimică, cu o diferență mică între concentrațiile găsite în cadrul fiecărui aliaj. Mini-implanturile experimentale prezintă o cantitate mai mică de titan (89,69%) în comparație cu mini-șuruburile Orlus (90,39%). De asemenea, acestea au o cantitate mai mare de aluminiu (7,57%) și o cantitate mai mică de vanadiu (2,74%), comparativ cu valorile înregistrate pentru mini-implantul Orlus (6,8%, respectiv 2,81%). Reducerea concentrației de titan și creșterea concentrației de aluminiu în cazul mini-implanturilor experimentale ar putea determina o rezistență mecanică mai mare a aliajului.

În literatură există relativ puține studii care analizează potențialul citotoxic al mini-implanturilor ortodontice. Bueno și Basting evaluează influența unor mini-implanturi din aliaj de Ti asupra osteoblastelor și concluzionează faptul că proliferarea acestora a crescut de la 24 la 72 de ore. De asemenea, adeziunea celulară la 72 ore a sugerat

existența zonelor de remodelare osoasă, necesare inițierii procesului de osteointegrare [13].

Malkoç *et al.* au studiat citotoxicitatea a 5 tipuri de mini-implanturi realizate din două aliaje diferite (oțel inoxidabil și aliaj de Ti) folosind un sistem de analiză a celulelor în timp real. Nu s-au observat efecte adverse asupra fibroblaștilor gingivali indiferent de material, însă s-a înregistrat o scădere semnificativă a viabilității osteoblastelor în cazul mini-șuruburilor din oțel. De asemenea, același material a avut efecte diferite asupra osteoblastelor, demonstrând faptul că efectele citotoxice depind de compoziția, suprafața și mărimea particulelor materialului [82].

Biocompatibilitatea aceluiași cinci tipuri de mini-implanturi a fost evaluată în raport cu fibroblastele gingivale, folosind testele de citotoxicitate MTT și LDH. S-a observat că nu există efecte adverse ale elementelor solubilizate de la nivelul mini-implanturilor și nici efecte citotoxice pe termen lung asupra celulelor din cavitatea orală [11]. La analiza citotoxicității unui alt grup de șase mini-implanturi, dispozitivele cu cea mai mare cantitate de vanadiu și aluminiu au arătat cea mai mică viabilitate celulară la 24, 48, 72 și 168 de ore. De asemenea, au fost raportate efecte diferite asupra fibroblastelor, acestea fiind determinate de prezența altor elemente în compoziție, cum ar fi carbonul, titanul, fierul, cuprul, oxigenul și azotul [117].

## 6.5. Concluzii

---

Mini-implanturile din aliaj de Ti analizate în studiul de față nu au exercitat niciun efect major asupra proliferării, diferențierii și adeziunii Hob. Mİe au avut un profil de citotoxicitate scăzut asupra Hob, aproape similar cu mini-implanturile comerciale. Prin urmare, acestea sunt candidate promițătoare pentru testarea în continuare pe modele animale, care sunt obligatorii pentru evaluarea modului în care aceste caracteristici de proiectare influențează stabilitatea Mİe. Trăsăturile specifice de proiectare ale mini-implanturilor sunt de importanță majoră pentru succesul ancorajului scheletal. Ținând cont și de faptul că fiecare pacient prezintă o condiție biologică unică, o selecție personalizată a mini-implanturilor ar putea crește rata de succes a tratamentului cu mini-șuruburi ortodontice.

## Capitolul 7. CERCETARI EXPLORATORII-EXPERIMENTALE ASUPRA MODIFICARILOR HISTOLOGICE ALE ȚESUTULUI OSOS DIN JURUL MINI-IMPLANTURILOR ORTODONTICE

---

### 7.1. Obiective

---

Studiul de față își propune, ca **obiectiv general**, analiza *in-vivo* a răspunsului țesutului osos la inserarea mini-implanturilor ortodontice experimentale în vederea înțelegerii mecanismelor care stau la baza apariției stabilității primare și secundare. De asemenea, studiul are o serie de **obiective specifice**, printre care:

1. testarea *in-vivo* a biocompatibilității unui nou tip de mini-implant realizat în laborator;
2. evaluarea posibilității de osteointegrare a mini-implanturilor ortodontice studiate;
3. analiza comparativă a mini-implanturilor ortodontice cu implanturile protetice în ceea ce privește răspunsul țesutului osos după o perioadă de vindecare;
4. descrierea procedurilor chirurgicale utilizate pentru studierea biocompatibilității unor biomateriale noi, folosind oaia ca animal de experiență;
5. determinarea ratei de succes a mini-implanturilor ortodontice inserate în os.

### 7.2. Material și metodă

---

Unitățile de studiu au fost reprezentate de mini-implanturiLE ortodontice experimentale și de implanturi dentare comerciale. S-a utilizat un număr de 9 mini-implanturi ortodontice, cu lungimi de 12 mm și diametre de 1.6 mm. De asemenea, au fost utilizate 2 implanturi dentare (Alpha-Bio, Israel), cu următoarele dimensiuni: lungime 10 mm și diametru de 3.75 mm și, respectiv, lungime de 11.5 mm și diametru de 3.75 mm.

Pentru studiul de față s-a ales ca model de cercetare oaia, specie inclusă în standardele internaționale care reglementează modul de testare a materialelor implantate în os [113]. Mini-implanturile luate în studiu au fost inserate la nivelul osului pelvian a unui animal din specia *Ovis aries*, rasa Karakul, în vârstă de 2 ani și 4 luni și cu o greutate de 38 kg.

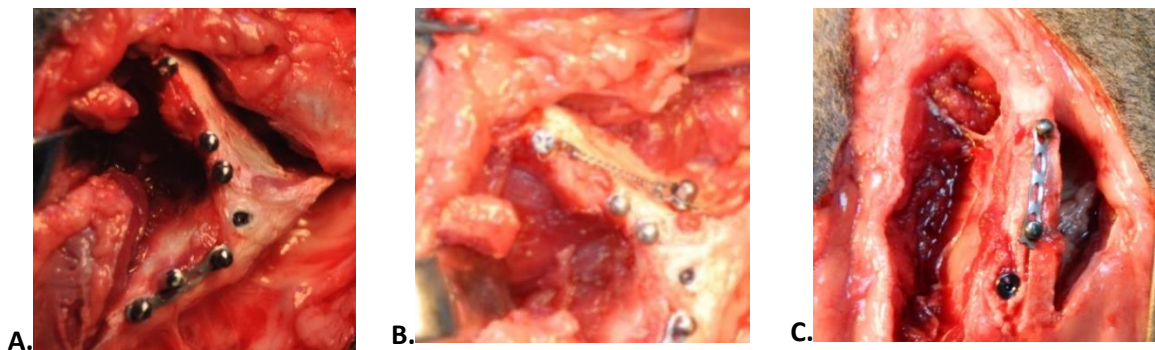
#### 7.2.1. Etapele chirurgicale de inserare a dispozitivelor luate în studiu

Această parte a studiului a fost realizată cu sprijinul Facultății de Medicină Veterinară din cadrul Universității de Științe Agronomice și Medicină Veterinară, București. După pregătirea câmpului operator, s-a realizat protocolul necesar pentru anestezia generală. S-a stabilit ca inserarea dispozitivelor luate în studiu să se realizeze la nivelul osului pelvian ovin. După dezinfectia tegumentului cu o soluție de betadină 10%, s-au realizat două incizii: una la nivelul tuberozității ischiatice și una la nivelul paletelor

iliace, care au interesat tegumentul, țesutul subcutanat, mușchii semitendinos, semimembranos și gluten mijlociu. În urma realizării lamboului musculo-cutanat s-a expus țesutul osos.

Înainte de a începe procedura de inserare a implanturilor dentare, s-a realizat, sub răcire continuă, forarea orificiilor pilot. Acest lucru s-a realizat cu ajutorul unui micromotor și a frezelor cu diametre din ce în ce mai mari, pe care s-a marcat lungimea de forare, care corespunde lungimii implantului. În cazul dispozitivelor ortodontice, orificiile pilot au fost realizate cu freze din kitul de mini-implanturi, cu diametre mai mici decât ale dispozitivelor și cu lungimi egale cu acestea. Mini-implanturile ortodontice au fost inserate cu ajutorul unui șurubelnițe manuale. S-au inserat în total 9 mini-implanturi, dintre care 6 au fost utilizate pentru aplicarea de forțe ortodontice, iar 3 au fost menținute ca dispozitive control. Localizarea mini-implanturilor s-a realizat după următorul protocol: 3 mini-implanturi s-au inserat la nivelul părții laterale a tuberozității ischiatice, 3 mini-implanturi la nivelul părții laterale a tuberozității ischiatice, 1 mini-implant la nivelul părții dorsale a tuberozității ischiatice, 2 mini-implanturi la nivelul paletii iliace. De asemenea, protocolul chirurgical a vizat și inserarea a 2 implanturi dentare, cu următoarea localizare: unul la unirea părții ventrale cu cea laterală de la nivelul tuberozității ischiatice și unul la nivelul paletii iliace.

Dintre mini-implanturile aplicate, 6 dispozitive au fost încărcate imediat după inserare, tracțiunea aplicându-se orizontal între perechi de mini-implanturi. Forța ortodontică s-a aplicat cu ajutorul unui resort de închidere de nichel-titan (Ni-Ti) și cu ajutorul unei catene elastomerice cu spații mari (**Figura 7.8**).



**Figura 7.8 – Aplicarea forței ortodontice pe mini-implanturi prin intermediul catenei elastomerice și a resortului de Ni-Ti**

Pentru a cuantifica clinic posibilă deplasare a mini-implanturilor în timpul perioadei de urmărire, s-a măsurat distanța dintre diapozitivele asupra cărora s-a aplicat tracțiunea ortodontică cu ajutorul unui șubler. După realizarea măsurătorilor clinice, s-a realizat sutura zonelor de incizie de la nivelul tuberozității ischiatice și a paletii iliace. S-a

efectuat sutura plan cu plan, din profunzime în suprafață, cu fire neresorbabile monofilament. Imediat după intervenția chirurgicală, s-a administrat profilactic medicație injectabilă, constând în antibiotice (4 ml PenStrep-Ject s.c.). S-a continuat administrarea antibioticului pentru încă 4 zile.

### ***7.2.2. Perioada de vindecare a dispozitivelor în os***

Oaia a fost menținută sub supraveghere o perioadă de 3 luni într-o unitate special amenajată, unde s-au asigurat condiții de hrană, de apă și de îngrijire corespunzătoare pentru sănătatea și bunăstarea animalului. În primele cinci zile postoperator, s-a realizat inspecția zonelor de sutură pentru a consemna eventuale zone de dehiscență a plăgii sau de infecție. Zilnic, au fost verificate condițiile fizice în care a fost ținut animalul, iar săptămânal, s-a reevaluat sănătatea generală a animalului. Pe tot parcursul perioadei de urmărire, nu s-au semnalat complicații locale sau generale.

### ***7.2.3. Sacrificarea animalului, descoperirea, evaluarea clinică a dispozitivelor și analiza histologică a probelor***

Sacrificarea animalului s-a realizat după 3 luni de la inserarea mini-implanturilor printr-o supradoză de anestezie. A urmat apoi incizia straturilor supraiacente zonei de interes și descoperirea mini-implanturilor prin realizarea unui lambou musculo-cutanat. Mini-implanturile ortodontice și implanturile protetice au fost evaluate clinic. Dispozitivele au fost analizate prin inspecție, s-a determinat prezența mobilității, iar în cazul mini-implanturilor ortodontice s-a măsurat distanța dintre șuruburile asupra cărora s-au aplicat tracțiuni. După această etapă, dispozitivele au fost îndepărtate cu instrumentarul adecvat pentru fiecare tip de implant pentru a observa rezistența la deșurubare a șuruburilor. A urmat apoi prelevarea probelor pentru analiza histologică. S-a recoltat țesut osos din jurul implanturilor dentare și mini-implanturilor ortodontice, precum și periost de pe creasta iliacă.

## **7.3. Rezultate**

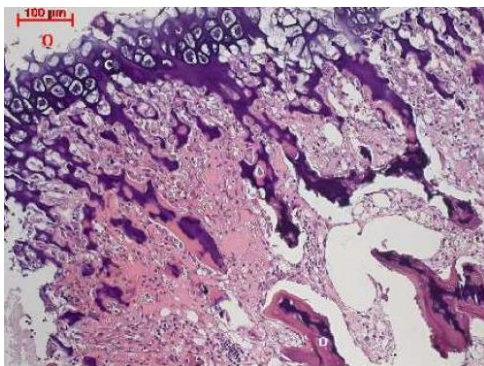
---

Mini-implanturile ortodontice experimentale au demonstrat o bună biocompatibilitate la nivelul osului pelvian ovin, aspect relevat de faptul că nu s-a observat nicio reacție nedorită la nivel local sau sistemic. Inspecția a evidențiat faptul că, dintre toate dispozitivele inserate, un singur mini-implant a fost mobilizat complet din os, fiind vorba despre șurubul distal de la nivelul părții laterale a tuberozității ischiatice, la nivelul căruia forța ortodontică era exercitată de un resort de închidere. Acest mini-implant a prezentat și o deformare importantă a structurii. În etapa determinării mobilității dispozitivelor, s-a observat prezența acestuia la nivelul unui singur mini-implant, localizat central, la nivelul părții ventrale a tuberozității ischiatice. Rata de succes a dispozitivelor

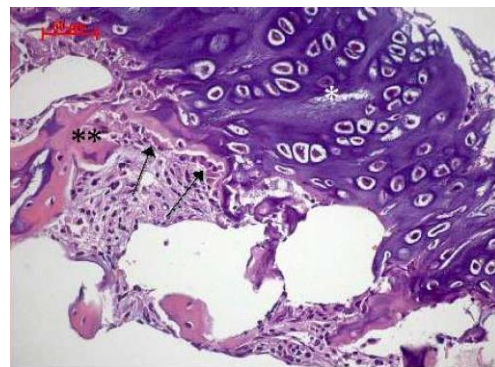
după 3 luni de la inserare, caracterizată de lipsa mobilității clinice, a fost de 77.7 % în cazul mini-implanturilor ortodontice și, respectiv, 100% în cazul implanturilor protetice.

La măsurarea distanței dintre mini-implanturile încărcate s-a observat că aceasta a rămas constantă pe parcursul celor trei luni de urmărire. Totodată, încercarea de deșurubare s-a desfășurat fără dificultate pentru toate mini-implanturile ortodontice și implanturile dentare, fără a fi observate urme de țesut osos pe suprafața acestora. Recoltarea țesutului osos s-a realizat atât de la nivelul mini-implanturilor ortodontice, cât și de la nivelul implanturilor dentare. De asemenea, s-a prelevat și periost de la nivelul osului pelvian în care au fost înserate dispozitivele.

Interesant de observat pe imaginile de microscopie optică este desfășurarea concomitentă a proceselor de osteogeneză și condrogenză în cazul ambelor tipuri de dispozitive, atât la nivelul țesutului osos, cât și la nivelul periostului (**Figura 7.17, Figura 7.18**). Ceea ce diferă este tiparul de creștere osoasă. La mini-implanturile ortodontice se observă o osteogeneză radiară, iar la implanturile protetice – osteogeneză circumferențială. De asemenea, în cazul mini-implanturilor asupra cărora s-a aplicat tracțiunea ortodontică, s-a evidențiat prezența osteoclastelor în cantitate mai mare, semn al unei remodelări a matricii osoase semnificativ mai mare față de mini-implanturile control. În ceea ce privește forța aplicată, remodelarea osoasă a fost mai importantă în cazul mini-implanturilor la care tracțiunea s-a realizat cu ajutorul resortului de Ni-Ti (160 g) față de cele la care forța a fost aplicată prin intermediul catenei (125 g, respectiv 130 g).



**Figura 7.17 – Semne de condro- (C) și osteo-geneză (O) în vecinătatea mini-implantului.**



**Figura 7.18 – Remodelarea matricii osoase de către osteoclaste (săgeți) și prezența proceselor de condrogenză (\*) și osteogeneză (\*\*) la nivelul implantului protetic.**

Imaginile de microscopie electronică înfățișează prezența celulelor cu fenotip ultrastructural progenitor în țesuturile din jurul mini-implanturilor ortodontice și din jurul implanturilor protetice, evidențiind recrutarea celulelor osteoprogenitoare și a celulelor stem mezenchimale de la nivelul țesuturilor periimplantare la nivelul defectului osos produs prin inserarea celor două tipuri de dispozitive.

#### 7.4. Discuții

---

Plecând de la aceste date, pentru studiul modificărilor histologice care au loc în os după inserarea mini-implanturilor, s-a ales ca model de cercetare oaia. În literatura de specialitate nu există studii ale dispozitivelor ortodontice la oaie, **cercetarea de față fiind o noutate pentru domeniul studiat**. De interes pentru aceste condiții de studiu au fost implanturile dentare, similare ca formă cu cea a mini-implanturilor, însă de dimensiuni și cu indicații diferite. Aceste studii au avut ca obiectiv analiza interfeței dintre os și implanturile dentare realizate din materiale diverse, utilizând ca loc de inserare zona pelviană. Utilizarea modelului pelvian ovin prezintă o serie de avantaje:

- permite inserarea unui număr relativ mare de implanturi la o singură oaie [64];
- posibilitatea de a compara obiectiv mai multe tipuri de implanturi la un singur animal, reducând variabilitatea inter-animale [44];
- elimină posibilitatea de compromitere a rezultatelor finale datorată infecțiile cauzate de problemele septice din cavitatea bucală [44];
- structura crestei iliace este variabilă: în partea cranială, se poate vorbi doar despre prezența unui os spongios (datorită faptului că grosimea osului cortical este mai mică de 0.5 mm), iar spre partea caudală se găsește os cortical, a cărui grosime crește proporțional (până la 3 mm) [44,64];
- în ceea ce privește calitatea osului, aceasta este comparabilă cu cea a osului mandibular, conform clasificării lui Lekholm și Zarb [44,64];
- poate fi folosită ca standard pentru zonele de inserare în care rata de eșec a intervenției și a implantării este zero [64];
- facilitează comparația între paturile osoase corticale și trabeculare [118].

Studiul de față a avut ca obiectiv evaluarea biocompatibilității unor mini-implanturi ortodontice experimentale și, în subsidiar, înțelegerea mecanismului de vindecare care contribuie la stabilitatea acestora. De asemenea, au fost studiate comparativ implanturile dentare, din punct de vedere a modificărilor care se petrec la nivelul țesutului osos.

Rata de succes de 77.7% obținută în cazul mini-implanturilor ortodontice este în acord cu valorile raportate în literatură [137,157]. Desprinderea completă a mini-implantului distal de la nivelul părții laterale a tuberozității ischiatice poate fi datorată

unui traumatism suferit de animal în timpul perioadei de vindecare a dispozitivelor în os, tracțiunea mobilizând mini-implantul din os. Pentru celelalte mini-implanturi asupra cărora s-au aplicat tracțiuni ortodontice, nu s-a înregistrat niciun grad de mobilitate, demonstrând stabilitatea acestora în os. Prezența mobilității clinice a mini-implantului localizat central, la nivelul părții ventrale a tuberozității ischiatice se datorează, cel mai probabil, presiunii laterale dată de catena tensionată dintre cele două mini-implanturi aflate de o parte și de alta a acestuia. La măsurarea distanței dintre mini-implanturile încărcate s-a observat că aceasta a rămas constantă pe parcursul celor trei luni de urmărire.

Atât în cazul mini-implanturilor ortodontice, cât și a implanturilor dentare s-a observat prezența osteoclastelor și activitatea acestora de remodelare a matricii osoase. Acest fapt demonstrează prezența activității metabolice la interfața os-implant și este critică pentru succesul dispozitivelor în os [125]. Faptul că acestea s-au observat cu precădere la nivelul mini-implanturilor tracționate cu resorturi, demonstrează influența tipului și mărimii forței asupra proceselor de apozitie și resorbție osoasă. În urma analizei histologice, s-a observat prezența osteointegrării atât în cazul mini-implanturilor ortodontice, cât și în cazul implanturilor protetice. Acest lucru, corelat cu faptul că deșurubarea mini-implanturilor ortodontice și a implanturilor dentare s-a produs fără dificultate, poate sugera o osteointegrare parțială a dispozitivelor.

Interesant de remarcat este pattern-ul de osteointegrare diferit în cazul celor două tipuri de dispozitive: radiar în cazul mini-implanturilor ortodontice și circumferențial la implanturile dentare. Acesta poate fi răspunzător de diferența între mini-implanturile ortodontice și implanturile protetice în ceea ce privește procentul de contact între suprafața șurubului și os, deci de stabilitatea acestora. În literatură, termenul de osteointegrare parțială este folosit cu precădere pentru mini-implanturile ortodontice [40,102,144], deși s-a observat faptul că un contact os-implant de 100 % nu este prezent nici în cazul implanturilor dentare cu succes pe termen lung [151]. Pentru dispozitivele ortodontice, osteointegrarea parțială este deosebit de importantă pentru a asigura stabilitatea lor și facilitează, în același timp, îndepărtarea ușoară [144]. La implanturile dentare, faptul că dezinsertia s-a realizat fără dificultate, poate sugera o perioadă redusă pentru formarea suficientă de os.

De asemenea, pe lângă formarea de os, analiza histologică a relevat desfășurarea concomitentă a procesului de condrogeneză în cazul ambelor tipuri de dispozitive. Altfel spus, ambele materiale din care sunt fabricate dispozitivele studiate (aliajul de titan și, respectiv, titanul) prezintă capacitate de diferențiere a celulelor stem mezenchimale (CSM) în condroblaste și depunerea de țesut cartilaginos. Prezența țesutului cartilaginos la nivel peri-implantar este rar semnalată în literatura de specialitate. În cazul implanturilor dentare, există studii moleculare care au explicat prezența genelor legate de condrogeneză

(genele matricei extracelulare de cartilaj și gene asociate cu diferențierea condrocitelor), prin două teorii [100]. Una se referă la modificarea condițiilor de mediu ale celulelor stem mezemchimale (CSM), care, în mod normal, prezintă capacitate de diferențiere pluripotentă, putând-se transforma în osteoblaste în prezența unei cantități suficiente de oxigen [100]. O cantitate mai mică de oxigen (hipoxie), determinată de prezența TiO<sub>2</sub> pe suprafața implanturilor încă din procesul de fabricare și oxidarea continuă, poate determina diferențierea CSM în condroblaste [100]. Deci, evoluția CSM de la nivel periimplantar (nișa endosteală, nișa periostală și nișe perivascularare din ambele localizări) către linia condrogenetică și osteogenetică este biomaterial-dependentă [100]. O altă teorie este legată de prezența unui mediu xenobiotic determinat de răspunsul CSM față de implant, pe care îl recunosc ca material străin și capacitatea acestora de a regla expresia unui set selecționat de molecule ale matricii extracelulare de colagen fără diferențiere condrogenică completă [100]. Astfel, se poate vorbi de o combinație de matrici extracelulare de cartilaj și os la nivelul osului peri-implantar, care explică rezistența îndelungată a osului peri-implantar împotriva remodelării catabolice [100]. Dacă prezența țesutului osos asigură osteointegrarea și susținerea implantului, se pare că rolul colagenului de tip X situat la zona de interfață dintre implantul de titan și țesutul peri-implantar este de a crește rezistența la tracțiune a țesuturilor peri-implantare [100].

În ortodonție, există puține studii care au identificat prezența condrogenezei în cazul mini-implanturilor. Un studiu molecular, care a analizat mini-implanturi ortodontice din titan cu suprafața tratată cu acid și sablată, a realizat o clasificare funcțională a genelor identificate în osul din jurul lor în două stadii de evoluție: la o săptămână și la 4 săptămâni de la inserare. Și în acest caz s-au regăsit gene legate de morfogeneza cartilaginoasă [96].

## 7.5. Concluzii

---

Biocompatibilitatea materialelor implantate în os este o condiție esențială pentru succesul tratamentului. Secundar, un alt factor care asigură succesul tratamentului ortodontic cu ancoraj pe mini-implanturi este reprezentat de stabilitatea acestora în os imediat după inserare (stabilitate primară) și pe parcursul perioadei de vindecare (stabilitate secundară).

În cazul studiului de față, mini-implanturile ortodontice experimentale au demonstrat o bună biocompatibilitate la testarea in-vivo. De asemenea, succesul terapiei a fost determinat și de stabilitatea acestora în os, mini-implanturile studiate demonstrând potențial de osteointegrare. Mai mult, prezența țesutului cartilaginos la nivel osos poate fi un indiciu al unei rezistențe crescute la tracțiune a țesuturilor peri-implantare.

Studiul comparativ al mini-implanturilor ortodontice și implanturilor dentare nu a evidențiat diferențe semnificative la nivel histologic între cele două tipuri de dispozitive, singura diferență fiind cea legată de modul în care se produce osteogeneza: radiar, în cazul mini-implanturilor și concentric, în cazul implanturilor. Informațiile obținute în cadrul acestui studiu pot servi ca date preliminare pentru identificarea factorilor moleculari aplicabili clinic pentru modularea echilibrului dintre condro- și osteogeneza, în favoarea unui proces optim de osteointegrare implantară.

## **Capitolul 8. CONCLUZII GENERALE. DIRECȚII DE CERCETARE VIITOARE**

---

### **8.1. Concluzii generale și contribuții personale. Elementele de noutate și originalitate ale studiului**

---

Teza de doctorat și-a propus să abordeze un subiect de interes pentru terapia ortodontică și anume, cel legat de dispozitivele de ancorare temporară. Astfel, studiul documentar realizează o sinteză cu privire la implicațiile designului și biomaterialelor în ceea ce privește stabilitatea primară și secundară a mini-implanturilor ortodontice. Concluziile acestuia demonstrează progresele accelerate ale cercetărilor din acest domeniu, care aduc modificări ale designului și suprafeței mini-implanturilor, lăsând clinicianului o varietate de opțiuni, care îngreunează selecția dispozitivului potrivit fiecărei situații particulare.

În acest context, cercetările personale își propun, în prima parte, să analizeze, printr-un studiu de cohortă, modul de raportare al medicilor și pacienților față de această variantă terapeutică și să identifice complicațiile apărute în cursul tratamentului. Pornind de la aceste concluzii, s-au realizat o serie de mini-implanturi experimentale, care prezintă avantajul unei opțiuni terapeutice personalizate. Acestea au fost testate în continuare prin studii de laborator și pe animale. Concluziile desprinse în urma studiilor întreprinse în cadrul prezentei teze de doctorat pot fi rezumate astfel:

1. Studiul de cohortă a evidențiat o prevalență a pacienților care acceptă tratamentul cu mini-implanturi de 47.9%, iar a medicilor care utilizează aceste dispozitive de ancoraj de 44%.
2. Aproximativ jumătate dintre pacienți au necesitat informații suplimentare, înainte de a accepta tratamentul cu ancoraj pe mini-implanturi și au raportat îngrijorări privind intervenția de inserare (majoritatea), îndepărtarea dificilă sau posibila toxicitate.
3. În ceea ce privește numărul de mini-implanturi inserate, mai frecvente au fost cazurile care au necesitat două dispozitive, ceea ce are implicații asupra tolerabilității și costurilor suportate de pacienți.

4. Mobilitatea mini-implanturilor este complicația cel mai frecvent raportată atât de medici, cât și de pacienți.
5. În majoritatea cazurilor, îndepărtarea mini-implanturilor la sfârșitul tratamentului s-a realizat fără dificultate, indiferent de sistemul folosit.
6. Costul mini-implanturilor a fost perceput ca fiind unul mediu de majoritatea respondenților, cu un raport eficiență-preț bun.
7. Gradul de satisfacție al respondenților cu privire la rezultatele tratamentului cu mini-implanturi a fost de 86.96% în cazul pacienților și 95.5% în cazul medicilor.
8. Majoritatea pacienților au relatat o experiență bună cu mini-implanturile, însă 34.8% au relatat dificultăți în toleranța dispozitivelor.
9. Experiența medicilor cu mini-implanturile este mai mare de 3 ani pentru majoritatea respondenților, iar în ceea ce privește numărul de pacienți tratați pe parcursul unei luni calendaristice, acesta este mai mic de 5.
10. Majoritatea medicilor au raportat faptul că ar aduce modificări ale sistemului de mini-implanturi folosit în ceea ce privește designul și costul.
11. În comparație cu mini-implanturile comerciale Orlus, cele experimentale prezintă o suprafață mai rugoasă, rezultat al prelucrării mecanice de suprafață, favorizând stabilitatea în os.
12. Mini-implanturile experimentale și comerciale prezintă diferențe mici în ceea ce privește concentrațiile de titan, aluminiu și vanadiu, elementele principale din care sunt alcătuite.
13. Mini-implanturile personalizate investigate au avut un profil de citotoxicitate scăzut asupra osteoblastelor umane, aproape similar cu mini-implanturile comerciale.
14. Mini-implanturile ortodontice experimentale au demonstrat o bună biocompatibilitate la testarea *in-vivo*.
15. *In-vivo*, rata de succes a mini-implanturilor experimentale, raportată la stabilitatea acestora în os, a fost de 77.7%.
16. Forțele aplicate la nivelul mini-implanturilor experimentale prin intermediul tracțiunilor ortodontice nu au determinat mobilizarea și înclinarea mini-implanturilor în os.
17. Osteointegrarea s-a observat atât în cazul mini-implanturilor experimentale, cât și în cazul implanturilor dentare, însă cu un pattern de osteointegrare diferit – radiar în cazul mini-implanturilor ortodontice și circumferențial la implanturile dentare. Acesta poate fi responsabil de procentul de contact diferit între suprafața șurubului și os.
18. Analiza histologică a relevat, pe lângă formarea de os, desfășurarea concomitentă a procesului de condrogenză în cazul ambelor tipuri de dispozitive (mini-implanturi experimentale și implanturi protetice), fiind un indicator al unei rezistențe crescute la tracțiune a țesuturilor peri-implantare.

19. Activitatea de remodelare osoasă a fost observată atât în cazul mini-implanturilor experimentale, cât și a implanturilor dentare, fiind mai importantă la nivelul mini-implanturilor pe care s-a aplicat tracțiune cu resorturi.
20. În concluzie, toate obiectivele cercetării au fost îndeplinite, putând considera mini-implanturile experimentale candidate promțătoare pentru studii clinice.

Elementul de noutate din cadrul tezei este reprezentat de alegerea oii ca modelul animal de cercetare a biocompatibilității mini-implanturilor experimentale și modificărilor histologice de la nivel osos. În literatura de specialitate nu există studii ale dispozitivelor ortodontice inserate la oaie, analiza de față reprezentând o noutate pentru domeniul studiat. Astfel, sunt descrise *de novo* procedurilor chirurgicale ale inserării mini-implanturilor ortodontice la nivelul osului pelvian ovin.

Cercetarea prezintă ca element inovator proiectarea și realizarea unor mini-implanturi personalizate, care ar putea reprezenta o soluție accesibilă și convenabilă pentru piața locală și o opțiune individualizată de tratament. Acestea pot crește rata de succes a stabilității mini-implanturilor, care este deosebit de importantă pentru obținerea obiectivelor terapeutice. Nu în ultimul rând, ar putea determina creșterea numărului de medici care utilizează aceste dispozitive.

## 8.2. Direcții de cercetare viitoare

---

În perspectivă, cercetarea de față își propune continuarea analizelor, iar direcțiile de studiu vor avea în vedere următoarele:

- identificarea factorilor moleculari aplicabili clinic pentru modularea echilibrului dintre condro- și osteogeneză, în favoarea unui proces optim de osteointegrare implantară;
- analiza comportamentului la coroziune a aliajului din care sunt realizate mini-implanturile experimentale în soluție de salivă artificială;
- aprofundarea caracteristicilor interfeței os-implant prin determinarea indexului de osteointegrare corelat cu perioada de menținere în os pentru a stabili momentul optim de încărcare a mini-implanturilor (imediat după inserare sau după o perioadă de vindecare);
- determinarea proprietăților mecanice ale mini-implanturilor experimentale prin simularea unor teste statice și dinamice (tracțiune, compresiune, înconvoiere sau anduranță) în condiții similare celor *in-vivo*;
- elaborarea mini-implanturilor prin modificarea tratamentului de suprafață (suprafață netedă, sablare și tratare cu acid, etc.) și analiza influenței acestuia asupra stabilității dispozitivelor;
- evaluarea succesului mini-implanturilor prin analiza influenței designului mini-implanturilor raportat la situația prin teste clinice.

## BIBLIOGRAFIE

1. Abuhussein H, Pagni G, Rebaudi A, Wang HL. The effect of thread pattern upon implant osseointegration. *Clin. Oral Implants Res.* 2010 Feb;21(2):129–136.
2. Anka G – Controlled Occlusal Plane Changes Using Temporary Anchorage Devices. In: Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics.* Mosby; 2009:198-222.
3. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Dental Casting Alloys and Metal Joining. In: *Phillips' Science of Dental Materials.* Elsevier Health Sciences; 2013: 367–395.
4. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Dental Implants. In: *Phillips' Science of Dental Materials.* Elsevier Health Sciences; 2013:499-518.
5. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Emerging Technologies. In: *Phillips' Science of Dental Materials.* Elsevier Health Sciences; 2013:519-537.
6. Atsumi M, Park SH, Wang HL. Methods used to assess implant stability: current status. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007 Sep-Oct;22(5):743-54.
7. Baba C, Yanagida K, Kanzaki T, Baba M. Colorimetric lactate dehydrogenase (LDH) assay for evaluation of antiviral activity against bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in vitro. *Antivir Chem Chemother.* 2005;16(1):33-9.
8. Baumgaertel S, Razavi MR, Hans MG – Mini-implant anchorage for the orthodontic practitioner. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop. Off. Publ. Am. Assoc. Orthod. Its Const. Soc. Am. Board Orthod.* 2008 Apr;133(4):621–627.
9. Berardi D, De Benedittis S, Scoccia A, Perfetti G, Conti P. New laser-treated implant surfaces: a histologic and histomorphometric pilot study in rabbits. *Clin. Investig. Med. Médecine Clin. Exp.* 2011;34(4):E202.
10. Bergmann CP, Stumpf A. Biomaterials. In: *Dental Ceramics: Microstructure, Properties and Degradation.* Springer Science & Business Media; 2013:9-14.
11. Birg J, Wheeler M. Biocompatibility of Temporary Anchorage Devices Using an in vitro Cell Culture Model. *Journal of Dentistry and Orofacial Surgery.* 2015; 1(1): 1-4.
12. Brandão LBC, Mucha JN. Rate of mini-implant acceptance by patients undergoing orthodontic treatment – A preliminary study with questionnaires. *Dent. Press J Orthod.* 2008;13(5):118–127.
13. Bueno RC, Basting RT. In vitro study of human osteoblast proliferation and morphology on orthodontic mini-implants. *Angle Orthod.* 2015 Nov;85(6):920–926.
14. Candido C, Impellizzeri A, Galluccio G. Use of temporary anchorage devices in orthodontics: A review of the literature. *WebmedCentral Orthod.* 2013;4(12).
15. Carneiro CB, Moresca R, Petrelli NE. Evaluation of satisfaction level in orthodontic patients considering professional actuation. *Dent. Press J. Orthod.* 2010 Dec;15(6):e1–e12.
16. Cehreli MC, Karasoy D, Akca K, Eckert SE. Meta-analysis of methods used to assess implant stability. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 2009 Dec;24(6):1015–1032.
17. Cha J-Y, Hwang C-J, Kwon SH, Jung H-S, Kim K-M, Yu HS. Strain of bone-implant interface and insertion torque regarding different miniscrew thread designs using an artificial bone model. *Eur. J. Orthod.* 2015 Jun;37(3):268–274.
18. Cha J-Y, Yu H-S, Hwang C-J. The validation of Periotest values for the evaluation of orthodontic mini-implants' stability. *Korean J. Orthod.* 2010;40(3):167.

19. Chaddad K, Ferreira AFH, Geurs N, Reddy MS. Influence of surface characteristics on survival rates of mini-implants. *Angle Orthod.* 2008 Jan;78(1):107–113.
20. Chang JZ, Chen YJ, Tung YY, Chiang YY, Lai EH, Chen WP, Lin CP. Effects of thread depth, taper shape, and taper length on the mechanical properties of mini-implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2012 Mar;141(3):279-88.
21. Chelcea S. *Curs. Tehnici de cercetare sociologica.* 2001.
22. Chung K, Kim S-H, Kook Y. C-orthodontic microimplant for distalization of mandibular dentition in Class III correction. *Angle Orthod.* 2005 Jan;75(1):119–128.
23. Clinical Laboratory: Counting chambers, pg. 253-256; [http://www.brand.de/fileadmin/user/pdf/GK900/Zaehlkammern/GK900\\_05\\_Clinical\\_Lab\\_Zaehlkammern\\_e.pdf](http://www.brand.de/fileadmin/user/pdf/GK900/Zaehlkammern/GK900_05_Clinical_Lab_Zaehlkammern_e.pdf)
24. Consolaro A, Romano FL, Consolaro A, Romano FL. Reasons for mini-implants failure: choosing installation site should be valued! *Dent. Press J. Orthod.* 2014 Apr;19(2):18–24.
25. Cope JB – Temporary anchorage devices in orthodontics: A paradigm shift. *Semin. Orthod.* 2005 Mar;11(1):3–9.
26. Cornelis MA, Scheffler NR, De Clerck HJ, Tulloch JFC, Behets CN. Systematic review of the experimental use of temporary skeletal anchorage devices in orthodontics. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.* 2007 Apr;131(4 Suppl):S52-58.
27. Cousley R – Maximising Mini-implant Success: Clinical Factors. In: *The Orthodontic Mini-implant Clinical Handbook.* John Wiley & Sons; 2013:9-16.
28. Cousley R – Maximising Mini-implant Success: Design Factors. In: *The Orthodontic Mini-implant Clinical Handbook.* John Wiley & Sons; 2013:17-23.
29. Cousley R – Mini-Implant Principles and Potential Complications. In: *The Orthodontic Mini-implant Clinical Handbook.* John Wiley & Sons; 2013:1-7.
30. Cousley R – Planning and Insertion Techniques. In: *The Orthodontic Mini-implant Clinical Handbook.* John Wiley & Sons; 2013:31-44.
31. Cunha AC da, Freitas AOA de, Marquezan M, Nojima LI, Cunha AC da, Freitas AOA de, et al. Mechanical influence of thread pitch on orthodontic mini-implant stability. *Braz. Oral Res.* 2015;29(1):1–6.
32. *Curs Fiziologie 2016: Principii de numărare a elementelor figurate sanguine,* Facultatea de Medicină Generală, Târgu Mureș, pg. 33-35; <http://www.fizioms.ro/edu/lp/data/2015-2016/MGI/Numarare.pdf>
33. Daokar SS, Agarwal G – Orthodontic Implant Failure: A Systematic Review. *International Journal of Oral Implantology and Clinical Research.* International Journal of Oral Implantology and Clinical Research. Jan-Apr 2016;7(1):1-6.
34. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J. Dent. Educ.* 2003 Aug;67(8):932–949.
35. Deguchi T, Takano-Yamamoto T, Kanomi R, Hartsfield JK, Roberts WE, Garetto LP. The use of small titanium screws for orthodontic anchorage. *J. Dent. Res.* 2003 May;82(5):377–381.
36. Disegi JA, Eschbach L. Stainless steel in bone surgery. *Injury;* 2000 Dec;31 Suppl 4:2–6.
37. Duca A, Manda G, Mihele D. The Cytotoxic Potential Effect of Some Flavoring Agents on a Mouse Fibroblast Cell Culture. *Farmacia.* 2012;60(1):58-63.

38. Edouard Jallot. Nanoscale characterization of biomaterials. *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*. American Scientific Publishers; 2004:405-415.
39. Elias CN, Lima JHC, Valiev R, Meyers MA. Biomedical applications of titanium and its alloys. *Journal of the Minerals, Metals and Materials Society*. 2008;60:46-49.
40. Erverdi N, Üşümez S – Bone Anchorage: a New Concept in Orthodontics. In: Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics*. Mosby; 2009:342-373.
41. Fan L, Miao Z, Tang G. [A clinical evaluation on the stability of orthodontic mini-implants using resonance frequency analysis]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue Shanghai J. Stomatol*. 2014 Oct;23(5):614–618.
42. Favero LG, Pisoni A, Paganelli C. Removal torque of osseointegrated mini-implants: an in vivo evaluation. *Eur. J. Orthod*. 2007 Oct 1;29(5):443–448.
43. Ferguson SJ, Langhoff JD, Voelter K, von Rechenberg B, Scharnweber D, Bierbaum S, et al. Biomechanical comparison of different surface modifications for dental implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*. 2008 Dec;23(6):1037–1046.
44. Freire JNO, Silva NRFA, Gil JN, Magini RS, Coelho PG. Histomorphologic and histomorphometric evaluation of immediately and early loaded mini-implants for orthodontic anchorage. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop*. 2007 Jun;131(6):704.e1-9.
45. Gaggl A, Schultes G, Müller WD, Kärcher H. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces--a comparative study. *Biomaterials*. 2000 May;21(10):1067–1073.
46. Ghislanzoni LTH, Piepoli C - Upper molar distalization on palatal miniscrews: an easy to manage palatal appliance. *Prog Orthod*. 2012 May;13(1):78-83
47. Gracco A, Giagnorio C, Incerti Parenti S, Alessandri Bonetti G, Siciliani G. Effects of thread shape on the pullout strength of miniscrews. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2012 Aug;142(2):186-90.
48. Gupta R, Padmanabhan T. Resonance frequency analysis. *Indian J. Dent. Res*. 2011;22(4):567.
49. Heath J, Taylor N. *Energy Dispersive Spectroscopy*. Wiley, Essential Knowledge Briefings; 2015:4-12.
50. Herrero-Climent M, Santos-García R, Jaramillo-Santos R, Romero-Ruiz M-M, Fernández-Palacin A, Lázaro-Calvo P, et al. Assessment of Osstell ISQ's reliability for implant stability measurement: a cross-sectional clinical study. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal*. 2013 Nov;18(6):e877-882.
51. Hong C, Lee H, Webster R, Kwak J, Wu BM, Moon W. Stability comparison between commercially available mini-implants and a novel design: part 1. *Angle Orthod*. 2011 Jul;81(4):692–699.
52. Ionescu E, Milicescu ID, Popescu M, Popoviciu O, Milicescu V – Tratatamentul ortodontic: principii terapeutice. *Aparatele Ortodontice*. In: *Ortodonție și ortopedie dento-facială*. Bucuresti: Cerma; 2001:151-163
53. Isac-Maniu A. Metode de cercetare. Chestionarul. Curs studenti AMP –master. 2013; Available from: <http://www.amaniu.ase.ro/studenti/masterAMP/Chestionarul.pdf>
54. Ivanovski S, Hamlet S, Salvi GE, Huynh-Ba G, Bosshardt DD, Lang NP, et al. Transcriptional profiling of osseointegration in humans. *Clin. Oral Implants Res*. 2011 Apr;22(4):373–381.

55. Jing Y, Han X, Guo Y, Li J, Bai D. Nonsurgical correction of a Class III malocclusion in an adult by miniscrew-assisted mandibular dentition distalization. *AJO-DO*. 2013 Jun;143(6):877-887.
56. Kang H-K, Chu T-M, Dechow P, Stewart K, Kyung H-M, Liu SS-Y. Laser-treated stainless steel mini-screw implants: 3D surface roughness, bone-implant contact, and fracture resistance analysis. *Eur. J. Orthod*. 2016 Apr;38(2):154–162.
57. Ke Yang, Yibin Ren. Nickel-free austenitic stainless steels for medical applications. *Sci. Technol. Adv. Mater*. 2010;11(1).
58. Kim J-W, Ahn S-J, Chang Y-I. Histomorphometric and mechanical analyses of the drill-free screw as orthodontic anchorage. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop. Off. Publ. Am. Assoc. Orthod. Its Const. Soc. Am. Board Orthod*. 2005 Aug;128(2):190–194.
59. Kim J-W, Baek S-H, Kim T-W, Chang Y-I. Comparison of stability between cylindrical and conical type mini-implants. Mechanical and histological properties. *Angle Orthod*. 2008 Jul;78(4):692–698.
60. Kim S-H, Lee S-J, Cho I-S, Kim S-K, Kim T-W. Rotational resistance of surface-treated mini-implants. *Angle Orthod*. 2009 Sep;79(5):899–907.
61. Kim Y-K, Kim Y-J, Yun P-Y, Kim J-W. Effects of the taper shape, dual-thread, and length on the mechanical properties of mini-implants. *Angle Orthod*. 2009 Sep;79(5):908–914.
62. Kulak CAM, Dempster DW. Bone histomorphometry: a concise review for endocrinologists and clinicians. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol*. 2010 Mar;54(2):87–98.
63. Kulkarni M, Mazare A, Schmuki P, Iglıc A. Biomaterial Surface Modification Of Titanium and Titanium Alloys for Medical Applications. In: Seifalian A, de Mel A, Kalaskar DM. *Nanomedicine*. One Central Press. 2014;111-136.
64. Langhoff JD, Voelter K, Scharnweber D, Schnabelrauch M, Schlottig F, Hefti T, et al. Comparison of chemically and pharmaceutically modified titanium and zirconia implant surfaces in dentistry: a study in sheep. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg*. 2008 Dec;37(12):1125–1132.
65. Lash LH. Principles and Methods for Renal Toxicology. In: Hayes AW. *Principles and Methods of Toxicology*, 5<sup>th</sup> Edition. CRC Press; 2007:1533-1535.
66. Lee JS, Kim JK, Park YC, Vanarsdall RL – Design and Function of New, Screw-Type Orthodontic Mini-implants. In: *Applications of Orthodontic Mini-implants*. Chicago: Quintessence Pub. Co; 2007:29-50.
67. Lee JS, Kim JK, Park YC, Vanarsdall RL – Evolution of the Orthodontic Mini-Implant. In: *Applications of Orthodontic Mini-implants*. Chicago: Quintessence Pub. Co; 2007:1-11.
68. Lee JS, Kim JK, Park YC, Vanarsdall RL – Fundamentals of Skeletal Anchorage. In: *Applications of Orthodontic Mini-implants*. Chicago: Quintessence Pub. Co; 2007:13-28.
69. Lee JS, Kim JK, Park YC, Vanarsdall RL – Surgical Procedures. In: *Applications of Orthodontic Mini-implants*. Chicago: Quintessence Pub. Co; 2007:87-110.
70. Lee JS, Kim JK, Park YC, Vanarsdall RL – Treatment Planning. In: *Applications of Orthodontic Mini-implants*. Chicago: Quintessence Pub. Co; 2007:51-85.

71. Lee TC, McGrath CP, Wong RW, Rabie AB. Patients' perceptions regarding microimplant as anchorage in orthodontics. *Angle Orthod.* 2008 Mar;78(2):228-33.
72. Lehnen S, McDonald F, Bourauel C, Baxmann M. Patient Expectations, Acceptance and Preferences in Treatment with Orthodontic Mini-implants. Part II: Implant removal. *J. Orofac. Orthop. Fortschritte Kieferorthopädie.* 2011 Apr 20;72(2):93–102.
73. Lehnen S, McDonald F, Bourauel C, Jäger A, Baxmann M. Expectations, acceptance and preferences of patients in treatment with orthodontic mini-implants. A randomly controlled study. Part I: Insertion techniques. *J. Orofac. Orthop. Fortschritte Kieferorthopädie.* 2011 Jan 20;72(3):214–222.
74. Lim S-A, Cha J-Y, Hwang C-J. Insertion torque of orthodontic miniscrews according to changes in shape, diameter and length. *Angle Orthod.* 2008 Mar;78(2):234–240.
75. Lim YW, Kwon SY, Sun DH, Kim YS. The Otto Aufranc Award: enhanced biocompatibility of stainless steel implants by titanium coating and microarc oxidation. *Clin. Orthop.* 2011 Feb;469(2):330–338.
76. Lin JCY, Liou EJW, Yeh CL, Evans CA – A comparative evaluation of current orthodontic miniscrew systems. *World J. Orthod.* 2007;8(2):136–144.
77. Lin JCY, Liou EJW, Yeh C-L, Evans CA. A comparative evaluation of current orthodontic miniscrew systems. *World J. Orthod.* 2007;8(2):136–144.
78. Lin SY, Mimi Y, Tak CM, Chiong FKW, Chew WH - A Study of Success Rate of Miniscrew Implants as Temporary Anchorage Devices in Singapore. *International Journal of Dentistry.* 2015;Volume 2015:1-10.
79. Liou EJW, Lin JCY – Appliances, Mechanics and Treatment Strategies Toward Orthognathic-Like Treatment Results. In: Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics.* Mosby; 2009:167-197.
80. Longo-Sorbello GSA, Saydam G, Banerjee D, Bertino JR. Cytotoxicity and Cell Growth Assays. In: Celis J, Carter N, Simons K, Small J, Hunter T, Shotton D. *Cell Biology: A Laboratory Handbook*, 3<sup>rd</sup> Ed. Academic Press; 2005:315-324.
81. Luzi C, Verna C, Melsen B. Immediate loading of orthodontic mini-implants: a histomorphometric evaluation of tissue reaction. *Eur. J. Orthod.* 2009 Feb;31(1):21–29.
82. Ma J, Zhang W, Wang L, Zhao C, Chen W. Stability and bone response of immediately loaded micro-implants in beagle dogs. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 2008 Oct;23(5):885–890.
83. Malkoç S, Öztürk F, Çörekçi B, Bozkurt BS, Hakki SS. Real-time cell analysis of the cytotoxicity of orthodontic mini-implants on human gingival fibroblasts and mouse osteoblasts. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2012 Apr;141(4):419-26.
84. Marigo G, Elias CN, Marigoa M - Surface analysis of 2 orthodontic mini-implants after clinical use. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2016 Jul;150(1):89-97
85. Marticorena M, Corti G, Olmedo D, Guglielmotti MB, Duhalde S. Laser surface modification of Ti implants to improve osseointegration. *J. Phys. Conf. Ser.* 2007;57:662–665.
86. Martini L, Fini M, Giavaresi G, Giardino R. Sheep model in orthopedic research: a literature review. *Comp. Med.* 2001 Aug;51(4):292–299.
87. Mavrogenis AF, Dimitriou R, Parvizi J, Babis GC. Biology of implant osseointegration. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* 2009 Jun;9(2):61–71.

88. McGuire MK, Scheyer ET, Gallerano RL. Temporary anchorage devices for tooth movement: a review and case reports. *J. Periodontol.* 2006 Oct;77(10):1613–1624.
89. Melo ACM, Andrighetto AR, Hirt SD, Bongioiolo ALM, Silva SU, Silva MAD. Risk factors associated with the failure of miniscrews - A ten-year cross sectional study. *Braz. Oral Res.* 2016; 30(1):e124.
90. Melsen B, Laursen MG – Factors in the Decision to Use Skeletal Anchorage. In: Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics.* Mosby; 2009:73-89.
91. Meredith N, Alleyne D, Cawley P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. *Clin. Oral Implants Res.* 1996 Sep;7(3):261–267.
92. Meredith N. Assessment of implant stability as a prognostic determinant. *Int. J. Prosthodont.* 1998 Oct;11(5):491–501.
93. Micéli Guimarães Blaya; Diego Segatto Blaya; Magáli Beck Guimarães; Luciana M. Hirakata; Marcela Markezan. Patient's perception on mini-screws used for molar distalization. *Rev. odonto ciênc.* 2010;25(3):266-270
94. Migliorati M, Drago S, Schiavetti I, Olivero F, Barberis F, Lagazzo A, et al. Orthodontic miniscrews: an experimental campaign on primary stability and bone properties. *Eur. J. Orthod.* 2015 Oct;37(5):531–538.
95. Mistry G, Shetty O, Shetty S, Singh R. Measuring implant stability: A review of different methods. *J. Dent. Implants.* 2014;4(2):165.
96. Mo S-S, Kim S-H, Kook Y-A, Jeong D-M, Chung K-R, Nelson G. Resistance to immediate orthodontic loading of surface-treated mini-implants. *Angle Orthod.* 2010 Jan;80(1):123–129.
97. Nahm K-Y, Heo JS, Lee J-H, Lee D-Y, Chung K-R, Ahn H-W, et al. Gene profiling of bone around orthodontic mini-implants by RNA-sequencing analysis. *BioMed Res. Int.* 2015;2015:538080.
98. Nanda RS, Tosun YS – Anchorage Control. In: *Biomechanics in Orthodontics. Principles and Practice* Quintessence Books, 2010:83-97.
99. Nienkemper M, Santel N, Hönscheid R, Drescher D. Orthodontic mini-implant stability at different insertion depths: Sensitivity of three stability measurement methods. *J. Orofac. Orthop. Fortschritte Kieferorthopadie OrganOfficial J. Dtsch. Ges. Kieferorthopadie.* 2016 Jul;77(4):296–303.
100. Nienkemper M, Wilmes B, Panayotidis A, Pauls A, Golubovic V, Schwarz F, et al. Measurement of mini-implant stability using resonance frequency analysis. *Angle Orthod.* 2013 Mar;83(2):230–238.
101. Nishimura I. Genetic networks in osseointegration. *J. Dent. Res.* 2013 Dec;92(12 Suppl):109S–18S.
102. Noorollahian S, Alavi S, Shirban F. Bilateral *en-masse* distalization of maxillary posterior teeth with skeletal anchorage: a case report. *Dental Press J Orthod.* 2016 May-Jun; 21(3): 85–93.
103. Oltramari-Navarro PVP, Navarro RL, Henriques JFC, Cestari TM, Francischone CE, Taga R, et al. The impact of healing time before loading on orthodontic mini-implant stability: a histomorphometric study in minipigs. *Arch. Oral Biol.* 2013 Jul;58(7):806–812.

104. Omar O, Svensson S, Zoric N, Lennerås M, Suska F, Wigren S, et al. In vivo gene expression in response to anodically oxidized versus machined titanium implants. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2010 Mar 15;92(4):1552–1566.
105. Omasa S, Motoyoshi M, Arai Y, Ejima K-I, Shimizu N. Low-level laser therapy enhances the stability of orthodontic mini-implants via bone formation related to BMP-2 expression in a rat model. *Photomed. Laser Surg.* 2012 May;30(5):255–261.
106. Paik CH, Park IK, Woo Y, Kim TW – Miniscrew Implants: Concepts and Controversies. In: *Orthodontic Miniscrew Implants. Clinical Applications*, 1<sup>st</sup> Ed. Mosby; 2008:14-20.
107. Palmquist A, Omar OM, Esposito M, Lausmaa J, Thomsen P. Titanium oral implants: surface characteristics, interface biology and clinical outcome. *J. R. Soc. Interface R. Soc.* 2010 Oct 6;7 Suppl 5:S515-527.
108. Parithimarkalaignan S, Padmanabhan TV. Osseointegration: An Update. *J. Indian Prosthodont. Soc.* 2013 Mar;13(1):2–6.
109. Park HS – Clinical Application of Microimplants. In: Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics*. Mosby; 2009:260-286.
110. Park H-S, Lee S-K, Kwon O-W. Group distal movement of teeth using microscrew implant anchorage. *Angle Orthod.* 2005 Jul;75(4):602–609.
111. Park YC, Kim JK, Lee JS. Biomechanical Considerations with Temporary Anchorage Devices. In: Graber LW, Jr RLV, Vig KWL. *Orthodontics: Current Principles and Techniques*, 5<sup>th</sup> Ed. Elsevier Health Sciences; 2011:381-419.
112. Park YC, Lee KJ – Biomechanical Principles in Miniscrew-Driven Orthodontics. In: Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics*. Mosby; 2009:93-144.
113. Passeri G, Cacchioli A, Ravanetti F, Galli C, Elezi E, Macaluso GM. Adhesion pattern and growth of primary human osteoblastic cells on five commercially available titanium surfaces. *Clin. Oral Implants Res.* 2010 Jul;21(7):756–765.
114. Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur. Cell. Mater.* 2007;13:1–10.
115. Picraux ST, Pope LE. Tailored surface modification by ion implantation and laser treatment. *Science*. 1984 Nov 9;226(4675):615–622.
116. Pinto MR, dos Santos RL, Pithon MM, Araújo MT de S, Braga JPV, Nojima LI. Influence of low-intensity laser therapy on the stability of orthodontic mini-implants: a study in rabbits. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* 2013 Feb;115(2):e26-30.
117. Pithon MM, Santos MJ, Ribeiro MC, Nascimento RC, Rodrigues RS, Ruellas AC, et al. Patients' perception of installation, use and results of orthodontic mini-implants. *Acta Odontológica Latinoam.* 2015 Aug;28(2):108–112.
118. Pithon MM, Santos RL, Martins FO, Medeiros PJ, Romanos MTV. Citotoxicity of orthodontic mini-implants. *Rev Clín Pesq Odontol.* 2010;6(2):141–146.
119. Plecko M, Sievert C, Andermatt D, Frigg R, Kronen P, Klein K, et al. Osseointegration and biocompatibility of different metal implants – a comparative experimental investigation in sheep. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2012;13:32.
120. Potes JC, Reis J da C, Silva FC, Relvas C, Cabrita AS, Simões JA. The Sheep as an Animal Model in Orthopedic Research. *Exp. Pathol. Health Sci.* 2008;2(1):29–32.

121. Quah BJC, Parish CR. The Use of Carboxyfluorescein Diacetate Succinimidyl Ester (CFSE) to Monitor Lymphocyte Proliferation. *J Vis Exp.* 2010; (44):2259.
122. Reynders RM, Ronchi L, Ladu L, Di Girolamo N, de Lange J, Roberts N, Mickan S. Barriers and facilitators to the implementation of orthodontic mini-implants in clinical practice: a protocol for a systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews.* 2016; 5: 22.
123. Riss T, Moravec RA, O'Brien MA, Hawkins EM, Niles A. Homogeneous Miltiwell Assays for Measuring Cell Viability, Cytotoxicity and Apoptosis. In: Minor LK. *Handbook of Assay Development in Drug Discovery.* CRC Press; 2006:392-395.
124. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Duellman S, Benink HA, Worzella TJ, Minor L. Cell Viability Assays. In: Sittampalam GS, Coussens NP, Brimacombe K, et al. *Assay Guidance Manual.* Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004.
125. Ritto AK – Skeletal Anchorage: Different Approaches. In: Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics.* Mosby; 2009:238-259.
126. Roberts WE, Huja SS. Bone Physiology, Metabolism, and Biomechanics in Orthodontic Practice. In: Graber LW, Jr RLV, Vig KWL, Huang GJ. *Orthodontics: Current Principles and Techniques, 6<sup>th</sup> Ed.* Elsevier Health Sciences; 2016:99-152.
127. Roberts WE, Roberts JA. Endosseous Miniscrews: Historical, Vascular and Integration Perspectives. In: Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics.* Mosby; 2009:3-13.
128. Ryu HS, Namgung C, Lee JH, Lim YJ. The influence of thread geometry on implant osseointegration under immediate loading: a literature review. *J Adv Prosthodont.* 2014 Dec;6(6):547–554.
129. Safiya S, Manjunath G. Mini-Implant Materials: An Overview. *IOSR J. Dent. Med. Sci.* 2013;7(2):15–20.
130. Sandhu JS, Sandhu SV, Bector K, Sandhu SS. Patients' Perception and Postoperative Discomfort with Mini-implants. *J. Indian Orthod. Soc.* 2013 Oct 1;47(4):199.
131. Șandor SD. Metode si tehnici de cercetare in stiitele sociale [Internet]. Available from: <http://www.apubb.ro/wp-content/uploads/2011/02/Suport-MTCS-Ro.pdf>
132. Sarandha DL, L SD, Hussain Z, Uthkarsh. Osseointegrated Implants in Complete Denture Prosthodontics. In: *Textbook of Complete Denture Prosthodontics.* Jaypee Brothers Publishers; 2008:165-180.
133. Schwartz Z, Raz P, Zhao G, Barak Y, Tauber M, Yao H, Boyan BD. Effect of micrometer-scale roughness of the surface of Ti6Al4V pedicle screws in vitro and in vivo. *J Bone Joint Surg Am.* 2008 Nov;90(11):2485-2498.
134. Serra G, Morais LS, Elias CN, Meyers MA, Andrade L, Müller CA, et al. Sequential bone healing of immediately loaded mini-implants: histomorphometric and fluorescence analysis. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop. Off. Publ. Am. Assoc. Orthod. Its Const. Soc. Am. Board Orthod.* 2010 Jan;137(1):80–90.
135. Sharma M, Sharma V, Khanna B. Mini-screw implant or transpalatal arch-mediated anchorage reinforcement during canine retraction: a randomized clinical trial. *J. Orthod.* 2012 Jun;39(2):102–110.

136. Sidambe AT. Biocompatibility of Advanced Manufactured Titanium Implants – A Review. *Materials*. 2014;7(12):8168-8188.
137. Singh K, Kumar D, Jaiswal RK, Bansal A – Temporary anchorage devices – Mini-implants. *Natl. J. Maxillofac. Surg.* 2010;1(1):30–34.
138. Sirisa-Ard A, Woodroffe Michael SN, Ahmed K, Dunstan CR, Pearce SG, Bilgin AA, et al. Histomorphological and torque removal comparison of 6 mm orthodontic miniscrews with and without surface treatment in New Zealand rabbits. *Eur. J. Orthod.* 2015 Dec;37(6):578–583.
139. Son S, Kim SS, Son WS, Kim Y, Kim YD, Shin SH - Miniscrews versus surgical archwires for intermaxillary fixation in adults after orthognathic surgery. *Korean J Orthod.* 2015 Jan; 45(1): 3–12.
140. Souza Costa CA, Hebling J, Scheffel DLS, Soares DGS, Basso FG, Ribeiro APD. Methods to evaluate and strategies to improve the biocompatibility of dental materials and operative techniques. *Dent. Mater. Off. Publ. Acad. Dent. Mater.* 2014 Jul;30(7):769–784.
141. Tekale PD, Vakil KK, Vakil JK, Gore KA. Distalization of maxillary arch and correction of Class II with mini-implants: A report of two cases. *Contemp Clin Dent.* 2015 Apr-Jun; 6(2): 226–232.
142. Thorn K. A quick guide to light microscopy in cell biology. *Mol Biol Cell.* 2016 Jan 15; 27(2): 219–222.
143. Topcuoglu T, Bicakci AA, Avunduk MC, Sahin Inan ZD. – Evaluation of the Effects of Different Surface Configurations on Stability of Miniscrews. *The Scientific World Journal.* 2013; e396091.
144. Upadhyay M, Yadav S, Nanda R – Biomechanical Basis of Extraction Space Closure. In: Nanda R. *Esthetics and Biomechanics in Orthodontics.* Elsevier Health Sciences; 2012:90-107.
145. Vande Vannet B, Sabzevar MM, Wehrbein H, Asscherickx K. Osseointegration of miniscrews: a histomorphometric evaluation. *Eur. J. Orthod.* 2007 Oct;29(5):437–442.
146. Vernon-Parry KD. Scanning electron microscopy: an introduction. *III-Vs Rev.* 2000 Jul 1;13(4):40–44.
147. Vicelli RF – Orthodontic Anchorage. In: Burstone CJ, Choy K. *The Biomechanical Foundation of Clinical Orthodontics.* Quintessence Books, 2015:199-207.
148. Vilani GNL, Ruellas AC de O, Elias CN, Mattos CT. Stability of smooth and rough mini-implants: clinical and biomechanical evaluation - an in vivo study. *Dent. Press J. Orthod.* 2015;20(5):35–42.
149. Wadhwa S, Nanda R – Biological Response to Orthodontic Temporary Anchorage Devices. In: Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics.* Mosby; 2009:14-21.
150. Wehrbein H, Göllner P – Skeletal anchorage in orthodontics -basics and clinical application. *J. Orofac. Orthop. Fortschritte Kieferorthopädie OrganOfficial J. Dtsch. Ges. Für Kieferorthopädie.* 2007 Nov;68(6):443–461.
151. Wehrbein H, Jung BA, Kunkel M, Göellner P – Skeletal Anchorage in Orthodontics Using Palatal Implants. In: Nanda R, Uribe FA. *Temporary Anchorage Devices in Orthodontics.* Mosby; 2009:392-412.

152. Wennerberg A. Orthodontic Implants and Orthodontic Implants Surfaces. In: Wennerberg A, Albrektsson T, Jimbo R. *Implant Surfaces and their Biological and Clinical Impact*. Springer; 2015:157-178.
153. Widu F, Grivu ON, Benedict W, Curtuzan V, Faur A – Microimplantele. In: *Microimplantele in ortodontie*. Timisoara: Waldpress; 2011:39-47.
154. Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*. 2008 Jul;29(20):2941–2953.
155. Wilmes B, Panayotidis A, Drescher D. Fracture resistance of orthodontic mini-implants: a biomechanical in vitro study. *Eur. J. Orthod*. 2011 Aug;33(4):396–401.
156. Wilmes B, Rademacher C, Olthoff G, Drescher D. Parameters affecting primary stability of orthodontic mini-implants. *J. Orofac. Orthop*. 2006 May;67(3):162–174.
157. Wu J, Bai Y-X, Wang B-K. Biomechanical and histomorphometric characterizations of osseointegration during mini-screw healing in rabbit tibiae. *Angle Orthod*. 2009 May;79(3):558–563.
158. Yadav S, Upadhyay M, Roberts WE. Biomechanical and histomorphometric properties of four different mini-implant surfaces. *Eur. J. Orthod*. 2015 Dec;37(6):627–635.
159. Yano S, Motoyoshi M, Uemura M, Ono A, Shimizu N. Tapered orthodontic miniscrews induce bone-screw cohesion following immediate loading. *Eur. J. Orthod*. 2006 Dec;28(6):541–546.
160. Yao CC, Chang HH, Chang JZ, Lai HH, Lu SC, Chen YJ. Revisiting the stability of mini-implants used for orthodontic anchorage. *J Formos Med Assoc*. 2015 Nov;114(11):1122-8.
161. Yao C-CJ, Lee J-J, Chen H-Y, Chang Z-CJ, Chang H-F, Chen Y-J. Maxillary molar intrusion with fixed appliances and mini-implant anchorage studied in three dimensions. *Angle Orthod*. 2005 Sep;75(5):754–760.
162. Yu JH, Lin YS, Chang WJ, Chang YZ, Lin CL. Mechanical effects of micro-thread orthodontic mini-screw design in relation to artificial cortical bone thickness. *J Med Biol Eng*. 2012; 34(1):49-55.
163. Zhang Q, Zhao L, Wu Y, Wang H, Zhao Z, Xu Z, et al. The effect of varying healing times on orthodontic mini-implant stability: a microscopic computerized tomographic and biomechanical analysis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod*. 2011 Oct;112(4):423–429.
164. Zou Y, Kim D, Yagi M, Yamasaki Y, Kurita J, Iida T, Matsuyama Y, Yamaguchi K, Oda T. Application of LDH-release assay to cellular-level evaluation of the toxic potential of harmful algal species. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2013;77(2):345-52.