



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**CARACTERIZACIÓN DE COLÁGENO I y III EN TEJIDO BLANDO CON
PERIIMPLANTITIS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTOR: Maximiliano Alburquenque López
PROFESOR GUÍA: Dra. TM. Wendy Donoso Torres**

**TALCA – CHILE
Año 2020**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Talca, por permitirme participar de este grandioso proyecto. Al proyecto “Análisis Inmunohistoquímico y endoscópico del tejido óseo asociado a periimplantitis: Desarrollo de un modelo In vivo e In vitro” numero de proyecto REDI170658 y a la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT) por hacer posible este proyecto.

Al Doctor Bernardo Venegas Rojas por ayudarme y permitirme participar del proyecto y por supuesto a la Doctora Wendy Donoso Torres por ayudarme a encontrar e ingresar al proyecto, gracias por su orientación y apoyo en los momentos difíciles a pesar de todo.

A mi familia por apoyarme, ayudarme, escucharme en especial en los momentos que podrían ser más molestos, en general por todo lo que me han dado.

A mis amigos y amigas, por su comprensión, por siempre estar ahí y escuchando, apoyándome y divirtiéndome.

Finalmente, a todos los artistas que con sus obras ayudaron a distraerme, despejar mi mente y ayudándome a ser más feliz.

Índice

Introducción	1
Marco teórico	2
1. Relevancia de los implantes dentales	2
2. Implantes dentales	2
3. Proceso de implantación dental	4
4. Criterios y porcentajes de éxitos y fracasos de osteointegración dental	6
5. Enfermedades periodontales y periimplantarias	11
6. Tejido conectivo	13
6.1 Colágeno	15
7. Inflamación y reparación tisular	17
8. Métodos para caracterización de colágeno	19
9. Tinción rojo de picrosirius	21
Hipótesis y objetivos	24
Materiales y métodos	25
1. Muestras histológicas	25
2. Procesamiento de muestras y tinción rojo picrosirius	26
3. Captura de imágenes	29
4. Análisis de imágenes	29
Resultados	30
1. Características de los pacientes	30
2. Caracterización de colágeno	31
3. Análisis cuantitativo de las muestras	32
Discusión	34
Conclusión	39
Bibliografía	40
Anexos	47

Índice de tablas y figuras

Tabla 1 Estudios que evalúan la supervivencia y éxito de implantes colocados en sitios previamente fallidos	8
Figura 1 Muestra teñida con rojo de picosirius observada a 100X	23
Tabla 1 Esquema de desparafinación	27
Tabla 2 Esquema de deshidratación de la muestra	28
Tabla 4 Características demográficas de los pacientes con periimplantitis	30
Figura 2 Grafico de Enfermedades de importancia en explantes de implantes dentales estudiadas de los pacientes	31
Figura 3 Muestra teñida con tinción de rojo picosirius	32
Tabla 5 Resultados de colágeno de cada muestra en porcentaje y relación de colágeno I/III	33

Resumen

Los implantes dentales han ido en aumento en los últimos años y en algunos casos, éstos deben ser extirpados, sin embargo, aún se desconocen la totalidad de las causas del porque deben ser removidos, por lo que es necesario aumentar el conocimiento sobre las razones por las cuales se llega a requerir del explante del implante dental.

Este estudio tiene como objetivo aumentar el conocimiento respecto a este tema, por lo que se propone estudiar el tejido aledaño a un implante dental con periimplantitis, específicamente las fibras de colágeno, las cuales pueden dar una guía predictiva sobre una posible falla en el implante.

Con la finalidad de caracterizar este tejido, se utilizó la tinción rojo de picrosirius, para observar las diferencias porcentuales entre fibras de colágeno tipo I y III, relacionarlas con la literatura y las características de los pacientes desde donde se obtuvieron las muestras

Los resultados mostraron distintas proporciones de colágeno tipo I/III, donde se concluyó, que valores bajos en la proporción muestra mayor probabilidad de reparación del tejido dañado con periimplantitis y proporciones altas podrían sugerir estados alterados como fibrosis con la consecuente pérdida de funcionalidad tisular

Palabras claves: implantes dentales, periimplantitis, colágeno.

I. Introducción

Las pérdidas de piezas dentales se deben al daño del tejido alrededor del diente, que puede producirse por diversos motivos. Estos daños suelen deberse a infecciones que activan un proceso inflamatorio en el área circuncidante, lo que produce que la pieza dental no pueda sostenerse en la encía, así que debe retirarse e implantar nuevas piezas en remplazo de las perdidas o dañadas, estos implantes, pueden soltarse y requerir ser explantados.

La decisión de extraer un implante dental suele ser elegida por los odontólogos luego de estudiar el estado del implante y el cómo se ha osteointegrado. Daños en el hueso, implantes dañados, mal ubicados o que posean movimiento, son motivos por los cuales se toma la decisión de extraer dicho implante, sin embargo, aún existe desconocimiento sobre si la pieza implantada aún puede tener posibilidad de fijarse o cual es el motivo por el cual no se alcanzó el objetivo deseado. Debido a estas razones, se buscan los motivos por los que se llega al retiro del implante, entre las opciones se pueden estudiar diferentes tejidos cercanos al implante, tales como, tejido óseo, conectivo, epitelial, vascular, entre otros. En esta memoria, se estudiará el tejido blando de pacientes con implantes retirados por periimplantitis, específicamente analizando el colágeno I y III.

II. Marco teórico

1. Relevancia de los implantes dentales

La importancia de los implantes dentales ha ido en aumento asociado a la mejora en la expectativa de vida de las personas y a que la salud bucal en todos sus ámbitos es requerida para mantener o recuperar la función normal, estética, del habla y masticatoria que en muchas ocasiones no se logra con una prótesis removible. Además, existen procesos biológicos asociados a la pérdida de piezas dentales como los son la atrofia ósea, muscular y la reabsorción ósea del paciente edéntulo, que es necesario prevenir o mejorar (1).

Otro motivo por el cual han resultado relevantes radica en el mayor conocimiento respecto de la fisiología normal involucrada en el proceso de implantación de piezas dentales sustitutas. Día a día se realizan más investigaciones con el fin de aumentar el conocimiento sobre el tema, favoreciendo las implantaciones exitosas, determinando criterios sobre sus éxitos y fracasos (2).

Un implante que no tiene éxito, para el paciente significa un gasto económico adicional y someterse a un nuevo tratamiento para buscar la adecuada integración del implante, de ser posible, suponiendo una nueva inversión de tiempo y dinero.

2. Implantes dentales

La principal causa de pérdida dental es la periodontitis y caries, para lo cual la solución es la integración de un implante dental, teniendo una alta tasa de éxito, con porcentajes de

97% en los primeros 10 años y del 75% en los 20 años. Sin embargo, aún pueden ocurrir fracasos y pueden tener diversos problemas implantológicos (3) (4).

La razón para someterse a la utilización de implantes dentales va ligada a la pérdida dental, con distintas finalidades como reestablecer la estética natural anterior o para el restablecimiento de la salud dental. Sea cual sea el caso, se convirtió en uno de los mayores desafíos de la odontología. Por lo que se realizan distintas técnicas como implantes o cargas inmediatas o bien se estudian los distintos tipos de implantes, tanto en sus materiales como sus diferentes partes, para llegar a los mejores resultados posibles (5).

Como ya se mencionó con anterioridad, la implantación dental sigue siendo un desafío y está en constante estudio, por lo cual existen una serie de factores luego de la decisión de realizar un implante, como el procedimiento, la forma del implante, hasta los materiales que se utilizaran, para así encontrar el método ideal para cada paciente, ya que algo que le es útil a un paciente no es necesariamente útil para otro. Por ejemplo, en las técnicas, la de implantación inmediata, busca instalar un implante lo antes posible para así disminuir el número de sesiones, los costos y acelerar el tratamiento, pero esto puede llegar a ser un potencial factor de riesgo del implante y la técnica se ve cuestionada sobre la utilidad de su uso y cuando es correspondiente utilizarla (5) (6).

En cuanto a los materiales, existen varias opciones que pasan por distintos metales, como oro, acero, titanio entre otros. También se utilizan otros materiales como cerámicas y polímeros. Todos estos, poseen distintas características que son evaluables para ser utilizados, ya que un material ideal para el implante debe cumplir con características de ser biocompatible, ser resistente al desgaste, la corrosión y ser fuerte para evitar posibles fracturas del material (7).

El material más utilizado es el Titanio, ya que posee una resistencia mecánica adecuada, una buena biocompatibilidad y tolerancia a la corrosión, sin embargo, tiene defectos como

generar estrés en la zona implantar y falta de adaptación personalizada con los defectos óseos, lo que resulta en una falla en la fijación (8).

3. Proceso de implantación dental

Cuando el implante es instalado, debe pasar por un proceso que le permita mantenerse en el hueso y reemplace las funciones de una pieza dental normal, este proceso se conoce como oseointegración u osteointegración, el cual se define como una conexión directa estructural y funcional entre el hueso vivo, ordenado y la superficie de un implante sometido a una carga funcional (9).

Esta osteointegración es un proceso biológico continuo en el tiempo y no un resultado instantáneo, por lo que se requiere de evaluaciones constantes del implante por parte del odontólogo tratante (2).

El tiempo necesario, para una buena cicatrización, debe ser determinado en relación con la condición individual del paciente y el tejido que ha de ser tratado (9).

El adecuado proceso del implante dental comienza por un buen tratamiento clínico, en el que el odontólogo debe considerar una serie de factores que pueden afectar la osteointegración del implante, y este análisis es fundamental en el éxito (2).

En cuanto al proceso de oseointegración y adaptación del implante, primero en el sitio de contacto directo entre el implante y el hueso se produce la inmovilización permitida por el hueso, además de un hematoma, debido a un trauma termal y mecánico que se produce inevitablemente en la preparación del lecho óseo (9).

Posteriormente se produce un periodo de cicatrización, donde se forma tejido óseo desde la superficie del implante, es decir, existe una formación de tejido óseo desde el hueso al implante y desde la superficie del implante al hueso circuncidante (10).

El último proceso por el que pasa el implante es una fijación sin ningún intermediario y el hueso se remodela en respuesta a la carga masticatoria. Todo este proceso involucra una serie de eventos fisiológicos para que la nueva pieza dental pueda ser osteointegrada. El éxito de la implantación depende de la precisión en la composición y el diseño del implante, además de que el paciente siga las correctas indicaciones dadas por el profesional tratante (9).

El fracaso del implante, si bien sucede en pocas ocasiones, éstas ocurren de manera inesperada (11). En el fracaso de la osteointegración aún existe controversia y su definición debe incluir parámetros clínicos y radiológicos (12). Algunos autores (11) consideran el éxito completo de un implante dental cuando soporta una osteointegración o restauración dental de manera satisfactoria y duradera, junto con la sensación de satisfacción del paciente y el odontólogo. El éxito de un implante pocas veces puede definirse de forma absoluta en un momento puntual, ya que los éxitos pueden considerarse fracasos en un futuro, dado que la osteointegración y la comodidad del paciente pueden variar en las diferentes situaciones personales y el tiempo (12).

Las causas de las complicaciones y pérdidas están envueltas por complicaciones biológicas (sangramiento, hiperplasia gingival, exudado purulentos, bolsas profundas, reabsorción ósea, entre otras) y complicaciones mecánicas (incluyendo aflojamiento y/o fracturas de tornillos, fracturas de implantes y materiales de revestimiento tales como resinas y cerámicas). Estas causas deben ser evaluadas por el odontólogo tratante y no solo restringirse a la planificación y tratamiento inicial (13).

Identificar las causas de las pérdidas implantarias y sus factores relacionados, permite una intervención temprana y una minimización del daño (14).

La mayoría de las causas del fracaso implantar pasan por un proceso inflamatorio local, que será la causa para que el implante no pueda integrarse, posea movimiento y el hueso llegue a dañarse. Las causas más prevalentes de pérdida de hueso son las fracturas y la periimplantitis, aunque se trata de evitar que llegue hasta este punto realizando el explante sin que el hueso sea muy dañado, sin embargo, esto se vuelve una difícil decisión para el profesional tratante, ya que debe evaluar el implante y si aún puede llegar a tener éxito, sumado a que remover el implante es un desafío, debido a que es muy invasivo y puede llegar a dañar las piezas dentales vecinas, pero de no extraerlo a tiempo el hueso se puede dañar a un punto irreparable, en el que no se podrá volver a instalar un nuevo implante (15).

4. Criterios y porcentajes de éxitos y fracasos de osteointegración dental

Hoy en día dada la posibilidad de que los pacientes puedan acceder a tratamientos para reemplazar sus piezas dentales perdidas, se ha generado la necesidad de aumentar el conocimiento en este ámbito a través de la investigación científica, para así crear criterios que ayuden a mejorar la cantidad de tratamientos satisfactorios (2).

Diversos autores proponen criterios para determinar el éxito de una osteointegración, los propuestos por Albrektsson (16) se utilizan ampliamente y aunque en la actualidad, nuevos criterios presenten ligeras variaciones, los criterios son similares (17) y son los siguientes:

- El implante esta inmóvil cuando se evalúa clínicamente.
- No existe evidencia de radiolucidez periimplante evaluada en una radiografía sin distorsión.
- El promedio de pérdida ósea vertical es menor a 0,2 mm por año después del primer año del procedimiento.

- No exista dolor, incomodidad o infección atribuible al implante.
- El diseño del implante permite la colocación de una corona o prótesis con una apariencia satisfactoria tanto para el paciente como para el odontólogo.
- Mediante la aplicación de estos criterios se espera un porcentaje de éxito de un 85% a los 5 años de observación y de un 80% a los 10 años de observación para clasificar al implante dentro de los niveles mínimos de éxito.

Estos criterios pueden variar dependiendo de cada individuo, pudiendo presentar una condición estable, luego de un breve periodo de pérdida ósea (2).

Autores han planteado términos para el éxito en la calidad del estado de salud del implante clasificado en distintos niveles, planteada por James (18) y modificada por Misch (19). Esta escala le da al odontólogo criterios para categorizar al paciente y darle un tratamiento adecuado con el fin de evitar el daño y una explantación.

En el grupo I de la escala de calidad planteada por Misch (18), se ubican los implantes que tendrían condiciones de salud óptima, con criterios como sin dolor a la palpación, percusión o función. En el grupo II los implantes mostrarían una salud satisfactoria y se mencionan como estables, aunque podrían tener antecedentes o posibilidades de problemas clínicos. Los del grupo III, tiene un estado de salud comprometida, mostrando periimplantitis que puede ir de ligera a moderada, incluyendo pérdida vertical del hueso en una radiografía, saco periimplantario, sangrado al sondaje, inflamación y enrojecimiento de la mucosa, pero sin dolor. En el grupo IV se evidencia una calidad de salud del implante considerada como un fracaso clínico. En este grupo se presentan situaciones como; dolor a la palpación, percusión o función, movilidad horizontal de más de 0.5 mm, cualquier grado de movilidad vertical, pérdida ósea progresiva y sin control, presencia de exudado, entre otras posibles situaciones relacionadas al daño de la zona del implante.

En otros casos dividen las fallas en solo dos grupos, considerándolos fallas tempranas o tardías, donde la temprana atañe a fallas antes de que el implante este funcionalmente instalado, representando una inadecuada recuperación o osteointegración y las fallas tardías tratan de problemas en el implante, cuando este ya fue instalado y es funcional. Además, las causas del fracaso implantar también se pueden dividir en estos grupos, permitiendo encontrar el motivo de la falla de modo más sencillo (15).

En ambas formas de clasificación, para los fracasos implantares, se debe realizar un seguimiento meticuloso para revelar las fallas del implante y poder realizar un tratamiento adecuado (13).

Teniendo en cuenta los estudios realizados para entender mejor cuando es razonable quitar un implante y los criterios que se suelen usar, también se vuelve necesario conocer la probabilidad o porcentaje de que las fallas implantares ocurran y que se deba proceder a un retiro del implante. En esta línea, diversos trabajos han estudiado este tema, encontrando distintos resultados en las tasas de éxitos y fracasos en situaciones donde se necesitaba una reimplantación por segunda y hasta por tercera vez. Una revisión realizada por Solderer (2019) (15) buscó distintos artículos donde trabajaban estos temas y los comparó entre sí, los resultados se pueden observar en la tabla 1.

Tabla 3 Estudios que evalúan la supervivencia y éxito de implantes colocados en sitios previamente fallidos. Tomado y adaptado de Solderer 2019

Autor	Número de pacientes/implantes	Tiempo de seguimiento	Razón de la falla implantar	Supervivencia/tasa de éxito del implante luego de la explantación	Supervivencia / tasa de éxito del tercer intento
-------	-------------------------------	-----------------------	-----------------------------	---	--

Raghoobar, Meijer, van Minnen, y Vissink 2018 (20)	16/16	12 meses	Periimplantitis	Supervivencia y éxito del 100%	—
Anitua et al 2017 (21)	17/22	9-52 meses	Periimplantitis	Supervivencia del 94,7%	—
Chrcanovic et al 2017 (22)	98/175	—	—	Supervivencia del 73%	Supervivencia del 64,3%
Manor, Chaushu, Lorean, y Mijiritzky 2015 (23)	75/75	58,4 meses promedio	Complicaciones biológicas fallas tempranas con fracaso en la osteointegración en 77,3%	Supervivencia del 100% y del 92% en el grupo control	—
Wang et al. 2015 (24)	66/67	69,4 meses promedio	Fallas tempranas con fracaso en la osteointegración	Éxito del 90,6% Supervivencia del 94,6%	—
Quaranta, Perrotti, Piattelli, Piemontese, y Procaccini 2014 (25)	10/16	36 meses	Fallas tempranas con fracaso en la osteointegración	Supervivencia del 100% Éxito del 93,75%	—
Mardinger, Ben Zvi, Chaushu, Nissan, y Manor 2012 (26)	144/144	12-180 meses	Mezcla de motivos	Supervivencia del 93%	Supervivencia del 85%

Kim, Park, Kim, y Lee 2010 (27)	49/60	7-36 meses	—	Supervivencia del 88,7%	Supervivencia del 100%
Grossmann & Levin 2007 (28)	75/96	6-64 meses	—	Supervivencia del 71%	Supervivencia del 50%
Machtei, Horwitz, Mahler, Grossmann, & Levin, 2011 (29) Machtei, Mahler, Oettinger-Barak, Zuabi, & Horwitz, 2008 (30)	56/79	7-78 meses	Mezcla de motivos	Supervivencia del 83,5%	Supervivencia del 60%
Alsaadi, Quiryneen, & van Steenberghe 2006 (31)	41/58	9-49 meses	—	Supervivencia del 79,3%	—
Covani, Barone, Cornellini, & Crespi 2006 (32)	9/9	12 meses	Fracturas	Supervivencia y éxito del 100%	—

En la tabla se muestran distintos resultados, pero en todos se observa que la supervivencia de los implantes nuevos es alta. Al tomar en cuenta el promedio de supervivencia de todos

los estudios obtuvieron una tasa de supervivencia del 88,7% en implantes en zonas con fallas previas y 85% en implantes en zonas donde ya se tenían dos fallas previas (15).

De esta tabla también se puede desprender información sobre los motivos para la explantación y el éxito obtenido dependiendo del tiempo en el que el implante previo estuvo intentando integrarse.

5. Enfermedades periodontales y periimplantarias

Las infecciones periodontales como ya se mencionó, son una de las principales razones por la que se debe retirar una pieza dental y también extraer los implantes dentales. En este sentido se debe entender la fisiología normal, los diversos sitios que pueden ser afectados y las distintas situaciones en las que infecciones pueden afectar el sitio periodontal.

En primer lugar, el periodonto o ligamento periodontal es un tejido conectivo fibroso ubicado entre el hueso alveolar y el cemento que cubre la raíz de la pieza dental y lo conecta con la encía. Se compone por fibras, células y sustancia intracelular (compuesta de polisacáridos, proteínas, fibras colágenas, entre otras) (33).

Es la zona periodontal se encuentran variados tipos de células, los cementoblastos en la superficie del cemento, los osteoblastos a lo largo de la superficie del hueso alveolar y los fibroblastos que son los más abundantes en el ligamento periodontal, estos permiten una rápida formación y degradación de colágeno, el cual posee una gran densidad en esta zona (34).

A medida que se envejece, las células disminuyen en número y actividad, debilitando las diferentes partes del periodonto, por este debilitamiento en el cemento y el hueso alveolar

aparecen ondulaciones, en las cuales se unen algunas fibras en vez de unirse sobre la superficie dental. Otra característica del envejecimiento es una leve inflamación que se puede ver favorecida y potenciada por enfermedades infecciosas periodontales o gingivales produciendo cambios destructivos pudiendo llegar a producir pérdidas dentales (35).

En cuanto a las enfermedades periodontales, la periodontitis se define como una inflamación crónica del tejido que da soporte a la pieza dental causada por la infección de alguna bacteria periodonto patógena. Esta afección se asocia en gran medida a la higiene bucal, lo cual puede llegar a conducir a diversos daños hasta la pérdida de la pieza dental cercanas a la zona infectada (36).

Cuando la inflamación se produce teniendo un implante dental, se describen dos procesos posibles, la mucositis, la cual se entiende como una inflamación reversible de la mucosa periimplantaria acompañada de sangrado y la periimplantitis, la cual se define como un proceso inflamatorio que afecta a los tejidos blandos y duros que rodean un implante osteointegrado (37).

En cuanto a prevalencias de la mucositis y la periimplantitis, existen diferentes estudios que buscan conocer los porcentajes de fallas en los implantes por periimplantitis, sin diferenciar específicamente con la mucositis, sin embargo, los datos obtenidos de Lindhe (2008) (38), mostraron resultados, en donde la mucositis estaba presente en un 80% de los pacientes y la periimplantitis en un 28%.

La progresión de una periimplantitis comienza de un periimplante sano, en el cual se produce un biofilm de bacterias alrededor de la pieza dental osteointegrada, el motivo puede estar relacionado con los implantes, ya que existe una relación demostrada, de acumulación bacteriana en el titanio y la formación de una respuesta inflamatoria. Condiciones como la higiene bucal, conductas de tabaquismo, historial periodontal, enfermedades sistémicas, tipo de implante instalado, entre otros motivos que se siguen estudiando, facilitan la formación

de estos biofilms y los potencian, produciendo su asentamiento en la submucosa oral y el inicio de una mucositis (39) (24).

Posterior a la mucositis, de seguir avanzando, se produce un rompimiento de la barrera entre la mucosa y el implante dental, llevando a una invasión hacia tejidos más profundos, llegando hasta el hueso lo que se conocería como una periimplantitis, en esta, la infección esta avanzada y la respuesta inflamatoria ha destruido las células del tejido conectivo hasta parte del hueso y de continuar la lesión inflamatoria, solo aumentara el daño, llegando hasta la necesidad de retirar el implante (24).

6. Tejido conectivo

El tejido conectivo es de origen mesodérmico, presenta muchas formas y su composición varía dependiendo de la organización de las fibras y células que los compongan (40). Recibe este nombre, porque generalmente cumple función como conexión o enlace entre las diferentes estructuras, además da forma, resistencia y protección a otros tejidos (41).

El tejido conectivo, está compuesto de células incluidas en una matriz extracelular, la cual contiene sustancia fundamental, liquido hístico y fibras, esto forma un compartimiento vasto y continuo por todo el cuerpo, el cual es separado por láminas basales de diversos epitelios, láminas externas de las células musculares, las células de sostén del sistema nervioso y otras células y tejidos (42).

Este tejido presenta distintas variaciones a lo mencionado, como en el caso de la sangre, que también se considera tejido conectivo y no cumple con todas las características de lo anteriormente descrito. El tejido conectivo, equivale a un 70% del peso corporal y adquiere distintas modificaciones que le permiten realizar sus funciones específicas, como formas tejidos más elásticos o rígidos (41).

El tejido conectivo se puede dividir en tres, el tejido conectivo denso, laxo y reticular, aunque existen más posibles divisiones y otros tejidos que pueden clasificarse como otras categorías de tejido conectivo. El primero, el tejido conectivo denso, es un tejido más robusto, formado más por fibras que por células y predomina el componente fibroso, formando tejidos como hueso y tendones (41).

El tejido conectivo laxo, también conocido como pobre en fibra, cumple función de unir elementos tisulares específicos, como nervios y vasos sanguíneos, encajándolos en su entorno, sirviendo además como almacén de agua. Este se puede encontrar en la mucosa y submucosa, como en el tubo digestivo, sistema respiratorio (43).

La última clasificación, el tejido conectivo reticular, tiene la particularidad de ser similar al tejido conjuntivo del embrión. Posee una estructura formada más por células que fibras, especialmente de células reticulares. Forma estructuras como mallas o armazones que recubren órganos o tejidos como el tejido linfático (43).

En cuanto a las fibras, el tejido conectivo presenta varios tipos de fibras que están presentes en diferentes proporciones dependiendo de las necesidades estructurales y la función del tejido en el que se ubiquen, estas fibras son producidas por fibroblastos y se componen de proteínas en cadenas peptídicas largas, además se dividen en tres tipos, fibras reticulares, fibras elásticas y fibras colágenas (42), este estudio se centrará en las fibras de colágeno.

6.1 Colágeno

Las fibras colágenas son el tipo más abundante de fibras del tejido conectivo, éstas fibras son muy flexibles y de una gran resistencia tensora, que son sintetizadas por el fibroblasto (42).

El colágeno sintetizado, se forma de tres cadenas llamadas alfa, las cuales se entrelazan en forma de hélices. Existen cambios aminoacídicos en las proteínas que forman dos tipos de cadenas, conocidas como alfa 1 y alfa 2, estas están compuestas de 1050 aminoácidos (44).

Para la formación de colágeno, en el fibroblasto se forma de ARN mensajero a través de la transcripción del ADN, el que es traducido en el ribosoma para la formación de procolágeno (molécula que posee aproximadamente 100 aminoácidos extras, denominados péptido señal). Tras esto se produce la escisión de los péptidos de señal para así formar el procolágeno (45).

La molécula de procolágeno pasa por diferentes procesos de hidroxilación y glicosilación, lo que forma una triple hélice de colágeno con enlaces de sulfuro y puentes de hidrogeno. Las triples hélices de procolágeno viajan al aparato de Golgi donde son empaquetadas y excretadas (46).

En extracelular, las procolágeno-peptidasas rompen los extremos del procolágeno lo que forma el tropocolágeno, la cual es la fibra más pequeña de colágeno. Esta molécula se dispone en filas paralelas, con longitudes de diferencia entre las moléculas, formando una especie de “escalera”, de tal modo que se forman enlaces covalentes entre las diferentes lisinas de las cadenas (46).

A partir del tropocolágeno en forma de entramados supramoleculares se forman las fibrillas de colágeno, las que se asocian en una variedad de formas, dando diferentes grados de fuerza de tensión y produciendo diferencias entre las distintas fibras colágenas (45).

Un 80 a 90% del colágeno corporal está compuesto de colágeno tipo I, II y III, ubicados principalmente en el tejido conectivo. Las moléculas de tres hebras se asocian para formar polímeros de orden mayor llamados fibrillas, que a su vez se agrupan y forman fibras colágenas, los tipos de colágeno que forman estos polímeros son los ya mencionados I, II y III. También existen polímeros de orden menor, como colágeno asociado a fibrillas, los que conectan los colágenos fibrilares entre sí o con otros componentes de la matriz extracelular; colágenos formadores de láminas y de anclaje, que forman redes bidimensionales en la lámina basal; colágenos de transmembrana, que sirven como receptores de adhesión. En total existen aproximadamente 25 diferentes tipos de colágenos los cuales cumplen diferentes funciones y por esto poseen estructuras y características diferentes (47).

El colágeno tipo I es el más frecuente y se conforma por dos cadenas alfa 1 y una alfa 2, se encuentra en zonas como ligamentos, piel, tendones, huesos, dentina, etc. El colágeno tipo II es el colágeno fibrilar del cartílago, formado por tres cadenas alfa 1, se ubican el cartílago, esclerótica, cuerpo vitreo, entre otros. El colágeno tipo III, se encuentra en cantidades reducidas junto al colágeno tipo I en muchos tejidos, este se compone de tres cadenas alfa 1 y forma redes de fibras relativamente delgadas, puede encontrarse en zonas como órganos linfáticos, células musculares, superficie de adipocitos, pared de los vasos sanguíneos, entre otras zonas (48).

En la zona donde los implantes deben integrarse, se encuentra un tejido conectivo blando que sostiene a las piezas dentales en la cavidad del hueso alveolar, en este tejido se encuentra una alta cantidad de colágeno y la mayor proporción es de colágeno tipo I (49). En caso de

daños de esta zona u otros tejidos, la reparación dependerá en gran parte del colágeno, el cual se producirá en alta cantidades durante el proceso de reparación y cicatrización (50).

7. Inflamación y reparación tisular

La inflamación se produce en respuesta ante daño tisular e infecciones, con el fin de proteger contra la posibilidad de desarrollar infecciones sistémicas y ayudar a restaurar la hemostasia. Este proceso representa un mecanismo de defensa crucial para la salud (51).

Este proceso es importante para soportar el daño y las infecciones, de no estar presente, las infecciones no se controlarían y las lesiones no se repararían. El proceso reparativo se resuelve con el adecuado progreso de la respuesta inflamatoria, si este evento de daño se mantiene o no se soluciona, las alteraciones permanecen junto con la respuesta inflamatoria (35).

Ante el daño tisular o el daño producido por las infecciones, el organismo pasa por un proceso de reparación, el cual se evoluciona en tres fases, una inflamatoria, una proliferativa y una madurativa, que de seguir el adecuado proceso podrán restaurar la integridad del tejido dañado (52).

Teniendo en cuenta lo anterior, la respuesta inflamatoria, se divide en dos etapas, una respuesta aguda y otra crónica. La primera es una respuesta rápida y relativamente breve, en la que se produce edema, exudado, aumento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos, migración de células inflamatorias y destrucción de los agentes dañinos mediado por los leucocitos. Si se consigue eliminar a los agentes injuriantes, la inflamación se detiene y se inician procesos de reparación tisular, sino se logra, la reacción puede evolucionar a una enfermedad inflamación crónica (35).

La inflamación crónica, es de mayor duración, es un proceso de progresión simultánea de inflamación activa, destrucción y cicatrización del tejido, por lo que se produce proliferación de vasos sanguíneos, fibrosis y necrosis tisular. Esta puede presentarse luego de una respuesta inflamatoria aguda o como una respuesta progresiva de bajo nivel, sin manifestaciones de una reacción aguda previa, siendo una afección causante de diferentes patologías (35).

En el caso de la periimplantitis, el daño que se produce se debe a un proceso inflamatorio crónico, donde la inflamación compromete tanto a tejidos blandos como duros provocando hasta pérdida ósea (24).

La reparación de los tejidos dañados busca paliar la pérdida producida con anterioridad, según el tipo de tejido y cuán funcional sea la reparación se produce una regeneración o una cicatrización. La primera muestra una reparación por completo de los tejidos, como en epitelios, hígado, hueso, ligamento periodontal, entre otros. La cicatrización se presenta cuando el tejido destruido es reemplazado por tejido cicatrizal, se presenta en tejidos con menor capacidad mitótica. Hay que tener en consideración que esto no es estricto y diversas situaciones como la extensión de la destrucción tisular o el tipo de daño, influyen en la capacidad de reparación (53).

Los primeros días de reparación tisular se produce una fase de proliferación, en la que se aumenta la mitosis de las células no dañadas con esta capacidad, a su vez se produce un aumento en la vascularización para suplementar la adecuada cantidad de nutrientes, junto a distintos factores de crecimiento (35).

En el proceso reparativo, se produce un aumento de fibroblastos, para aumentar la producción de colágeno, en reemplazo del perdido en la lesión. En esta segunda etapa de proliferación aumenta la producción de las fibras colágenas más delgadas, como las del tipo

III, que se presentan en alta cantidad en vasos sanguíneos. Durante este proceso el tejido posee una menor consistencia, a pesar de poseer una mayor cantidad de fibras colágenas ya que son fibras más delgadas (54).

Posteriormente durante la fase de maduración, ocurre una reducción en el número de células respecto a fase anterior como fibroblastos y macrófagos, sumado a una reducción en el contenido de agua. Adicionalmente, se produce un equilibrio entre la degradación del colágeno y su producción, siendo eliminado el colágeno tipo III que es más delgado y reemplazado por fibras más firmes de colágeno tipo I. Este proceso demora más tiempo aquí, la síntesis y degradación de colágeno puede proseguir de 12 hasta 24 meses después de la lesión, y distintas alteraciones en este proceso puede producir una sobreproducción o una baja producción de colágeno, afectando directamente al resultado de la cicatriz (35) (54).

8. Métodos para caracterización de colágeno

El colágeno proporciona soporte a diversos tejidos y conocer la fuente de procedencia de la proteína y las técnicas para su procesamiento se vuelve de gran importancia (55). La caracterización del colágeno permite detectar enfermedades que se asocian a esta proteína o generar posibles asociaciones en busca de ampliar su utilidad, como es el caso de esta memoria, de modo que conocer las técnicas para su identificación ayudará a elegir cual es la mejor a utilizar para cada caso específico.

La cadena alfa del colágeno está constituida por una secuencia única de aminoácidos, repetida por tres aminoácidos, de glicina, prolina e hidroxiprolina (42), esta última constituye aproximadamente el 10% de la composición del colágeno y se encuentra exclusivamente en este tipo de proteínas, por lo que es posible su cuantificación a partir de la determinación de hidroxiprolina, para ello existen métodos como la electroforesis o espectrofotometría (55).

Las fibras colágenas tienen un diámetro de 1 a 10 micrómetros y poseen una forma levemente ondulada. La organización de las fibras varía de acuerdo con la función que cumplan en sus respectivas ubicaciones, por lo que se observan de distintas formas dependiendo de cuál tipo de colágeno sea y la ubicación correspondiente. Para la observación microscópica se pueden utilizar distintas tinciones (47).

De éstas, la más empleada es la de hematoxilina eosina (H&E), tanto en investigación como en diagnóstico (56). Esta tinción entrega una visión detallada del tejido y permite identificar diferentes estructuras como fibras, vasos sanguíneos, organizaciones celulares y anormalidades en estos (57).

Otra tinción que es utilizada para la identificación de colágeno tisular es la tinción tricrómica de Masson que, a diferencia de la anterior, permite la caracterización específica del colágeno, para diferenciarla de otras estructuras. Esta tinción posee afinidad por el colágeno, tiñendo todas las fibras colágenas del mismo color (58).

La tinción fue descrita por Masson en 1929, en un estudio en el cual realizó tinciones en el tejido conectivo, resaltando el color azul en el colágeno y la coloración roja en el tejido muscular (56).

En este estudio se realizó la caracterización de colágeno a través de tinción de picrosirius, sin embargo, se pueden utilizar otras tinciones que permiten la determinación de colágeno con distintas características.

8.1 Tinción rojo de picosirius

Para la detección de colágeno, tradicionalmente se utilizaron técnicas histoquímicas, principalmente tinción de Van Gieson y tricrómicas, las cuales junto a algunas más se utilizan de forma rutinaria (59). Sin embargo, estos métodos, poseen limitaciones al identificar colágeno, debido a que se dificulta la detección de fibras pequeñas (60).

Los problemas de éstas tinciones se vieron superados con la tinción de rojo de picosirius y la visualización con luz polarizada realizada por Constantine y Mowry en 1968, logrando proponer un método simple y sensible para la detección de colágeno, éste se basa en dos soluciones aniónicas que reaccionan con las estructuras catiónicas de las fibras colágenas (61).

La tinción rojo de picosirius está constituida por un colorante hidrofílico que posee grupos de ácido sulfúrico, que reaccionan con las estructuras básicas presentes en el colágeno. Existe una disposición paralela entre las moléculas del colorante con las fibras de colágeno, lo que resulta en refringencia observable en un microscopio de luz polarizada, esta se observa como un brillo de distintos colores bajo en el microscopio, que podría diferenciar distintos tipos de colágeno (62).

Algunos autores reportan que el cambio de color se asociaba a el espesor de las fibras, sin embargo, diferentes estudios que utilizan esta combinación de colorantes han mostrado que no solo representaban una delgadez en las fibras, sino que esta refringencia también tiene asociación en la estructura del colágeno y puede poseer un rol clave en la diferenciación de estas fibras (59) (63).

La diferenciación de los distintos colágenos con la refringencia observada en el microscopio puede ser difícil de observar, por esto, algunos autores piensan que esta se debe

solo al espesor de las fibras y no a la composición específica de cada tipo de colágeno, sin embargo, asociado a un análisis morfométrico de la imagen obtenida, esta tinción puede representar el mejor método para estudiar y cuantificar la remodelación de la red de colágeno (64).

Los protocolos para teñir utilizando la tinción de picosirius pueden variar según el lugar donde se realice y el protocolo cambia ligeramente en cada laboratorio. Tomando como ejemplo un trabajo experimental realizado por Drifka (2016) (65), el cual siguió un protocolo similar al utilizado en este estudio, se pueden notar las similitudes en el protocolo con ligeras diferencias.

En cuanto a la observación de los resultados obtenidos en los distintos estudios analizados, estos difieren ligeramente, en los colores que se obtienen, pero dentro de los resultados esperados según la literatura, donde los colores pueden variar de rojo a anaranjado en colágeno tipo I y de verde brillante a amarillo brillante en los resultados de colágeno tipo III. Un ejemplo de resultados se puede observar en la figura 1, del estudio realizado por Sharma (2015) (60), en el que describen los colores observados con predominancia de color amarillo y anaranjado con zonas de rojo refringente en la imagen A, en la imagen B nuevamente amarillo y anaranjado con tonos verdoso y finalmente en la imagen C, un intenso tono verdoso.

Estos resultados obtenidos de Sharma (2015) difieren ligeramente de un resultado normal o esperado de la tinción de rojo picosirius, sin embargo, cae dentro de los resultados posibles y muestra que existe variabilidad en los resultados correctos que se puedan obtener en una muestra con tinción con rojo de picosirius.

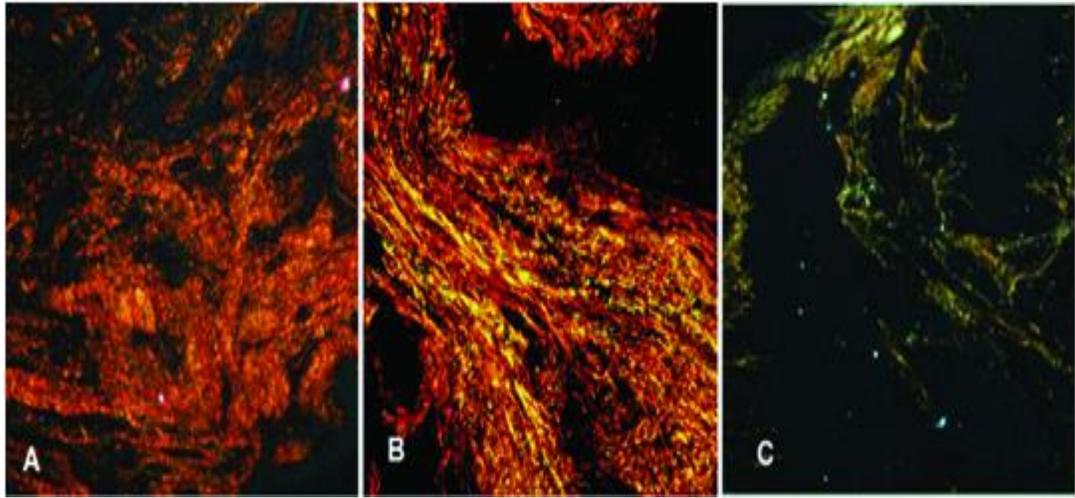


Figura 2 Muestra teñida con rojo de picosirius observada a 100X. Tomado de Sharma 2015.

III. Hipótesis y Objetivos.

1. Hipótesis

Las diferencias porcentuales de colágeno I y III del tejido blando con periimplantitis puede brindar información sobre la falla de los implantes.

2. Objetivo general

Caracterizar colágeno I y III en tejido conectivo adyacente a un implante dental con periimplantitis.

3. Objetivos específicos

1. Describir las características demográficas y clínicas de los pacientes con periimplantitis.
2. Determinar la relación porcentual de colágeno I y III en tejido blando de los pacientes con periimplantitis.

IV. Materiales y métodos

Las muestras de tejido blando aledaño a un implante dental con periimplantitis, fueron teñidas con tinción de picosirius, para la observación de colágeno y la diferenciación del tipo I y III, al analizar mediante un programa computacional las imágenes tomadas en un microscopio de luz polarizada.

1. Muestras histológicas

Las muestras utilizadas en el estudio fueron obtenidas a partir de tejido blando afectado por periimplantitis, para lo que se realizaron procedimientos quirúrgicos en el centro de Clínicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de la Frontera de Temuco y la Universidad de Concepción. El procedimiento se realizó en pacientes con indicación clínica para retiro de implantes, aplicándoles un consentimiento informado previo para la participación en el proyecto, “Análisis Inmunohistoquímico y endoscópico del tejido óseo asociado a periimplantitis: Desarrollo de un modelo *in vivo* e *in vitro*” numero de proyecto REDI170658, CONICYT-CHILE. Este estudio contó con la aprobación del comité ético científico de la Universidad de la Frontera (anexo 1).

El tamaño muestral fue de 15 casos, de los cuales 10 muestras fueron obtenidas de la Universidad de Concepción y las 5 muestras restantes fueron obtenidas de Universidad de la Frontera de Temuco.

Criterios de inclusión:

- Pacientes sistémicamente no comprometidos.
- Pacientes con periimplantitis grado 4.

- Implante osteointegrado en algún área de superficie ósea.
- Pacientes que fumen con una frecuencia menor a 10 cigarrillos al día.

Criterios de exclusión:

- Pacientes que no aceptan tratamiento.
- Pacientes con compromiso sistémico.
- Pacientes que fumen con una frecuencia igual o mayor de 10 cigarrillos al día.
- Pacientes alcohólicos.
- Pacientes que no firmen el consentimiento informado.

Luego de definir la necesidad de retirar un implante debido a la infección severa de sus tejidos periféricos, se le explicó al paciente en detalle el protocolo de explantación y se procedió a intervenir, siempre que este último diera su autorización respaldada con la firma del consentimiento informado.

En el procedimiento quirúrgico se llevó a cabo bajo anestesia infiltrativa local (lidocaína 2%, epinefrina 1:100.000) y con campo estéril, se realizó una incisión en bisel interno para eliminar el tejido blando periimplantario afectado, posteriormente este tejido se almacenó en frasco con formalina 10% neutra tamponada (Cancer Diagnostics, EEUU) y se refrigeró para su mantención previa al procesamiento en el laboratorio de Patología Oral de la Universidad de Talca.

5. Procesamiento de muestras y tinción rojo picrosirius

El procesamiento de las muestras se realizó de acuerdo con el siguiente protocolo en un procesador de tejidos automático modelo STP 120 (Microm, Alemania).

- Primero se realizó la deshidratación de las muestras con inmersión en alcohol etílico Pureview® Alcohol (Cancer Diagnostics, EEUU) a concentraciones ascendentes por 60 minutos en cada uno (70%, 90%, 95% y 100%).
- Una vez deshidratadas, las muestras fueron sumergidas en xileno (Merck, Alemania) como aclarante en 2 pasos de 60 minutos.
- Las muestras aclaradas fueron incluidas durante 90 minutos en parafina histológica Paraplast Plus (Merck, Alemania) a 58°C, en dos pasos, luego se confeccionó el taco o bloque con un dispensador de parafina (Medax, Alemania) y moldes de tamaño proporcional a la muestra de tejido blando, para luego dejar enfriar a temperatura ambiente.
- La muestra incluida fue cortada con un grosor de 5µm en un micrótopo rotatorio modelo HM20 (Microm, Alemania) y un baño de flotación (Medax, Alemania) a 40° C, depositando el corte sobre la superficie de un portaobjetos silanizado, obteniéndose una lámina histológica con un corte.

Antes de realizar la tinción, el portaobjetos con el corte histológico se desparafinó y rehidrató en series de xileno y concentraciones descendientes de alcohol etílico siguiendo el siguiente protocolo:

Tabla 4: Esquema de desparafinación

Estufa 65°C	20 minutos
Reactivo	Tiempo
Xileno	5 minutos
Xileno	5 minutos
Xileno	5 minutos
Alcohol 100%	5 minutos
Alcohol 100%	5 minutos
Alcohol 95%	5 minutos
Alcohol 90%	5 minutos
Alcohol 70%	5 minutos
Agua destilada	5 minutos

Una vez hidratadas las muestras se realizó la tinción rojo picosirius según Kiernan (66).

- Las muestras fueron teñidas con hematoxilina de Weigert (Biopack, Argentina), por 8 minutos a 22° C, luego se aclararon con agua destilada por 10 minutos.
- A continuación, se aplicó a las muestras la solución de picosirius (Sigma-Aldrich, Alemania) por 60 minutos a 22° C.
- Posteriormente se aclaró con dos cambios de agua acidificada con ácido acético (Sigma-Aldrich, Alemania) 0,5%.

Concluido el protocolo de tinción, las muestras fueron deshidratadas para realizar el montaje de las láminas, siguiendo el siguiente protocolo:

Tabla 5: Esquema de deshidratación de la muestra.

Reactivo	Tiempo
Alcohol 70%	1 segundo
Alcohol 90%	2 segundos
Alcohol 95%	3 segundos
Alcohol 100%	4 segundos
Alcohol 100%	1 minuto
Xileno	2 minutos
Xileno	2 minutos
Xileno	2 minutos

El montaje se realizó en medio resinoso CoverSeal™-X (Cancer Diagnostics, EEUU) y un cubreobjetos de tamaño apropiado a las dimensiones de la muestra, luego se secó a temperatura ambiente protegido de la luz directa hasta su posterior visualización y análisis.

6. Captura de imágenes

La captura de imágenes de las muestras teñidas con tinción rojo de picrosirius se realizó con un microscopio de luz polarizada Primotech (Zeiss, Alemania) y un sistema de remoto de captura de imágenes en un ordenador portátil. De este modo, se tomaron un total de 5 microfotografías por muestra. Las imágenes se observaron con aumento mayor (40X) y el polarizador en una posición oscilante entre 280° a 300° de ángulo de rotación.

7. Análisis de imágenes

Las imágenes obtenidas del microscopio de luz polarizada fueron analizadas con el programa ImageJ (67), desarrollado por “National Institute of Health” (NHI), y la aplicación *color deconvolution*. Se obtuvo la relación porcentual de colágeno tipo I y colágeno tipo III de cada muestra diferenciando el colágeno tipo I, de color rojo opaco y el colágeno tipo III, de color amarillo brillante (68).

Para poder realizar la diferenciación se seleccionó el color respectivo al colágeno del tipo buscado (rojo colágeno tipo I y amarillo brillante colágeno tipo III) en el programa de análisis de imágenes que permite seleccionar las zonas de la muestra donde se observe el color deseado, para luego mostrar la cantidad de píxeles que ocupen en las secciones seleccionadas, de este modo se obtiene un valor numérico sobre la cantidad de colágeno en la imagen.

Para obtener los resultados en porcentajes se sumaron los resultados de ambos tipos de colágenos en píxeles y se tomó ese resultado como el 100% de colágeno en la imagen, luego los resultados de cada tipo de colágeno se toman por separado para calcular a que porcentaje del total corresponde.

V. Resultados

1. Características de los pacientes

Al obtener las muestras de los pacientes, también se tuvo en cuenta diversas características que pudiesen afectar al desarrollo de la afección y la necesidad de extirpar los implantes, las cuales suelen ser relatadas en la literatura como relacionables. Las características utilizadas y sus resultados se pueden observar en la tabla 4 y figura 5.

Tabla 4 Características demográficas de los pacientes con periimplantitis

Paciente	Edad (años)	Genero	Tiempo del implante (meses)	Tabaco	Número de cigarrillos diarios	Duración del hábito (años)
1	58	F	48	No	No	No
2	63	M	5	No	No	No
3	65	M	12	No	No	No
4	65	M	12	No	No	No
5	33	F	—	No	No	No
6	79	M	24	Si	10	50
7	50	F	—	Si	10	30
8	52	M	36	No	No	No
9	63	F	60	No	No	No
10	63	F	60	No	No	No
11	67	F	96	No	No	No
12	71	F	60	No	No	No
13	77	F	—	No	No	No
14	77	F	—	No	No	No
15	62	M	6	No	No	No

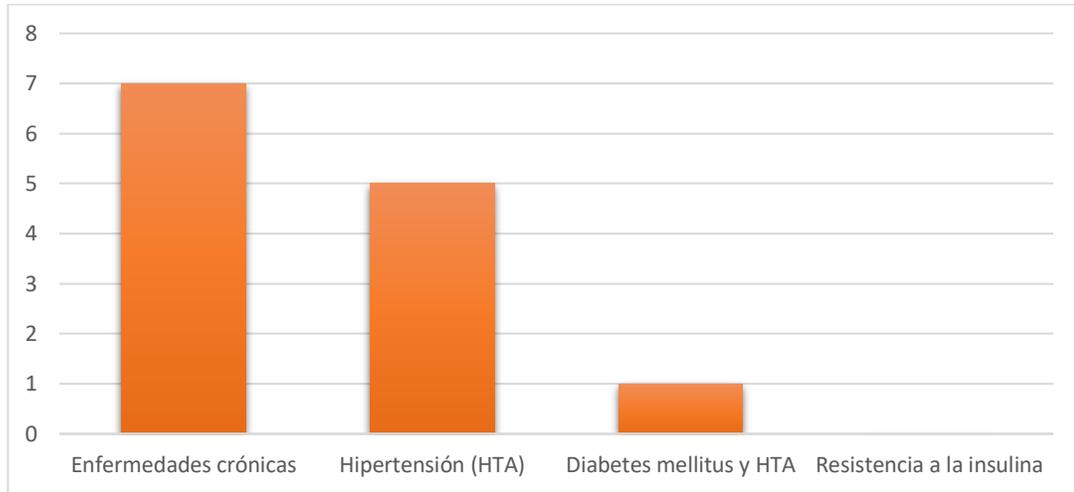


Figura 2 Gráfico de enfermedades de importancia en explantes de implantes dentales estudiadas de los pacientes

2. Caracterización de colágeno

Para la diferenciación de las fibras colágenas las muestras fueron teñidas con rojo de picrosirius, donde se puede notar una diferencia de color entre el colágeno tipo I y el tipo III como se ve en la figura 3.

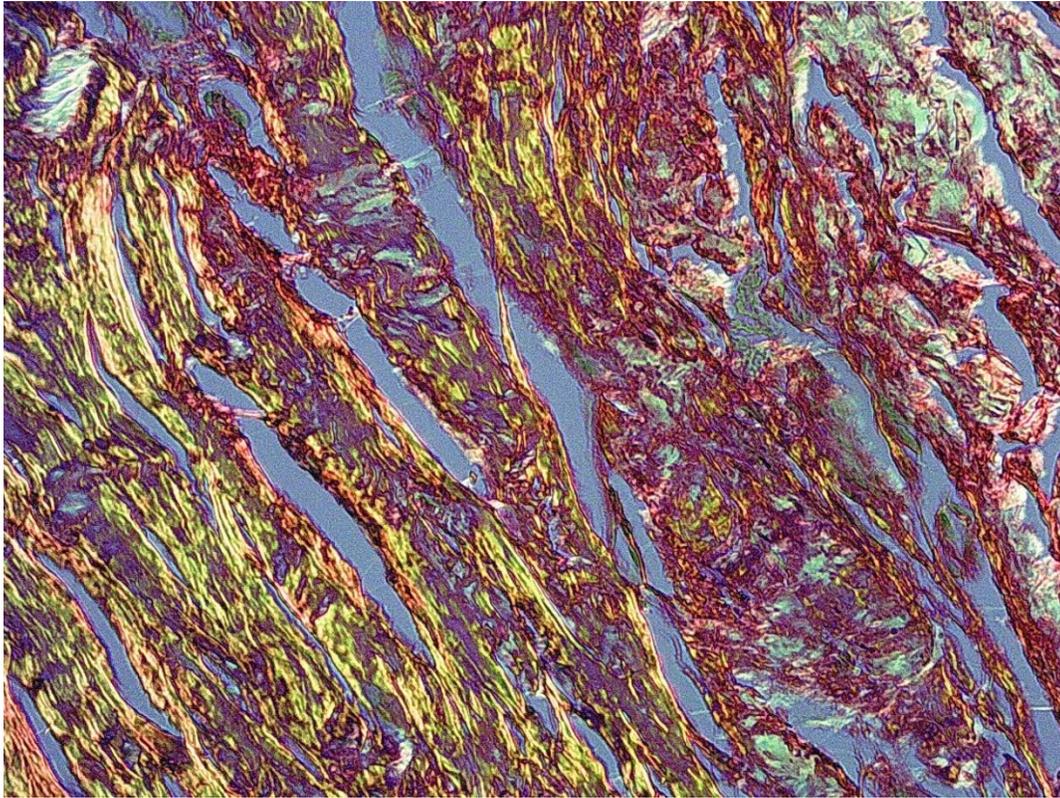


Figura 3 Muestra teñida con tinción de picrosirius

Se puede observar la diferencia de color entre las dos fibras colágenas de tipo I y III, en donde el colágeno tipo I se observa de color rojizo y el colágeno tipo III de un color amarillo refringente.

3. Análisis cuantitativo de las muestras

Al analizar las muestras 15 muestras teñidas con rojo picrosirius, se pudo diferenciar las fibras colágenas de los demás tejidos y determinando la totalidad de colágeno entre los tipos I y tipo III, llevando la suma de los dos como el cien por ciento para realizar una relación entre ellos, lo que se observa en la tabla 6.

Tabla 5 Resultados de colágeno de cada muestra en porcentaje y relación de colágeno I/III

Muestras	Porcentaje de colágeno I	Porcentaje de colágeno III	Razón colágeno I/III
1	85,888%	14,112%	6,086
2	83,190%	16,810%	4,948
3	67,954%	32,046%	2,120
4	72,856%	27,144%	2,684
5	83,859%	16,141%	5,195
6	74,990%	25,010%	2,998
7	80,952%	19,048%	4,249
8	83,260%	16,740%	4,973
9	58,395%	41,605%	1,403
10	78,069%	21,931%	3,559
11	76,614%	23,386%	3,276
12	86,357%	13,643%	6,329
13	88,723%	11,277%	7,867
14	76,515%	23,485%	3,258
15	86,548%	13,452%	6,433

VI. Discusión

Al caracterizar a los pacientes, se tomaron en cuenta hábitos y enfermedades que en la literatura muestran relación con la periimplantitis (24). Los pacientes de los cuales se obtuvieron las muestras, 9 fueron mujeres y 6 hombres, en edades entre los 33 y 77 años.

Se tuvo en cuenta por cuanto tiempo los pacientes tuvieron el implante antes de su explantación, el paciente que lo tuvo por menos tiempo fue de 5 meses y el que lo tuvo por mayor tiempo 96 meses, el tiempo del implante podría relacionarse con los porcentajes de colágeno y con las otras características que se tuvieron en consideración.

El hábito del tabaco parecería tener una relación con padecer de periimplantitis la cual se puede explicar, ya que la nicotina daña la síntesis de proteínas y afecta la capacidad de adhesión de los fibroblastos de la encía, además favorece la vasoconstricción, lo que produce bajos niveles de oxígeno, los cuales favorecen el crecimiento bacteriano, especialmente de bacterias anaeróbicas (69), por lo que al tomar las muestras de los pacientes se preguntó por si poseían el hábito de fumar tabaco, y de ser así, se preguntó la cantidad que fumaban y por cuanto tiempo, ya que existe una relación positiva entre el mayor consumo de numero de cigarrillos con la posibilidad de producir enfermedades periodontales (70).

Distintas enfermedades crónicas y sistémicas también se asocian con la periimplantitis, ya que la respuesta inmune y la cicatrización es menor en personas con estas enfermedades, especialmente en enfermedades inmunodepresoras, en el caso de la diabetes, esto se presenta en pacientes que no la tienen bien controlada (71). Al tomar las muestras se consideró la presencia de estas enfermedades, teniendo en cuenta la hipertensión, la diabetes mellitus y la insulino-resistencia, las cuales según autores como Jepsen (2018) (72) y Albandar (2018) (73) tienen una relación estadística con la periimplantitis muy alta y en cuanto a las diabetes se conoce más evidencia sobre la diabetes mellitus que sobre la diabetes insulino-resistente,

debido a la mayor prevalencia de la diabetes mellitus. Las relaciones encontradas en Martínez (2017) (74) hablan de la diabetes crónica, como una enfermedad que produce productos finales de glucosilación avanzada, los cuales incitan la hiperactividad en las respuestas inflamatorias, un aumento en la apoptosis celular, modificaciones vasculares, entre otros procesos que se traducen en una cicatrización alterada y una predisposición a infecciones. Mientras que en el caso de la hipertensión, esta se caracteriza por un desbalance entre los factores relajantes y constrictores de los vasos sanguíneos, potenciando la vasoconstricción (75), la cual produce una reducción del flujo de sangre en la microcirculación gingival, que favorece la formación de infecciones gingivales (70).

La técnica de rojo de picrosirius, utilizando microscopia de luz polarizada permitió identificar la presencia de colágeno y caracterizar el colágeno tipo I y III en las muestras de tejido blando adenaño a un implante dental con periimplantitis, comprobando la presencia de este tipo de fibras en el tejido blando adenaño al implante dental como se muestra en la literatura revisada (47).

Con el fin de entender resultados porcentuales de colágeno, se tiene en consideración la fisiología normal de una reparación tisular. En primera instancia se produce una inflamación local que retiene el daño y se libran factores de crecimiento entre ellos, factor de crecimiento endotelial vascular, esto produce un aumento de colágeno tipo III, ya que este colágeno se encuentra en alta cantidad en vasos sanguíneos, a medida que avanza el proceso de cicatrización, los espacios que poseen colágeno tipo III, disminuye con el tiempo y es reemplazado por colágeno tipo I, el que es más firme y maduro (76). Por lo que se puede asociar proporciones mayores de colágeno tipo III a tejidos que aún están en procesos de reparación tisular y en su defecto porcentajes mayores de colágeno tipo I a tejidos que ya terminaron su proceso de reparación o ya está muy avanzado.

Distintos estudios como los de Cui (2019) (77), Gordon (2019) (78) y Wang (2019) (79), relacionan la inflamación crónica con un aumento en el colágeno tipo I que produce fibrosis, en distintos tejidos, como el tejido hepático y tejido intestinal, esta asociación se da solo en inflamaciones crónicas, pero no en las agudas. La fibrosis hepática la atribuyen a otros

motivos principalmente a hepatitis crónica, la que se podría relacionar con la periimplantitis, la cual también es una inflamación crónica, producto de infecciones, por lo que aumentos en colágeno tipo I, podrían relacionarse con daños avanzados como la fibrosis. El mayor tiempo por el cual la inflamación crónica ha estado produciendo daño, la relacionan con una mayor posibilidad de producir fibrosis y a su vez con una mayor extensión del tejido fibrótico, por lo que mayores tiempos de permanencia del implante con periimplantitis antes de su extracción podrían relacionarse con razones de colágeno tipo I/III mas altas y tejidos fibróticos en la mucosa oral.

Para obtener conclusiones se comparan con otros estudios donde obtuvieron valores numéricos para identificar el avance del daño o la posibilidad de cicatrización. Los resultados utilizados para comparar son los obtenidos de Brown (2011) (80) y Kaku (2014) (81), donde obtuvieron valores normales de razones de colágeno tipo I/III de 4 aproximadamente en piel y mucosa oral. Razones inferiores a las normales, en estudios como los de Blotta (2018) y los de Li (2007), los relacionan con estadios tempranos de la reparación tisular y en el estudio de Obaíde (2018) (68), indica valores que determina como heridas con cambio adaptativo, los cuales hacen referencia a tejidos que aún tienen capacidad de regenerarse y los resultados que obtuvieron fueron de $2,48 \pm 2,13$. Al comparar con los resultados obtenidos, se pueden observar 8 muestras que caen dentro de estos valores de cambio adaptativo y las 7 muestras restantes por sobre las proporciones mostradas. Las que están dentro de los rangos, podrían ser heridas que aún pueden adaptarse al implante y aceptarlo, ya que el recambio de colágeno aún está en estados proliferativos, donde el tejido es más endeble, pero con mayor capacidad de adaptación, por lo que la periimplantitis aún podría ser solucionada y el daño producido por la inflamación está en procesos recuperativos.

Al tomar en consideración los resultados de la tabla 4 y 5 que nos muestran las distintas características de los pacientes a las cuales se les tomaron las muestras, se pueden realizar los siguientes análisis.

En cuanto al tiempo del implante antes de ser retirado, como se menciono anteriormente mayores tiempos podrían relacionarse con una mayor razón de colágeno tipo I/III, al observar las muestras que tienen mayor porcentaje de colágeno tipo I, de las 5 sobre las cuales se puede analizar el tiempo del implante, en 3 se tienen tiempos mayores a 36 meses, que podría mostrar cierta relación en este aspecto.

De entre los pacientes se observan dos que tienen el hábito de fumar, fumando 10 cigarrillos por día aproximadamente, durante 30 y 50 años, en sus resultados de proporciones de colágeno, estas mostraban la capacidad de cambio adaptativo, con resultados de la razón colágeno I/III de 4,249 y 2,998 respectivamente. Esto muestra un aumento de colágeno tipo III con el hábito de fumar, además de ser mayor entre más tiempo se ha fumado. Esta relación puede confundirse con un proceso reparativo temprano, pero el tabaquismo se suele asociar con la periodontitis y la periimplantitis, aunque algunos estudios no concluyen datos evidentes de relación entre el tabaquismo y la periimplantitis (24), a su vez el hábito de fumar tabaco, se asocia a un proceso cicatrizativo pobre (69). El motivo para que se produzca este aumento de colágeno tipo III se puede explicar debido a la nicotina, la cual disminuye la presión de oxígeno (69), esto activa procesos angiogénicos con la liberación de factores de crecimiento vascular (35), los cuales a su vez producirían el aumento de colágeno tipo III. Otro motivo para el aumento porcentual del colágeno tipo III, es la disminución del tipo I producto de la nicotina, lo que a su vez produce un retraso en la reparación tisular (70). Se proponen estudios posteriores similares utilizando valores absolutos y no porcentuales para los resultados, donde se podría comprobar esta relación en la que baja el colágeno tipo I.

La diabetes como se indicó anteriormente es un factor de riesgo para periimplantitis y en ese caso, se podría relacionar con una cicatrización alterada, ya que a pesar de que el implante solo llevaba 5 meses, debió ser explantado, con proporciones de colágeno I/III más altas a las normales. La integración del implante no se logró probablemente por presentar fibras colágenas más maduras con pocas posibilidades de adaptación, por lo que extirpar el implante podría ser una buena elección. Sin embargo, no se puede concluir solo con un caso, por lo que se sugiere considerar un mayor número de muestras en futuras investigaciones.

La hipertensión se caracteriza por un desbalance entre los factores relajantes y constrictores de los vasos sanguíneos, potenciando la vasoconstricción (75), la cual produce una reducción del flujo de sangre en la microcirculación gingival, que favorece la formación de infecciones gingivales, y una reparación tisular bajo una tensión de oxígeno disminuida se asocia a una pobre cicatrización (70), por lo que se deberían encontrar proporciones colágeno I/III bajos, por la carencia en la cicatrización. En este estudio, la hipertensión está presente en 5 de los pacientes, pero sus resultados son variados y no parecen tener una relación aparente con respecto a los porcentajes de colágeno, dos pacientes poseían enfermedades crónicas, que no eran ni hipertensión ni diabetes y del mismo modo, no parece existir una relación causal para sus resultados, incluso observando las enfermedades crónicas por separado o por si solas, ya que los valores porcentuales de colágeno son muy dispares y no parecen tener relación.

Finalmente, se propone la realización de estudios posteriores, utilizando muestras de tejido blando sin periimplantitis y comparar el colágeno en estas distintas situaciones. También se sugiere aumentar las características consideradas y el número de muestras, para encontrar asociaciones que permitan obtener resultados más concluyentes.

VII. Conclusión

Se concluye que valores bajos en la proporción de colágeno tipo I/III y menor tiempo de permanencia del implante se podrían relacionar con fases tempranas de reparación tisular en las cuales existe posibilidad de solucionar la periimplantitis y la extracción del implante sería cuestionable. A su vez, valores altos de razón colágeno tipo I/III junto con tiempo prolongados de permanencia del implante, implicaría fases tardías de la reparación tisular y posible fibrosis, afectando la funcionalidad del tejido periimplantario y donde la decisión de extraer el implante podría ser acertada.

Bibliografía

1. Misch CE. *Implantología contemporánea*: Elsevier Health Sciences Spain; 2009.
2. Sáenz M. Criterios de éxito y fracaso en implantes dentales Óseointegrados. *Acta Odontológica Venezolana*. 2013;51(2):35-6.
3. Buser D, Janner SF, Wittneben JG, Brägger U, Ramseier CA, Salvi GE. 10-year survival and success rates of 511 titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a retrospective study in 303 partially edentulous patients. *Clinical implant dentistry and related research*. 2012;14(6):839-51.
4. Chappuis V, Buser R, Brägger U, Bornstein MM, Salvi GE, Buser D. Long-term outcomes of dental implants with a titanium plasma-sprayed surface: a 20-year prospective case series study in partially edentulous patients. *Clinical implant dentistry and related research*. 2013;15(6):780-90.
5. Collins Calcaño JR, García Pichardo S, Geraldino Chupani MA, Polanco Aquino RT. Colocación de implantes y provisionalización inmediata en el sector estético: manejo quirúrgico y rehabilitador. Reporte de un caso clínico. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*. 2014;7(2):93-100.
6. de Oliveira-Neto OB, Lemos CAA, Barbosa FT, de Sousa-Rodrigues CF, Camello de Lima FJ. Immediate dental implants placed into infected sites present a higher risk of failure than immediate dental implants placed into non-infected sites: Systematic review and meta-analysis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2019;24(4):518-28.
7. Osman RB, Swain MV. A Critical Review of Dental Implant Materials with an Emphasis on Titanium versus Zirconia. *Materials (Basel)*. 2015;8(3):932-58.
8. Ma L, Wang X, Zhao N, Zhu Y, Qiu Z, Li Q, et al. Integrating 3D Printing and Biomimetic Mineralization for Personalized Enhanced Osteogenesis, Angiogenesis, and Osteointegration. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2018;10(49):42146-54.
9. Branemark PI, Zarb GA, Gil JA, Albrektsson T, Adell R. *Prótesis tejido-integradas: la oseointegración en la odontología clínica*: Quintessenz Verlags-GmbH; 1987.
10. Vanegas A, Landinez N, Garzon-Alvarado D. Generalidades de la interfase hueso-implante dental. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2009(28):130-46

11. Granizo R, Marina M. Fracasos y complicaciones en implantología dental ¿Cómo evitarlos?. *Revista española de cirugía oral y maxilofacial*. 2001;23(3):182-92.
12. Pérez Padrón A, Pérez Quiñones JA, Cid Rodríguez MdC, Díaz Martell Y, Saborit Carvajal T, García Martí CD. Causas y complicaciones de los fracasos de la implantología dental. *Matanzas Revista Médica Electrónica* 2018;40(4):1023-31.
13. Lemus Cruz LM, Almagro Urrutia ZE, Sáez Carriera R, Justo Díaz M, Sánchez Silot C. Fallas mecánicas y biológicas en las prótesis sobre implantes *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2012;11(4):563-77.
14. Shimpuku H, Nosaka Y, Kawamura T, Tachi Y, Shinohara M, Ohura K. Genetic polymorphisms of the interleukin-1 gene and early marginal bone loss around endosseous dental implants. *Clinical oral implants research*. 2003;14(4):423-9.
15. Solderer A, Al-Jazrawi A, Sahrman P, Jung R, Attin T, Schmidlin PR. Removal of failed dental implants revisited: Questions and answers. *Clinical and experimental dental research*. 2019;5(6):712-24.
16. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *The International journal of oral & maxillofacial implants*. 1986;1(1):11-25.
17. Lee CT, Huang YW, Zhu L, Weltman R. Prevalences of peri-implantitis and peri-implant mucositis: systematic review and meta-analysis. *Journal of dentistry*. 2017;62:1-12.
18. James RA. Peri-implant considerations. *Dental clinics of North America*. 1980;24(3):415-20.
19. Misch CE, Perel ML, Wang HL, Sammartino G, Galindo-Moreno P, Trisi P, et al. Implant success, survival, and failure: the International Congress of Oral Implantologists (ICOI) Pisa Consensus Conference. *Implant dentistry*. 2008;17(1):5-15.
20. Raghoobar GM, Meijer HJA, van Minnen B, Vissink A. Immediate Reconstruction of Failed Implants in the Esthetic Zone Using a Flapless Technique and Autogenous Composite Tuberosity Graft. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2018;76(3):528-33.
21. Anitua E, Piñas L, Begoña L, Alkhraisat MH. Prognosis of Dental Implants Immediately Placed in Sockets Affected by Peri-implantitis: A Retrospective Pilot Study. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*. 2017;37(5):713-9.

22. Chrcanovic BR, Kisch J, Albrektsson T, Wennerberg A. Survival of dental implants placed in sites of previously failed implants. *Clinical oral implants research*. 2017;28(11):1348-53.
23. Manor Y, Chaushu G, Lorean A, Mijiritzky E. A Retrospective Analysis of Dental Implants Replacing Failed Implants in Grafted Maxillary Sinus: A Case Series. *The International journal of oral & maxillofacial implants*. 2015;30(5):1156-60.
24. Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri-implantitis. *Journal of periodontology*. 2018;89 Suppl 1:S267-s90.
25. Quaranta A, Perrotti V, Piattelli A, Piemontese M, Procaccini M. Implants placed in sites of previously failed implants: a systematic review. *Implant dentistry*. 2014;23(3):311-8.
26. Mardinger O, Ben Zvi Y, Chaushu G, Nissan J, Manor Y. A retrospective analysis of replacing dental implants in previously failed sites. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2012;114(3):290-3.
27. Kim YK, Park JY, Kim SG, Lee HJ. Prognosis of the implants replaced after removal of failed dental implants. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2010;110(3):281-6.
28. Grossmann Y, Levin L. Success and survival of single dental implants placed in sites of previously failed implants. *Journal of periodontology*. 2007;78(9):1670-4.
29. Machtei EE, Horwitz J, Mahler D, Grossmann Y, Levin L. Third attempt to place implants in sites where previous surgeries have failed. *Journal of clinical periodontology*. 2011;38(2):195-8.
30. Machtei EE, Mahler D, Oettinger-Barak O, Zuabi O, Horwitz J. Dental implants placed in previously failed sites: survival rate and factors affecting the outcome. *Clinical oral implants research*. 2008;19(3):259-64.
31. Alsaadi G, Quirynen M, van Steenberghe D. The importance of implant surface characteristics in the replacement of failed implants. *The International journal of oral & maxillofacial implants*. 2006;21(2):270-4.
32. Covani U, Barone A, Cornelini R, Crespi R. Clinical outcome of implants placed immediately after implant removal. *Journal of periodontology*. 2006;77(4):722-7.
33. Chiego DJ. *Principios de histología y embriología bucal: Con orientación clínica*: Elsevier Health Sciences Spain; 2014.

34. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Periodontología clínica e implantología odontológica / Clinical Periodontology and Implant Dentistry: Editorial Medica Panamericana Sa de; 2009.
35. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional: Elsevier Health Sciences; 2015.
36. Chen YW, Umeda M, Nagasawa T, Takeuchi Y, Huang Y, Inoue Y, et al. Periodontitis may increase the risk of peripheral arterial disease. European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery. 2008;35(2):153-8.
37. Segura Andrés G, Gil Pulido R, Vicente González F, Ferreiroa Navarro A, Faus López J, Agustín Panadero R. Perimplantitis y mucositis periimplantaria: factores de riesgo, diagnóstico y tratamiento. Avances en Periodoncia e Implantología Oral 2015;27:25-36.
38. Lindhe J, Meyle J. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. Journal of clinical periodontology. 2008;35(8 Suppl):282-5.
39. Heitz-Mayfield LJA, Salvi GE. Peri-implant mucositis. Journal of periodontology. 2018;89 Suppl 1:257-66.
40. Palastanga N, Field D, Soames R. Anatomía y movimiento humano. Estructura y funcionamiento: Paidotribo; 2007.
41. Gartner LP. BRS Cell Biology and Histology: Wolters Kluwer Health; 2018.
42. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular: Médica Panamericana; 2005.
43. Thibodeau GA, Patton KT. Estructura y Funcion Cuerpo Humano: Elsevier Science Health Science Division; 2008.
44. Voet D, Voet JG, Pratt CW. Fundamentos De Bioquímica/ Fundamental of Biochemistry: Médica Panamericana; 2007.
45. Nelson DL, Lehninger AL, Cox MM, Foix CMC, León S, Roca JV. Lehninger principios de bioquímica: Omega; 2013.
46. Hay ED. Cell Biology of Extracellular Matrix: Second Edition: Springer US; 2012.
47. Welsch U, Sobotta J. Histología: Ed. Médica Panamericana; 2008.
48. Lodish H. Biología celular y molecular: Médica Panamericana; 2005.
49. Kaku M, Yamauchi M. Mechano-regulation of collagen biosynthesis in periodontal ligament. Journal of prosthodontic research. 2014;58(4):193-207.

50. Carlos Valencia B. Cicatrización: proceso de reparación tisular. aproximaciones terapéuticas. *Revista Investigaciones Andina*. 2015;12(20).
51. Robb CT, Regan KH, Dorward DA, Rossi AG. Key mechanisms governing resolution of lung inflammation. *Seminars in immunopathology*. 2016;38(4):425-48.
52. Bucur M, Dinca O, Vladan C, Popp C, Nichita L, Cioplea M, et al. Variation in Expression of Inflammation-Related Signaling Molecules with Profibrotic and Antifibrotic Effects in Cutaneous and Oral Mucosa Scars. *Journal of immunology research*. 2018;2018:5196023.
53. Soares IJ, Goldberg F. Endodoncia / Endodontics: Técnica y fundamentos / Technique and Basics: Editorial Medica Panamericana Sa de; 2012.
54. Cameron MH, Cameron M. Agentes Físicos en Rehabilitación: Incluye Evolve: Elsevier Science Health Science Division; 2009.
55. Gómez-Lizárraga K, Piña-Barba C, Rodríguez-Fuentes N, Romero M. Obtención y caracterización de colágena tipo I a partir de tendón bovino. *Superficies y vacío* 2011;24(4):137-40.
56. Salazar L, Moreno F. Comparison of three types of histochemical staining in histological sections of palate and tongue of Wistar rat. *Salutem Scientia Spiritus*. 2016;2:12-23.
57. Santos S. Tinción hematoxilina-eosina. Universidad nacional de educación a distancia Facultad de ciencias Departamento de química orgánica y bio-orgánica. 2017.
58. Baracat J. Orceína y fibras elásticas. *Medicina (Buenos Aires)*. 2003;63:453-6.
59. Rich L, Whittaker P. Collagen and picrosirius red staining: a polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution. *J morphol Sci*. 2005;22:97-104.
60. Sharma R, Rehani S, Mehendiratta M, Kardam P, Kumra M, Mathias Y, et al. Architectural Analysis of Picrosirius Red Stained Collagen in Oral Epithelial Dysplasia and Oral Squamous Cell Carcinoma using Polarization Microscopy. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*. 2015;9(12):13-6.
61. Constantine VS, Mowry RW. Selective staining of human dermal collagen. II. The use of picrosirius red F3BA with polarization microscopy. *The Journal of investigative dermatology*. 1968;50(5):419-23.
62. Montes GS, Junqueira LCU. The use of the Picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1991;86:1-11.

63. Rabau MY, Dayan D. Polarization microscopy of picosirius red stained sections: a useful method for qualitative evaluation of intestinal wall collagen. *Histology and histopathology*. 1994;9(3):525-8.
64. Lattouf R, Younes R, Lutomski D, Naaman N, Godeau G, Senni K, et al. Picosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 2014;62(10):751-8.
65. Drifka CR, Loeffler AG, Mathewson K, Mehta G, Keikhosravi A, Liu Y, et al. Comparison of Picosirius Red Staining With Second Harmonic Generation Imaging for the Quantification of Clinically Relevant Collagen Fiber Features in Histopathology Samples. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 2016;64(9):519-29.
66. Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*: Scion; 2008.
67. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*. 2012;9(7):671-5.
68. Obaíd ML, Riquelme R, Calderón W, Raue M, Ojas M. Clasificación y grado de necrosis en colgajo cutáneo aleatorio en ratas tras tratamiento con células madre precondicionadas con hipoxia y retardo del colgajo *Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana* 2018;44:259-68.
69. Castellanos Gonzalez M, Cueto Hernandez M, Boch M, Mendez Castellanos C, Mendez Garrido L, Castillo Fernandez C. Efectos fisiopatológicos del tabaquismo como factor de riesgo en la enfermedad periodontal *Revista Finlay*. 2016;6:134-49.
70. Koushyar KJ, A H. Tabaquismo: factor de riesgo para enfermedad periodontal. *Revista ADM*. 2010;67(3).
71. García-Calderón AG, Donohue-Cornejo A, Cuevas-González MV, Ávila-Valdéz R, Cuevas-González JC. Periimplantitis: Revisión de la Literatura *International journal of odontostomatology* 2016;10:255-60.
72. Jepsen S, Caton JG, Albandar JM, Bissada NF, Bouchard P, Cortellini P, et al. Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of

Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45 Suppl 20:S219-s29.

73. Albandar JM, Susin C, Hughes FJ. Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45 Suppl 20:S171-s89.

74. Martínez Gutiérrez D, Pacheco Paredes YT. Regeneración tisular guiada en paciente diabético: reporte de caso *Correo Científico Médico*. 2017;21:1201-10.

75. Wagner-Grau P. Fisiopatología de la hipertensión arterial *Anales de la Facultad de Medicina* 2010;71:225-9.

76. El Masry MS, Chaffee S, Das Ghatak P, Mathew-Steiner SS, Das A, Higuaita-Castro N, et al. Stabilized collagen matrix dressing improves wound macrophage function and epithelialization. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2019;33(2):2144-55.

77. Cui SJ, Fu Y, Liu Y, Kou XX, Zhang JN, Gan YH, et al. Chronic inflammation deteriorates structure and function of collagen fibril in rat temporomandibular joint disc. *International journal of oral science*. 2019;11(1):2.

78. Gordon IO, Agrawal N, Willis E, Goldblum JR, Lopez R, Allende D, et al. Fibrosis in ulcerative colitis is directly linked to severity and chronicity of mucosal inflammation. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2018;47(7):922-39.

79. Wang H, Zhang H, Zhang Y, Wang D, Cheng X, Yang F, et al. Plumbagin protects liver against fulminant hepatic failure and chronic liver fibrosis via inhibiting inflammation and collagen production. *Oncotarget*. 2016;7(50):82864-75.

80. Brown SR, Melman L, Jenkins E, Deeken C, Frisella MM, Brunt LM, et al. Collagen type I:III ratio of the gastroesophageal junction in patients with paraesophageal hernias. *Surg Endosc*. 2011;25(5):1390-4.

81. Kaku M, Yamauchi M. Mechano-regulation of collagen biosynthesis in periodontal ligament. *J Prosthodont Res*. 2014;58(4):193-207.

Anexos

Anexo 1:

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA



COMITÉ ÉTICO CIENTÍFICO

Report N°: N°024_2018

ASSESSMENT REPORT
RESEARCH PROTOCOL FOLIO N°01_18

The Scientific Ethics Committee of the Universidad de La Frontera in Temuco, (Exempt Resolution No. 1090 dated March 12, 2014 and Resolution No. 4183 dated October 2017), in ordinary meeting No. 06 dated 25 April 2018, chaired by Dr. Milko Jorquera Tapia, with the assistance of its permanent members: Nilton Alves, Gonzalo Berrueta Murúa, León Bravo Ramírez, Mariano del Sol Calderón, Rolando Díaz Fuentes, Ricardo Felmer Dörner, Julio López Fenner, Karin Morales Manríquez, Mónica Pineda Nesbet, Luis Reveco Sepúlveda, Gloria San Miguel López, Gloria San Miguel López, Berta Schnettler Morales and Fabián Torres Ruiz, have evaluated and approved the research protocol financed by CONICYT-Chile entitled:

"Immunohistochemical, histochemical and endoscopic analysis of the bone tissue associated with periimplantitis: Development of an In Vivo and In Vitro"

Experimental Model" Sheet-number REDI170658, National Scientific and Technological Commission, CONICYT - CHILE.

Principal Researcher: Ph.D Ph.D Víctor Beltrán Varas

Associated Institutions:

Faculty of Health Sciences, Universidad de Talca, Talca, Chile

Faculty of Dentistry, Universidad de Concepción, Concepción, Chile
Department of Pathology and Experimental Therapeutics (Human Anatomy Unit), University of Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain.

Dra. Vanessa Soussa, Centre for Oral Clinical Research, Institute of Dentistry, Barts & The London School of Medicine & Dentistry, QMUL, London, UK (from november 2018)



DR. MILKO JORQUERA TAPIA
PRESIDENT
SCIENTIFIC ETHICS COMMITTEE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA



Temuco, november 21, 2018

cc.
Ph.D. Víctor Beltrán Varas, Principal Researcher
Scientific Ethics Committee file.