



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

CARACTERIZACIÓN DE LA INFLAMACIÓN Y PROLIFERACIÓN CELULAR EN
TEJIDO BLANDO CON PERIIMPLANTITIS

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN
TECNOLOGÍA MÉDICA

ALUMNA: VICTORIA VILLALOBOS ARÉVALO

PROFESORA GUÍA: TM. DRA. WENDY DONOSO TORRES

TALCA-CHILE

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

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	7
2. INTRODUCCIÓN.....	8
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
4. OBJETIVOS.....	23
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	23
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
5.1. DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE INFLAMACIÓN TISULAR DEL TEJIDO CONECTIVO PERIIMPLANTAR, MEDIANTE TINCIÓN DE GIEMSA, POR RECUENTO CELULAR CON EL SOFTWARE IMAGE J.....	26
5.2. DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE PROLIFERACIÓN TISULAR DEL EPITELIO PERIIMPLANTAR MEDIANTE RECUENTO DE REGIONES ORGANIZADORAS DE NUCLEÓLOS AFINES CON PLATA.....	28
6. RESULTADOS.....	30
6.1. DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE INFLAMACIÓN TISULAR DEL TEJIDO CONECTIVO PERIIMPLANTAR, MEDIANTE TINCIÓN DE GIEMSA, POR RECUENTO CELULAR CON EL SOFTWARE IMAGE J.....	31

6.2. DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE PROLIFERACIÓN TISULAR DEL EPITELIO PERIIMPLANTAR, POR RECuento DE AGNORS CON EL SOFTWARE MICROMETRIC.....	33
7. DISCUSIÓN.....	36
8. CONCLUSIONES	41
9. BIBLIOGRAFIA	42

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: CARACTERÍSTICAS DE LA INFLAMACIÓN AGUDA Y CRÓNICA	16
TABLA 2: CITOCINAS MÁS IMPORTANTES QUE INTERVIENEN EN LAS REACCIONES INFLAMATORIAS	19
TABLA 3: ESQUEMA DE DESPARAFINACIÓN	26
TABLA 4: ESQUEMA DE TINCIÓN SEGÚN GIEMSA EN CORTES DE PARAFINA	27
TABLA 5: ESQUEMA DE DESHIDRATACIÓN DE LA MUESTRA.	27
TABLA 6: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE FRECUENCIA DE SEXO FEMENINO Y MASCULINO.	30
TABLA 7: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE FRECUENCIA DE PACIENTES CON PRESENCIA Y AUSENCIA DE ENFERMEDAD CRÓNICA (DIABETES Y/O HIPERTENSIÓN ARTERIAL)	30
TABLA 8 : ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DEL PROMEDIO DE CÉLULAS INFLAMATORIAS EN TEJIDO CONECTIVO.....	31
TABLA 9 : ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DEL PROMEDIO DE AGNORS EN TEJIDO EPITELIAL.	34

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: PACIENTES CON PERIIMPLANTITIS VS PROMEDIO DE CÉLULAS INFLAMATORIAS EN TEJIDO CONECTIVO.....	31
GRÁFICO 2 : ANÁLISIS TEST T DE STUDENT PARA NÚMERO DE CÉLULAS INFLAMATORIAS SEGÚN LA VARIABLE SEXO.....	32
GRÁFICO 3 : ANÁLISIS TEST T DE STUDENT PARA NÚMERO DE CÉLULAS INFLAMATORIAS SEGÚN LA VARIABLE PRESENCIA O AUSENCIA DE ENFERMEDAD CRÓNICA.....	33
GRÁFICO 4 : PACIENTES CON PERIIMPLANTITIS VS PROMEDIO DE AGNORS EN TEJIDO EPITELIAL.....	33
GRÁFICO 5: ANÁLISIS TEST T DE STUDENT PARA NÚMERO DE AGNORS SEGÚN LA VARIABLE SEXO.....	34
GRÁFICO 6 : ANÁLISIS TEST T DE STUDENT PARA NÚMERO DE AGNORS SEGÚN LA VARIABLE PRESENCIA O AUSENCIA DE ENFERMEDAD CRÓNICA.....	35

ÍNDICE DE IMÁGENES

IMAGEN 1 : CÉLULAS INFLAMATORIAS EN TEJIDO CONECTIVO DE UN PACIENTE CON PERIIMPLANTITIS OBSERVADAS CON AUMENTO 400X MEDIANTE TINCIÓN DE GIEMSA.....	32
IMAGEN 2 : NORS EN TEJIDO EPITELIAL DE UN PACIENTE CON PERIIMPLANTITIS OBSERVADAS CON AUMENTO 400X MEDIANTE TINCIÓN DE AGNORS.....	34

1. RESUMEN

Introducción: La periimplantitis es definida como la patología asociada a placa bacteriana, en los tejidos alrededor de los implantes dentales. Se caracteriza por la inflamación en la mucosa periimplantaria y la progresiva pérdida de hueso de soporte (1). El propósito de este estudio es caracterizar la inflamación y proliferación celular del tejido blando periimplantar, en primer lugar, determinando el estado de inflamación tisular del tejido conectivo periimplantar y, en segundo lugar, estableciendo el estado de proliferación tisular del epitelio periimplantar, por recuento de AgNORs.

Metodología: Se utilizaron 15 muestras de diferentes pacientes con un promedio de edad de 63 años, sexo femenino y masculino y además se incluyeron pacientes con presencia y ausencia de enfermedades crónicas entre las cuales se consideraron diabetes y/o hipertensión arterial, las muestras fueron extraídas de tejido blando afectado por periimplantitis y posteriormente se realizó un proceso histológico mediante las tinciones de Giemsa y AgNORs para evaluar la caracterización del tejido conectivo y epitelial respectivamente.

Resultados: Se encontró un promedio de 106,8 células inflamatorias en tejido conectivo tanto en hombres como mujeres con y sin enfermedad crónica, si bien no existe una diferencia significativa existe una tendencia a aumentar el promedio en pacientes con enfermedad crónica base, del mismo modo se calculó un promedio de 102,71 AgNORs lo que corresponde a una cantidad altamente elevada en comparación con un tejido normal.

Conclusión: Existe un proceso inflamatorio y AgNORS elevados en el tejido blando con periimplantitis que podría ser en parte responsable del fracaso en el tratamiento.

2. INTRODUCCIÓN

Los implantes dentales representan una opción de tratamiento en la rehabilitación oral de pacientes parcial o totalmente desdentados, estos han constituido un aporte importante al mejoramiento de la calidad de vida de la población, en términos de permitir rehabilitaciones complejas que aportan decisivamente tanto en aspectos funcionales como estéticos, existen múltiples sistemas de implantes que varían en forma (cilíndricas, cónicas u otras), dimensión, volumen, material, topografía, química, humectabilidad y modificación de superficie, además de conexión de pilar de implante. Las características de la superficie como la topografía, humectabilidad y recubrimientos contribuyen a los procesos biológicos durante la osteointegración al mediar la interacción directa con los osteoblastos del hospedero en la formación ósea (2).

En el éxito o fracaso de un implante osteointegrado pueden influir factores locales y sistémicos. Los factores locales en términos de técnicas utilizadas en el proceso de rehabilitación han sido extensamente estudiados, otro factor importante a considerar es la presencia de enfermedades sistémicas como diabetes, estados de inmunosupresión, tratamientos oncológicos etc. los pacientes con enfermedades crónico degenerativas como la diabetes pobremente controlada son considerados pacientes de riesgo de presentar periimplantitis, y esto es debido a que tienen una respuesta inmune así como un proceso de cicatrización pobre (3) Las características del tejido óseo periimplantar también han sido analizadas, estableciéndose asociaciones entre la calidad del tejido óseo, el proceso de osteointegración y factores biológicos (4).

La osteointegración fue definida histológicamente, como la conexión directa entre el hueso y el implante sin interposición de tejidos blandos. Posteriormente fue redefinida desde una perspectiva clínica, como el anclaje de un implante al hueso, capaz de satisfacer las

exigencias clínicas de funcionamiento como pilar de prótesis, transmitiendo las fuerzas oclusales directamente sobre el tejido óseo, y manteniéndose fijo en el mismo, de forma asintomática, a lo largo del tiempo y en condiciones de carga funcional (5).

Por su parte, las enfermedades periimplantarias se clasifican en mucositis y periimplantitis. La mucositis, se define como una reacción inflamatoria reversible en la que se observa eritema e inflamación de la mucosa periimplantaria acompañada de sangrado y/o supuración al sondaje e incremento en la profundidad de éste (4-5 mm). Mientras que la periimplantitis, se define como un proceso inflamatorio que afecta tanto a tejidos blandos y duros que rodean un implante osteointegrado, dando como resultado pérdida de soporte óseo asociado a aumento en la profundidad de sondaje superior a 5 mm junto con sangrado y/o supuración al sondaje (3). Considerando esta definición, en los implantes que no llegan a éxito existe persistencia de un proceso inflamatorio patológico.

Los procesos inflamatorios se aprecian en el tejido conectivo, ya que éste posee alta irrigación y capacidad de atracción de células defensivas contra los agentes externos, por toxicidad de los componentes y enzimas bacterianos, e internos por la estimulación de la inmunidad específica e inespecífica del hospedero. Cuando los factores y/o mecanismos defensivos biológicos no sean capaces de contener dicha reacción inflamatoria, se producirá la destrucción del tejido conectivo y hueso por actividad osteoclástica. En la periimplantitis la lesión contiene altas proporciones de células plasmáticas, linfocitos, polimorfonucleares y macrófagos (6).

El proceso de reparación ósea requiere de una fase inicial de reclutamiento de células inflamatorias, las cuales posteriormente son reemplazadas por el tejido conectivo formado a partir del conjunto vascular e inflamatorio y sus interacciones (7). La reacción inflamatoria será analizada en términos del tipo celular presente en el infiltrado inflamatorio, en muestras de explantes dentarios (8).

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Actualmente el tratamiento con implantes dentales representa un método eficaz para la rehabilitación de pacientes total o parcialmente desdentados, creando una base estable para restauraciones funcionales y estéticas. A pesar de que existe una alta tasa de resultados exitosos, los tejidos periimplantarios son susceptibles a patologías que pueden traer como consecuencia la pérdida del implante. El principal factor etiológico de la mucositis periimplantaria y la periimplantitis, es la acumulación bacteriana en forma de biopelículas, también conocidas como “biofilm”, sin embargo, existen diferentes factores que pueden influir negativamente en la progresión de estas patologías. Según estudios, las principales complicaciones una vez que se ha osteointegrado el implante son de orden biológico, afectando a un 30,7% de los implantes en el caso de la mucositis y al 9,6% de los implantes en el caso de la periimplantitis (9). Los rangos de éxito según la literatura científica oscilan entre el 90 y 95% a los 10 años posterior a su colocación (10).

Los criterios de éxito sobre la eficacia a largo plazo del tratamiento implantológico han sido modificados en el transcurso de los años. Según la literatura estos criterios, se basan en conceptos relacionados con la integración entre el implante y el hueso receptor: ausencia de radiolucidez periimplantaria, ausencia de movilidad, pérdida ósea anual tras el primer año menor de 0,2 mm, ausencia de dolor, ausencia de infección y ausencia de parestesias (11). En otros estudios Bruggenkate y col. involucra parámetros de aplicación periodontal (índice de sangrado, profundidad de sondaje, sangrado del sondaje) que permiten la monitorización de forma objetiva del paciente a través del tiempo (12).

El fracaso implantario ha sido definido de diversas formas, algunos científicos lo definieron como aquellos signos y síntomas que conducen a la explantación del implante, por tanto, fracaso equivale a pérdida del implante. La tasa descrita de fracasos en implantología

oral se ha indicado alrededor del 0,7 – 3,8%. Éstos se han clasificado en tempranos o tardíos, en función de si se produce antes o después de la carga funcional. Esta diferenciación es importante ya que, en función del momento del fracaso, se asocian diferentes factores. En este sentido, el fracaso temprano se produce a consecuencia de una alteración en la osteointegración derivado de factores locales y/o sistémicos y representan aproximadamente el 5% del total, afectando en mayor medida a mujeres y pacientes jóvenes. Por el contrario, los fracasos tardíos suelen ser producidos por factores bacterianos o mecánicos relacionados con las prótesis que soportan los implantes y afectan al 95% de los implantes que alcanzan la osteointegración. En otros estudios se clasificaron los factores de riesgo en implantología oral en dos grupos: en el primer grupo incluyeron los relacionados con el paciente; y en el segundo grupo, aquellos relacionados con las técnicas quirúrgicas (13).

Otro punto para considerar es, la fabricación de implantes, existiendo para ello, diferentes biomateriales, comprendiendo éstos a aquellos: metálicos y cerámicos, siendo en el primer caso, el titanio el más utilizado debido a su mejor biocompatibilidad y la posibilidad de emplearlo en aleaciones o concentraciones puras en el que se hallan menos del 0,25% de impurezas (14). Actualmente, algunos profesionales, prefieren usar el zirconio, que corresponde a un material cerámico el cual permite una adecuada osteointegración y además añade una ventaja estética, ya que el color de los componentes del implante es completamente blanco (15).

Cada sistema es diferente pero las partes básicas se conservan. La fijación o cuerpo es el componente que se une al hueso y dependiendo del sistema, la fijación puede tener diferentes superficies: roscada, con surcos, perforada, pulverizada con plasma o recubierta. Cada tipo de superficie es diseñada con el objetivo de lograr mayor área de superficie o ajuste cortical que asegure anclaje. El segundo componente, el pilar transepitelial, proporciona conexión entre la fijación y prótesis. El pilar se conecta a la fijación mediante un tornillo, aunque también puede ir cementado o por fricción. Los pilares se ajustan a la fijación mediante un hexágono u otra forma geométrica, interna o externa, que podría ser también un dispositivo

antirrotacional y biomecánicamente importante para el diseño protésico. La última parte es la prótesis, que puede unirse a los pilares mediante tornillos, cemento o retenedores de precisión (14).

La osteointegración es primordial en el tratamiento realizado con implantes dentales, se han propuesto diferentes definiciones para este término, una fue formulada por Albrektsson y col. en 1981, quien sugirió que se trata de una conexión funcional y estructural entre hueso sano y la superficie de un implante que soporta carga. Otra definición, clínica, fue la de Zarb y Albrektsson en 1991, quienes propusieron que era un proceso en el que se obtiene y mantiene la fijación rígida y clínicamente asintomática de materiales aloplásticos durante la carga funcional. Por consiguiente, para determinar las condiciones adecuadas para la osteointegración el implante debe exhibir una fijación inicial correcta después de ser instalado en el sitio receptor. Esta estabilidad inicial es resultado de la relación de contacto que se establece tras la inserción del implante entre el hueso mineralizado en el sitio receptor y el dispositivo metálico o cerámico (16).

Para realizar el tratamiento con implantes dentales se llevan a cabo cuatro fases primordiales: fase de planificación, fase quirúrgica, fase protésica y la fase de mantención. En la primera etapa se recoge la historia clínica con una exploración completa de la boca, incluyendo pruebas de imagen, además se realizan pruebas complementarias que incluyen estudio analítico preoperatorio, relación normalizada internacional (INR) y glicemia. La etapa quirúrgica consiste primordialmente en la colocación del implante dental. La fase protésica corresponde al conjunto de procedimientos en el cual se logra confeccionar un diente funcional y estético instalado sobre el implante insertado previamente. Finalmente la fase de mantención tiene como objetivo evitar la falla del tratamiento a partir de controles y medidas de prevención que debe tomar el paciente (17).

Existe una clasificación según el tiempo de colocación del implante dental, organizada de la siguiente manera. Tipo 1: implante dental colocado inmediatamente luego de la extracción dental, sin curación de hueso ni tejidos blandos. Tipo 2: colocación temprana del implante

dental, aproximadamente 4 a 8 semanas después del proceso de curación, con algunos tejidos blandos cicatrizados y el sitio post extracción presenta tejido blando cicatrizado cubriendo el alveolo, pero sin cicatrización ósea significativa. Tipo 3: colocación temprana del implante dental con cicatrización ósea parcial, aproximadamente 12 a 16 semanas de curación; el sitio post extracción presenta cicatrización de tejidos blandos y curación ósea significativa. Tipo 4: colocación tardía del implante dental, un poco más de 6 meses después de la extracción dental. Implante dental colocado en un sitio edéntulo completamente cicatrizado. Según estudios recientes se ha encontrado que resulta más satisfactorio colocar el implante dental inmediatamente después de realizar la extracción dental del órgano dentario afectado (tipo 1) para así aprovechar el alveolo dental ya moldeado y evitar la reintervención quirúrgica del paciente. Además, en la literatura científica existen casos reportados que demuestran que el implante dental inmediato presenta mejor remodelación y relleno óseo que el colocado tiempo después de la extracción y proceso de cicatrización. Además, el implante dental inmediato posee ciertas ventajas como lo son menos intervenciones quirúrgicas y someter al paciente a fármacos en una sola ocasión (10).

Las lesiones inflamatorias y destrucción del tejido blando y duro que rodean los implantes dentales son conocidas como enfermedades periimplantarias e incluyen dos entidades diferentes: la mucositis periimplantaria y la periimplantitis.

La mucositis periimplantaria se define como una reacción inflamatoria reversible en la que se observa eritema e inflamación de la mucosa periimplantaria acompañada de sangrado y/o supuración al sondaje e incremento de la profundidad del sondaje (4-5 mm) (3). Clínicamente, se identifica una mucositis cuando se observa un enrojecimiento e hinchazón del tejido blando alrededor de un implante junto con sangrado al sondaje.

La mucosa periimplantaria sana se caracteriza por la presencia de un epitelio oral que se extiende hacia un epitelio que actúa como barrera no queratinizada con lámina basal y

hemidesmosomas que se enfrentan a la superficie del implante. En el tejido conectivo adyacente a la barrera epitelial, están presentes infiltrados de células inflamatorias que actúan como mecanismo de defensa en el hospedero contra microorganismos. En condiciones saludables la mucosa periimplantaria, la barrera epitelial y la presencia de células inflamatorias dispersas constituyen el sello de tejido blando que separa la unión periimplantaria y cavidad oral (18).

La mucositis periimplantaria se desarrolla a partir de una mucosa periimplantaria donde existe acumulación de microorganismos alrededor de los implantes dentales osteointegrados. Según estudios se ha demostrado en seres humanos una relación de causa y efecto entre la acumulación de microorganismos alrededor de los implantes dentales de titanio y el desarrollo de una respuesta inflamatoria (19).

A nivel histológico, la mucositis se presenta como una extensión inflamatoria apical restringida en el fondo del epitelio de unión, sin llegar al tejido conectivo y observándose un predominio de las células T.

La periimplantitis es una enfermedad progresiva e irreversible de los tejidos duros y blandos que rodean al implante, además de inflamación de la mucosa periimplantaria, se caracteriza por la pérdida de hueso de soporte. Los criterios diagnósticos para periimplantitis son la presencia de sangrado al sondaje y profundidades de sondaje ≥ 5 mm en presencia de pérdida ósea (20).

Las lesiones de periimplantitis presentan diferencias histológicas fundamentales respecto a las lesiones presentes en la periodontitis:

1. La extensión apical del infiltrado inflamatorio es mayor en las lesiones periimplantarias.

2. Neutrófilos y macrófagos están presentes en mayores proporciones en las lesiones periimplantarias (células plasmáticas y linfocitos son las células dominantes en ambas lesiones).
3. En estudios experimentales animales se ha observado que, a diferencia de las lesiones periodontales, el infiltrado inflamatorio está habitualmente en contacto directo con el hueso (21).

A nivel microscópico y molecular, se pueden determinar diferencias notables entre el tejido periimplantario y el periodonto intacto. Debido a la vascularización reducida y la orientación paralela de las fibras de colágeno, los tejidos periimplantarios son más susceptibles a la enfermedad inflamatoria que los tejidos periodontales. Este fenómeno puede verificarse mediante técnicas de inmunohistoquímica que evidencian una mayor expresión de infiltrado inflamatorio, óxido nítrico y linfocitos. Además, en analogía con la periodontitis, el nivel de metaloproteinasas de matriz (MMP), como MMP-8, aumenta hasta un 97% en las lesiones periimplantarias. Este último puede ser utilizado con fines pronósticos (20).

La pérdida del implante puede ocurrir como "pérdida temprana" hasta un año después de la inserción del implante y "pérdida retardada" con un período de tiempo de más de un año después de la inserción de éste (22). Según estudios los principales factores de riesgo para el desarrollo de periimplantitis son:

1. Hábito de fumar, implica riesgo adicional significativamente mayor y complicaciones asociadas con la presencia de polimorfismo genético para IL-1(interleuquina -1).
2. Historial de periodontitis.
3. Falta de cumplimiento e higiene oral deficiente.
4. Enfermedades sistémicas.
5. Causas iatrogénicas.
6. Historial de uno o más implantes fallidos.

Los estudios indican que fumar es el mayor factor de riesgo identificable y más frecuentemente citado para la enfermedad periimplantaria seguido de un historial de periodontitis (20).

El proceso tisular asociado a la mucositis y periimplantitis, más relevante es la inflamación y está constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas (23). Este proceso tiene como objetivo contener y aislar la lesión, destruir microorganismos invasores e inactivar toxinas, así como preparar el tejido para la cicatrización y reparación.

La inflamación presenta dos fases diferenciadas: aguda y crónica. La inflamación aguda tiene una evolución relativamente breve; sus características fundamentales son la exudación de líquido y de proteínas plasmáticas (edema), y la migración de leucocitos (principalmente neutrófilos). La inflamación crónica, en cambio, tiene una duración mayor y se caracteriza por la proliferación de vasos sanguíneos, fibrosis y necrosis tisular (24).

Características de la inflamación aguda y crónica		
Características	Inflamación aguda	Inflamación crónica
Inicio	Rápido: minutos u horas.	Lento: días
Infiltrado celular	Sobre todo, neutrófilos	Monocitos/macrófagos y linfocitos
Lesión tisular, fibrosis	En general leve y autolimitada	A menudo grave y progresiva
Signos locales y sistémicos	Notables	Menores

Tabla 1: Características de la inflamación aguda y crónica (25)

La respuesta inflamatoria aguda (RIA) comprende una secuencia de eventos importantes, la alteración de la permeabilidad constituye la característica principal y de mayor

especificidad de la inflamación aguda, produciendo el exudado profuso hacia el intersticio. La pérdida de proteínas del plasma reduce la presión osmótica intravascular y el incremento en el intersticio; secundario a la vasodilatación aumenta la presión hidrostática intravascular, lo que conduce a una importante salida y acumulación de líquido en el tejido intersticial, formándose finalmente el edema. Una de las funciones características e importantes de la inflamación, es el aporte de leucocitos a la zona de la lesión (24)

La inflamación crónica es un proceso prolongado (semanas o meses) en el que la inflamación activa, la destrucción de tejido y la curación ocurren simultáneamente. A diferencia de la inflamación aguda, caracterizada por cambios vasculares, edema e infiltración de neutrófilos, la inflamación crónica se caracteriza por presentar infiltración de células mononucleares, es decir macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, destrucción de tejidos, por lesión persistente y/o inflamación e intentos de curación mediante reposición del tejido conjuntivo, proliferación vascular (angiogénesis) y fibrosis. Los macrófagos son dominantes en la inflamación crónica y derivan de los monocitos circulantes, que migran a través del endotelio inducidos por las quimiocinas. Estos se activan por efecto de las citocinas producidas por los linfocitos T inmunoactivados (especialmente IFN- γ) o por factores no inmunológicos (p. ej., endotoxinas). (25)

Las células que intervienen en la inflamación pueden ser de la inmunidad innata como los neutrófilos, macrófagos, mastocitos, células dendríticas a nivel del epitelio. Las células epiteliales son las primeras que detectan el daño por sus receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Los linfocitos T y B son los efectores de la inmunidad adquirida. (26). En el proceso inflamatorio se favorece la diferenciación de los linfocitos T en dos tipos de poblaciones celulares: Th1 secretoras de citocinas proinflamatorias y los Th2 que producen citocinas antiinflamatorias y de esta manera regulan el proceso. (27)

Las citocinas proinflamatorias como las Interleucinas (IL) IL-1, 6 y 8, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y el interferón gamma (IFN- γ) son detectadas en plasma en las primeras

24 horas. La activación de los macrófagos, que sintetizan el TNF- α en pulmón, riñones e hígado, estimula la producción por los linfocitos, los macrófagos y las células endoteliales de las siguientes citocinas: interferón (INF), factor estimulante de las colonias de neutrófilos (FECN) y factor activador plaquetario (PAF). El INF y la IL-1 estimulan la síntesis y liberación del óxido nítrico, inducen la quimiotaxis y activación de neutrófilos en órganos diana. (28)

Entre las moléculas antiinflamatorias se encuentra el TGF- β con efectos pro y antiinflamatorios, que se sintetiza por células mononucleares y macrófagos. La IL-6 según el receptor al que se una puede tener efectos que favorecen o disminuyen la inflamación. La IL-10 producida por macrófagos permite el control de los procesos inflamatorios cuando son dañinos. Las interleucinas IL-4, 5, 9 y 13 intervienen en la estimulación de la respuesta inmune innata y adaptativa ante la reparación tisular. Son sintetizadas por las células linfocíticas innatas y los linfocitos T diferenciados a Th2. (29)

Dependiendo de la naturaleza del estímulo, los macrófagos se activan por una de las dos vías siguientes:

- Los macrófagos clásicos tipo 1 (M1) son inducidos por productos microbianos, IFN- γ o sustancias extrañas; secretan citocinas proinflamatorias, óxido nítrico (NO), especies reactivas del oxígeno (ERO) y regulan el alza las enzimas lisosómicas para aumentar su capacidad microbicida.
- Los macrófagos alternativos tipo 2 (M2) son activados por IL-4 e IL-13 que impulsan el proceso de reparación de la herida a través de la producción de mediadores, que dan lugar a proliferación de fibroblastos y tejido conectivo.

En la inflamación de corta duración con eliminación del estímulo inicial, los macrófagos mueren o salen por la vía linfática. En la inflamación crónica, la acumulación de macrófagos persiste, por atracción continuada de monocitos y proliferación local. (25)

Citocina	Principales fuentes	Principales acciones en la inflamación
En la inflamación aguda		
TNF	Macrófagos, mastocitos, linfocitos T	Estimula la expresión de las moléculas de adhesión endotelial y la secreción de otras citocinas; efectos sistémicos
IL-1	Macrófagos, células endoteliales, algunas células epiteliales	Similar a TNF; función destacada en la fiebre
IL-6	Macrófagos, otras células	Efectos sistémicos (respuesta de fase aguda)
Quimiocinas	Macrófagos, células endoteliales, linfocitos T, mastocitos, otros tipos de células	Atracción de leucocitos hacia los sitios de inflamación; migración de células en tejidos normales
IL-17	Linfocitos T	Atracción de neutrófilos y monocitos
En la inflamación crónica		
IL-12	Células dendríticas, macrófagos	Aumento de producción de IFN- γ
IFN- γ	Linfocitos T, linfocitos NK	Activación de macrófagos (aumento de la capacidad de inactivación de microbios y células tumorales)
IL-17	Linfocitos T	Atracción de neutrófilos y monocitos

Tabla 2: citocinas más importantes que intervienen en las reacciones inflamatorias (25)

La mucosa bucal está constituida por un epitelio de recubrimiento y por tejido conectivo laxo que lo sostiene y nutre, llamado lámina propia o corium. De acuerdo con características funcionales se pueden observar variaciones histológicas. (30) En el tejido conectivo de la mucosa oral, los colágenos y las proteínas como las fibronectinas y en especial la elastina, inducen la migración quimiotáctica de los péptidos y segregan enzimas líticas y radicales libres, ante una agresión. (31) Según la capacidad regenerativa las células del cuerpo se clasifican en lábiles, estables y permanentes. Las células lábiles proliferan durante toda la vida y sustituyen a las que se destruyen de manera continua. Constituyen el epitelio de la superficie y elementos formes de la sangre, dentro de esta clasificación se encuentran las células de la cavidad bucal. Las células estables también conservan la capacidad de proliferación, aunque en estado normal no se duplican, presentan divisiones rápidas como reacción a diversos estímulos, en estos grupos se encuentran derivados del mesénquima como fibroblastos, células de musculo liso osteoblastos y células endoteliales vasculares. Las células del tejido conectivo (fibroblastos, condrocitos y osteocitos) proliferan como reacción

a la lesión y los fibroblastos en particular, proliferan ampliamente y constituyen la reacción del tejido conectivo a la inflamación. Finalmente, las células permanentes corresponden a aquellas que no pueden reproducirse después del nacimiento. (32)

Los primeros estadios de la reparación efectiva tisular son: la depuración de los daños tisulares, células necróticas y apoptóticas liberando el camino hacia la reparación. Ese papel es ampliamente desenvuelto por los macrófagos que también liberan enzimas, proteinasas, colagenasas, hialuronidasa y elastasa para que ocurra la reorganización tisular. (33)

Luego de la implantación de un biomaterial, la respuesta de curación se inicia por la acción de los monocitos y macrófagos, seguida por la proliferación de los fibroblastos y las células endoteliales vasculares en el sitio del implante, lo que lleva a la formación de tejido de granulación, el sello distintivo de la curación de la inflamación. El término de tejido de granulación se deriva del aspecto granular rosa en la superficie de la curación de heridas, y sus rasgos histológicos característicos incluyen la proliferación de nuevos vasos sanguíneos pequeños y fibroblastos. Dependiendo de la extensión de la lesión, el tejido de granulación puede verse tan pronto como tres a cinco días después de la implantación de un biomaterial. (34)

Los nuevos vasos sanguíneos se forman por gemación o aparición de brotes de los vasos preexistentes en un proceso conocido como angiogénesis o neovascularización. Este proceso implica la proliferación, la maduración, y la organización de las células endoteliales en los tubos capilares. Los fibroblastos proliferan también en el desarrollo de tejido de granulación y son activos en la síntesis de colágeno y proteoglicanos. La respuesta de curación de la herida depende en general de la extensión o grado de lesión o defecto creado por el procedimiento de implantación. (35)

Para observar las características del tejido conectivo y en especial las células inflamatorias, resulta de utilidad la tinción de Giemsa donde los núcleos se tiñen de color azul, colágeno y osteoide de tono azul pálido, gránulos eosinófilos de rojo, mucopolisacáridos ácidos, gránulos de mastocitos, matriz de cartílago de color rojizo-violeta y sustancias acidófilas de rojo anaranjado (36).

Los epitelios de la cavidad bucal se dividen en queratinizados y no queratinizados, dependiendo si superficialmente están protegidos o no por esta capa córnea o queratina; a su vez la capa queratinizada se llamará ortoqueratina si las células no muestran núcleos y paraqueratina si los mostraran, lo más común dentro de la cavidad bucal es que los epitelios queratinizados sean constituidos por paraqueratina. Son epitelios estratificados por estar conformados por varias capas o estratos. Se les denomina planos por la apariencia de sus capas más superficiales. El último apelativo es el de descamativo, lo describe el alto índice de renovación celular, las células “viejas” descaman y son constantes y aceleradamente reemplazadas. De tal forma que el epitelio de la mucosa bucal es estratificado, plano y descamativo, pudiendo ser también queratinizado. (30)

La región organizadora nucleolar (NOR) son bucles de ADN que contienen genes de ARN ribosómico (ARN-r). Están íntimamente relacionados con el ciclo celular y pueden estar relacionados con la proliferación o la ploidía en algunas circunstancias. Durante la profase, los componentes del centro fibrilar se dispersan y en metafase estas estructuras existen en posiciones constantes en los brazos cortos de los cinco cromosomas acrocéntricos (es decir, 13, 14, 15, 21, 22). Las regiones organizadoras nucleolares argirófilas (AgNOR) son NOR de unión a plata que se usan a menudo para estudiar la proliferación celular en varios tipos de tumores (37). El número de AgNOR es directamente proporcional a la velocidad del ciclo celular (38).

Se han establecido varios parámetros de AgNOR para evaluar objetivamente las variaciones que ocurren entre una condición de tejido y otra. Estos incluyen el número y el patrón de distribución (los parámetros más utilizados), así como el área del núcleo, el tamaño, la forma y la ubicación de AgNOR, que han demostrado ser factores significativos en estudios previos sobre lesiones de la mucosa oral (39).

Diferentes estudios han demostrado que los AgNORs presentan un patrón de distribución con tendencia a formar agrupaciones o clusters en lesiones malignas, al compararlo con lesiones benignas (40). Las NORs coloreadas con la plata (AgNORs) representan un marcador histoquímico económico, sencillo y eficiente de la proliferación celular y de malignidad (41).

Con estos antecedentes se propone estudiar el tejido blando afectado por periimplantitis, analizando diferentes cortes histológicos determinando el estado de inflamación tisular del tejido conectivo periimplantar por recuento celular y el estado de proliferación tisular del epitelio periimplantar, por recuento de AgNORS.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Describir las características de la inflamación y proliferación celular del tejido blando con periimplantitis.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el estado de inflamación tisular del tejido conectivo periimplantar, por recuento celular con el software ImageJ.

Determinar el estado de proliferación tisular del epitelio periimplantar, por recuento de AGNORs con el software Micrometric.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de tejido para realizar este estudio se obtuvieron a partir de tejido blando afectado por periimplantitis, a partir de procedimientos quirúrgicos realizados en el Centro de Clínicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de la Frontera de Temuco y en el Centro de Clínicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Concepción. Este procedimiento fue realizado en pacientes con indicación clínica de retiro de implantes, previa aplicación del proceso de consentimiento informado para participar en proyecto “Immunohistochemical, histochemical and endoscopic análisis of the bone tissue associated with periimplantitis: Development of an in vivo and in vitro” experimental model sheet-number REDI170658, CONICYT-CHILE.

Tamaño de muestra

Se utilizó un tamaño muestral 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 su superficie ósea.
- Pacientes que fumen con una frecuencia menor de 10 cigarrillos al día.

Criterios de Exclusión:

- Paciente que no acepta tratamiento.
- Pacientes con compromiso sistémico.

- Pacientes que fumen con una frecuencia igual o mayor de 10 cigarrillos al día.
- Pacientes alcohólicos.
- Paciente que no firme el consentimiento informado.

Luego de definir la necesidad de explantar un implante debido a la infección severa de sus tejidos periféricos, se le explico 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.

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 de formalina al 10% tamponada y se refrigeró para su mantención previa al procesamiento en el Laboratorio de Patología Oral de la Universidad de Talca.

El procesamiento de las muestras fue realizado de acuerdo con el siguiente protocolo:

- a) Deshidratación de las muestras, fueron sumergidas en alcohol a distintas concentraciones ascendentes por 50 minutos (70°, 90°, 95° y 100°).
- b) Una vez deshidratadas, las muestras fueron sumergidas en xilol, como aclarante en 3 pasos de 50 minutos.
- c) Las muestras aclaradas fueron incluidas durante 50 minutos en parafina a 58°C, en dos pasos, luego se confeccionó un taco o molde en el cual se colocaron las muestras de tejido blando, para luego dejar enfriando a temperatura ambiente.
- d) A la muestra incluida se le realizaron dos cortes de 5µm de grosor cada uno, obteniéndose dos placas histológicas con dos cortes cada una.
- e) Posteriormente, cada lámina fue teñida con tinción de Giemsa y AgNOR.

5.1. DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE INFLAMACIÓN TISULAR DEL TEJIDO CONECTIVO PERIIMPLANTAR, MEDIANTE TINCIÓN DE GIEMSA y RECUENTO CELULAR CON EL SOFTWARE IMAGE J

Para realizar la tinción los portaobjetos fueron escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se evitó el arrastre de soluciones. En primer lugar, se desparafinaron los preparados histológicos y se rehidrataron en serie descendente de alcohol siguiendo el siguiente protocolo:

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

Tabla 3: esquema de desparafinación

Una vez que se realizó el proceso anterior se procedió a realizar el siguiente protocolo de tinción según Giemsa:

Portaobjetos con preparado histológico	
Agua destilada	10 segundos
Azur-eosina-azul de metileno según Giemsa en solución (sin diluir, filtrada)	15 minutos
Ácido acético 0,1%	10 segundos
Agua destilada	10 segundos
2-Propanol	10 segundos
2-Propanol	10 segundos
2-Propanol	10 segundos
Xileno	5 minutos
Xileno	5 minutos
Montar los preparados humedecidos con xileno y cubreobjetos, después de la deshidratación (tabla n°3)	

Tabla 4: esquema de tinción según Giemsa en cortes de parafina

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
Este proceso se utilizó para deshidratar la muestra en concentraciones crecientes de alcohol, luego se aclaró en xilol para después proceder el montaje en un medio resinoso.	

Tabla 5: esquema de deshidratación de la muestra.

Para el recuento de células inflamatorias, se obtuvieron cinco microfotografías de diferentes campos en microscopio óptico Leica ICC50 W con aumento 400X. Estos fueron analizados posteriormente mediante el software ImageJ. Se realizó el conteo manual de las células inflamatorias en el tejido conectivo periimplantar, mediante la opción “Cell counter notice”.

5.2.DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE PROLIFERACIÓN TISULAR DEL EPITELIO PERIIMPLANTAR MEDIANTE RECuento DE AGNORs

Para realizar el método AgNOR se siguió el siguiente protocolo:

1. Desparafinación de las láminas (Tabla 3)
2. Se aclaró cada lámina en agua destilada por 5 minutos y luego se sumergieron en una solución tampón citrato de sodio (0,01 M, pH 6,0)
3. Los cortes fueron llevados al horno microondas y se aplicaron 3 pulsos de 5 minutos en alta potencia, con intervalos de descanso de 5 minutos entre cada pulso.
4. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se lavaron con agua destilada.
5. Se preparó la solución de trabajo en el momento del uso, este se obtuvo mezclando dos partes de una solución de nitrato de plata 50% p/v en agua desionizada, con una parte de una solución de gelatina 2% p/v en agua desionizada, a la que se adicionó ácido fórmico 1%.
6. Se aplicó la solución de trabajo sobre los cortes y fueron llevados a oscuridad por 15 minutos, posteriormente fueron lavados con varios baños de agua destilada, para ser tratados con tiosulfato de sodio 5% por 5 minutos.
7. Los cortes fueron sumergidos en hematoxilina de Harris por 2 minutos y se aclararon en baños de agua destilada.
8. Finalmente se realizó el procedimiento de deshidratación en alcoholes y xilol (Tabla 5) y se procedió al montaje final, en medio resinoso shandon consul mount histology formulation thermo scientific.

Para evaluar el estado de proliferación tisular se realizó la observación microscópica con aumento 400X y se obtuvieron 5 microfotografías de campos diferentes de cada muestra, posteriormente estas fueron analizadas con el software Micrometrics SE Premium 4.5 en el cual se realizó el conteo manual de número de puntos AgNOR contabilizándose cada punto reconocible como individual (40), mediante la opción “Counting”, de 20 células en cada campo, tras lo cual se obtuvo el promedio de AgNORs.

6. RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados del estado de inflamación tisular del tejido conectivo periimplantar mediante tinción de Giemsa y del estado de proliferación tisular del epitelio periimplantar por recuento de AGNORs.

Este estudio se realizó en 15 pacientes con un promedio de edad de 63 años que presentaron fracaso en tratamiento con implantes dentales los cuales fueron clasificados según sexo y presencia o ausencia de enfermedad crónica, entre las cuales se incluyeron hipertensión arterial y/o diabetes.

		Frecuencia	Porcentaje
Válido	Femenino	9	60,0
	Masculino	6	40,0
	Total	15	100,0

Tabla 6: análisis estadístico de frecuencia de sexo femenino y masculino.

		Frecuencia	Porcentaje
Válido	NO	9	60,0
	SI	6	40,0
	Total	15	100,0

Tabla 7: análisis estadístico de frecuencia de pacientes con presencia y ausencia de enfermedad crónica (diabetes y/o hipertensión arterial)

6.1.DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE INFLAMACIÓN TISULAR DEL TEJIDO CONECTIVO PERIIMPLANTAR, MEDIANTE TINCIÓN DE GIEMSA Y RECUENTO CELULAR CON EL SOFTWARE IMAGE J

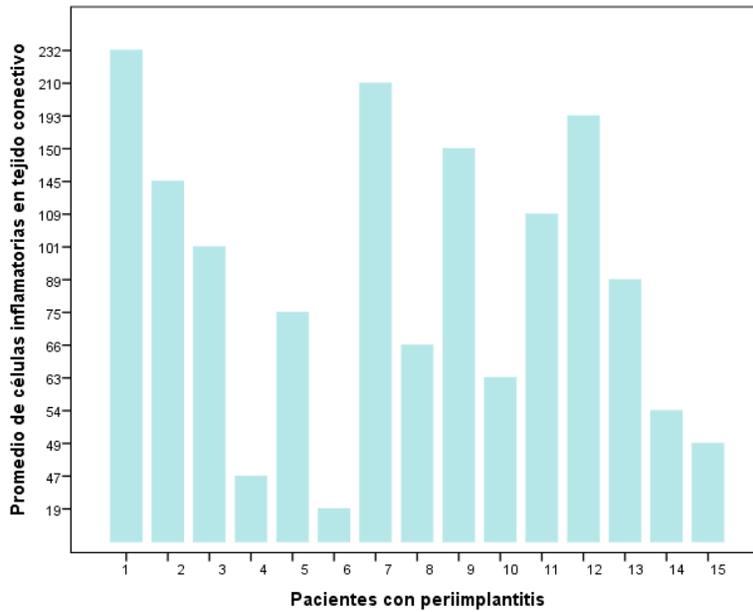


Gráfico 1: Pacientes con periimplantitis vs Promedio de células inflamatorias en tejido conectivo.

Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Promedio de células inflamatorias en tejido conectivo	15	19,0	232,0	106,800	65,1616
N válido (por lista)	15				

Tabla 8 : estadísticos descriptivos del promedio de células inflamatorias en tejido conectivo.

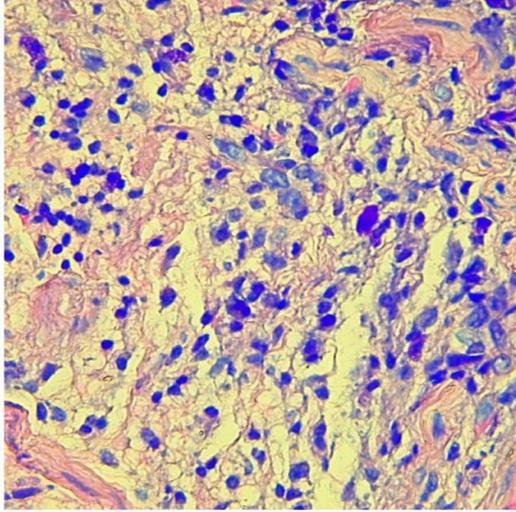


Imagen 1 : células inflamatorias en tejido conectivo de un paciente con periimplantitis observadas con aumento 400X mediante tinción de Giemsa.

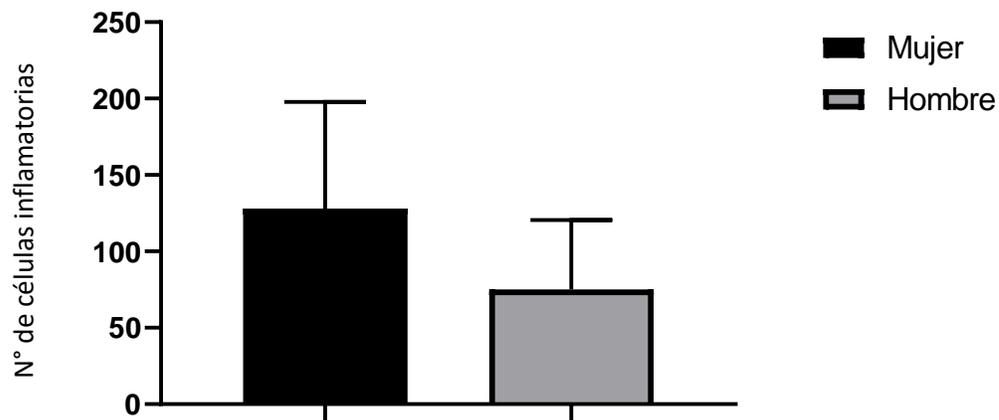


Gráfico 2 : análisis test T de Student para número de células inflamatorias según la variable sexo.

Análisis usado: Test T de Student

P-value: 0.0985

Conclusión: No hay diferencia significativa ($p > 0.05$)

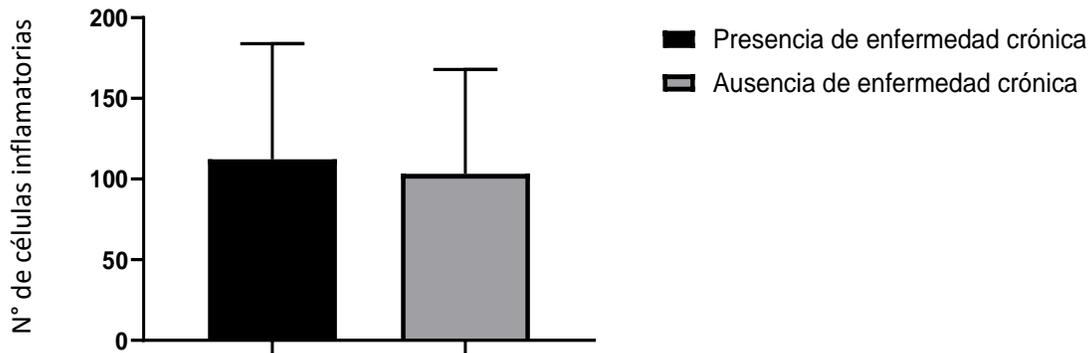


Gráfico 3 : análisis test T de Student para número de células inflamatorias según la variable presencia o ausencia de enfermedad crónica.

Análisis usado: Test T de Student

P-value: 0.8106

Conclusión: No hay diferencia significativa ($p > 0.05$)

6.2.DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE PROLIFERACIÓN TISULAR DEL EPITELIO PERIIMPLANTAR, POR RECUENTO DE AGNORS CON EL SOFTWARE MICROMETRIC.

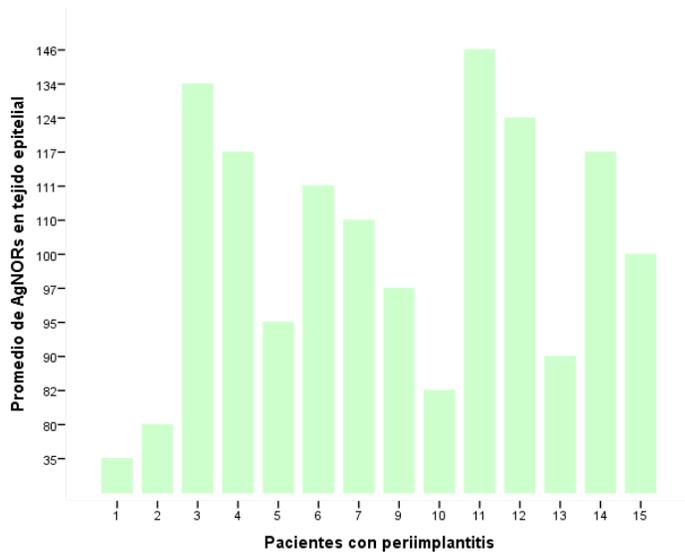


Gráfico 4 : Pacientes con periimplantitis vs Promedio de AgNORs en tejido epitelial.

Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Promedio de AgNORs en tejido epitelial	14	35	146	102,71	27,213
N válido (por lista)	14				

Tabla 9 :estadísticos descriptivos del promedio de AgNORs en tejido epitelial.

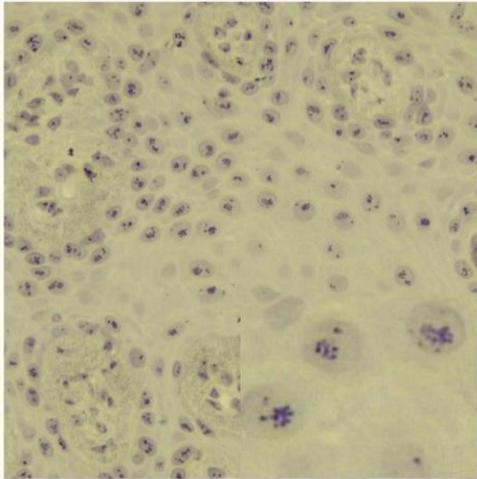


Imagen 2 : NORs en tejido epitelial de un paciente con periimplantitis observadas con aumento 400X mediante tinción de AgNORs.

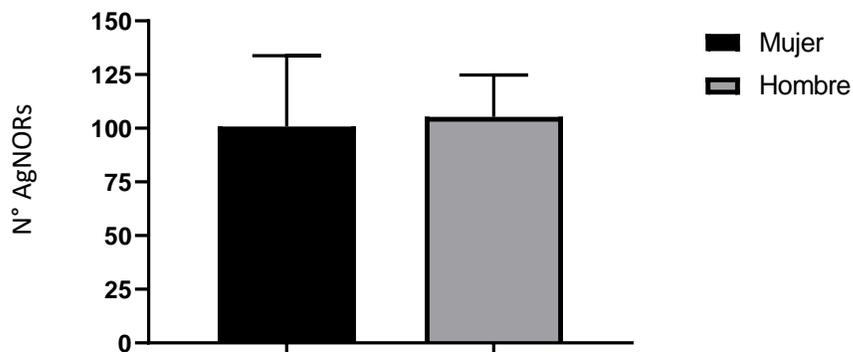


Gráfico 5: análisis test T de Student para número de AgNORs según la variable sexo.

Análisis usado: Test T de Student

P-value: 0.7517

Conclusión: No hay diferencia significativa ($p > 0.05$)

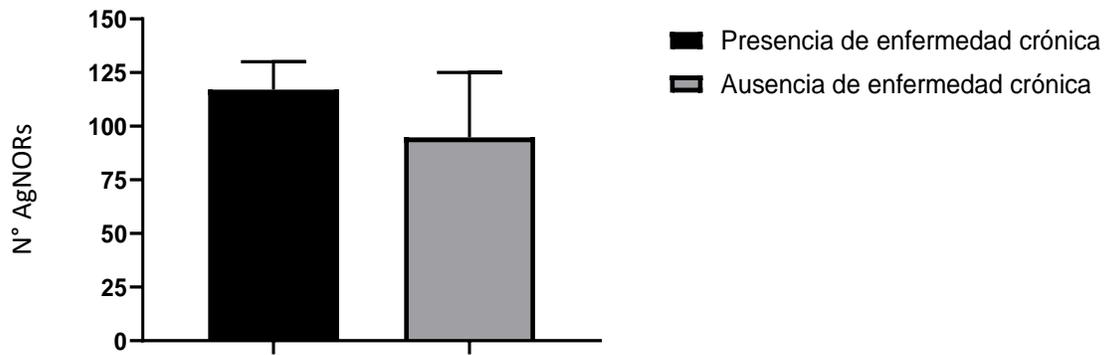


Gráfico 6 : análisis test T de Student para número de AgNORs según la variable presencia o ausencia de enfermedad crónica.

Análisis usado: Test T de Student

P-value: 0.0818

Conclusión: No hay diferencia significativa ($p > 0.05$)

7. DISCUSIÓN

Los implantes dentales ofrecen alternativas de tratamientos con un enfoque menos invasivo, que mejoran la calidad de vida de los pacientes parcial o completamente desdentados. Sin embargo, realizar este tipo de tratamientos involucra una buena planeación y ejecución del aspecto tanto quirúrgico como protésico. Recientes estudios han publicado una tasa de éxito en tratamientos de implantes de alrededor del 90%. La prevalencia de la periimplantitis a nivel paciente es de 20% y a nivel implante es de 9,25% (42). A pesar de su prevalencia, el diagnóstico de la enfermedad periimplantaria sigue siendo un desafío para los profesionales, debido a que los métodos de diagnóstico comunes de sondeo periodontal y radiografías siguen siendo inexactos, y solo documentan la destrucción preexistente, más que la actividad actual de la enfermedad. El éxito quirúrgico de los implantes está directamente relacionado con un proceso de interacción con el hueso, pero, cuando el procedimiento ha fallado, se presenta una alteración durante la fase inicial y se produce una formación de tejido cicatricial fibroso entre la superficie del implante y el hueso circundante. (43)

Con el propósito de aumentar conocimiento en esta área, comprender este proceso y de este modo aportar conocimiento para mejorar las tasas de éxito clínico actuales se caracterizó el tejido blando periimplantar de 15 pacientes de edad promedio 63 años con periimplantitis.

En primer lugar, se estudió el estado de inflamación tisular del tejido conectivo periimplantar mediante tinción de Giemsa, de aquí se obtuvo que la media de células inflamatorias entre los pacientes que participaron en el estudio fue de 106,8, el promedio mínimo y máximo calculado fue de 19 y 232 células inflamatorias respectivamente y una desviación estándar de 65,1616.

El promedio mínimo corresponde al paciente de mayor edad el cual tiene 79 años, en este caso, el envejecimiento, más que una disminución de la respuesta inmunológica origina una disfunción del sistema inmune. Los linfocitos que se muestran más afectados son los linfocitos T, debido fundamentalmente a que a partir de los 60 años el timo se ha transformado completamente en grasa, y será la población linfocitaria T, existente en ese momento, la que actúe como sistema inmunitario. Otros aspectos como la disminución en la capacidad de replicación de los linfocitos T está disminuida en esta etapa de la vida, aunque ciertamente no anulada (44).

La variable sexo, no presenta una diferencia significativa, los fracasos pueden ocurrir a cualquier edad, siempre que existan las condiciones para que no ocurra una osteointegración correcta del implante o no se mantenga favorable (45). La presencia o no de enfermedad crónica también fue una variable en estudio entre las cuales se incluyeron hipertensión arterial y diabetes, aquí no se presenta una diferencia significativa entre pacientes que presentan o no alguna de estas enfermedades crónicas, esto puede ser debido a que el tamaño muestral es bajo, sin embargo, existe tendencia a presentar mayor número de células inflamatorias en pacientes que si presentan enfermedad crónica.

Existen una serie de factores de riesgo asociados a la periimplantitis, cuya evidencia es alta, sin embargo, otros son considerados de evidencia limitada. La historia previa de periodontitis es un factor de riesgo de evidencia alta, esto se debe a que la microbiota presente en la cavidad oral antes de la implantación, determina la composición del nuevo establecimiento de la microbiota sobre los implantes. Fumar y la higiene oral también han sido implicados como un factor de riesgo que afecta al pronóstico a largo plazo de los implantes orales (46).

Las enfermedades sistémicas que se asocian a la periimplantitis se dividen en: alteraciones secundarias que comprometen la inmunidad del huésped y alteraciones endocrinas y

metabólicas. La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica que puede influir en la cicatrización de las heridas, ya que, las típicas alteraciones vasculares asociadas a esta condición, podrían alterar la circulación del sitio implantado, por otro lado, en el periodonto de pacientes diabéticos con periodontitis se expresan múltiples receptores celulares de superficie para productos finales de glicación avanzada y sus ligandos, lo que produce una alteración en el metabolismo normal de los tejidos (47).

La literatura es escasa al tratar la hipertensión como enfermedad por sí sola, sino que la incluye dentro de las enfermedades cardiovasculares. Estos estudios indican que no hay asociación entre esta enfermedad y el fracaso de los implantes dentales, sin embargo, sería importante evaluar la medicación que están recibiendo ya que ningún estudio menciona esto, tampoco el tiempo de duración de la enfermedad y el grado de hipertensión presente en el paciente, lo que podría influir en el fracaso de los implantes dentales (48).

No se realizaron técnicas para diferenciar células granulocíticas y mononucleares ya que la periimplantitis se caracteriza por ser un proceso inflamatorio crónico, siendo así, las células predominantes son mononucleares del tipo linfocitos, células plasmáticas y macrófagos (25).

En segundo lugar, se realizó la determinación del estado de proliferación tisular del epitelio periimplantar, por recuento de AgNORs. La tinción de AgNOR es simple y puede ser usada como método para la estimación de la proliferación celular, haciendo diferenciación del tejido normal del crecimiento proliferativo no neoplásico, neoplásico benigno y neoplásico maligno de tejidos blandos (49).

La media de AgNORs en tejido epitelial entre todos los pacientes fue de 102,71 con un valor mínimo y máximo de 35 y 146, respectivamente, la desviación estándar calculada es 27,213. Cuando en la cuantificación de AgNORs existe una cantidad mayor a 1, puede ser

una herramienta útil para distinguir entre epitelio normal y displasia de cavidad bucal (50). Existe un incremento en el promedio de conteo de AgNORs en leucoplasias y carcinoma epidermoide de cavidad bucal comparado con el epitelio normal, sugiriendo que entre más displásico es el epitelio la cantidad de AgNOR se incrementa y el tamaño de los puntos nucleolares decrece (51).

La variable sexo no presenta una diferencia significativa al igual que al estudiar las variables de presencia y ausencia de enfermedad crónica, sin embargo, se observa que existe tendencia a aumentar el número de AgNORs en tejido epitelial en pacientes que presentan diabetes y/o hipertensión arterial.

Los AgNOR es un parámetro accesible, reproducible, económico y comparable que se podría utilizar en forma rutinaria de manera paralela a la técnica histológica de rutina en lesiones sospechosas de displasias (51).

Como técnica, la tinción de AgNOR no es específica para una proteína en particular. Varios tipos de proteínas asociadas a ribosomas de unión a plata pueden formar AgNOR. La determinación de las actividades de estas proteínas se ha utilizado como marcador de proliferación y actividad metabólica de las células; y los estudios han investigado los AgNOR en diferentes órganos sanos y enfermos (52).

En el momento actual existen evidencias experimentales suficientes para afirmar que, de forma directa o indirecta, la expresión de los AgNORs está relacionada con la síntesis de ADN y, por tanto, puede ser considerada como un marcador de proliferación celular (53).

Para continuar con los estudios, se necesitan investigaciones clínicas e histológicas en las cuales sería importante diferenciar poblaciones celulares de macrófagos tipo 1 y tipo 2, determinar la presencia de otras proteínas de proliferación celular y poder comparar con tejido de mucosa de pacientes sanos para determinar diferencias.

8. CONCLUSIONES

A partir de los datos recabados en este estudio se afirma que existe un proceso inflamatorio importante, encontrando una tendencia a aumentar el promedio de células inflamatorias en pacientes que presentan enfermedades crónicas como diabetes y/o hipertensión arterial.

El número de AgNORs encontrados es muy elevado a pesar de que no existen diferencias significativas entre las variables estudiadas, sin embargo, existe una alta proliferación celular.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Figuero E, Shapira L, Jin L, Sanz M. La nueva clasificación de las enfermedades periodontales y periimplantarias. *Revista científica de la sociedad española de periodoncia*. 2018;(11).
2. Smeets R, Stadlinger B, Schwarz F, Beck-Broichsitter B, Jung O, Precht C, et al. Impact of Dental Implant Surface Modifications on Osseointegration. National Center for Biotechnology Information. 2016.
3. Segura Andrés G, Gil-Pulido R, Vicente González F, Ferreiroa Navarro A, Faus López J, Agustín Panadero R. Periimplantitis y mucositis periimplantaria. Factores de riesgo, diagnóstico y tratamiento/ Risk factors, diagnosis and treatment of peri-implant disease. *Av Periodon Implantol*. 2015; 27(1).
4. Li J, Yin X, Huang L, Mouraret S, Brunski J, Cordova L, et al. Relationships among Bone Quality, Implant Osseointegration, and Wnt Signaling. *Journal of dental research*. 2017; 96(7).
5. Pérez L. Periimplantitis. 2017; 36(1).
6. Aquije S, Torre A. Factors associated with the prevalence of peri-implant mucositis. *CES Odontología*. 2015; 28(1).
7. Ramanauskaite A, Daugela P, Faria de Almeida R, Saulacic N. Surgical Non-Regenerative Treatments for Peri-Implantitis: a Systematic Review. *Journal of oral & Maxillofacial research*. 2016; 7(3).
8. Mesquita J, Lacerda , Sampaio G, Godoy G, Nonaka C, Alves P. Evaluation in vivo of biocompatibility of different resin-modified cements for bonding orthodontic bands. *Anais da academia brasileira de ciencias*. 2017; 89(3): p. 2433-2443.
9. SEPA. *Periodoncia Clínica: Enfermedades periimplantarias*. Primera ed. Zabalegui I, editor. España: Revista científica de la Sociedad Española de Periodoncia; 2015.
10. Manzur Villalobos I, Puerta Dominguez MA, Prado S, Machuca Portillo , Díaz Caballero A. Immediate dental implant in a diabetic patient. *Clinical journal of periodontics, implantology and oral rehabilitation*. 2017; 10(2): p. 93-95.
11. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson A. The long term efficacy of currently used dental implants. A review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1986; 1(11-25).
12. ten Bruggenkate C, van der Kwast W, Oosterbeek H. Success criteria in oral implantology. A review of the literature. *Int J Oral Implantology*. 1990; 7(45-51).

13. Haidar Wehbe A, Garcia Sanchez A, Salgado Peralvo A. Risk factors in implant dentistry. A review. *Revista Española Odontoestomatológica de Implantes*. 2018; 22(1).
14. Montes C, Larrucea C, Carrasco O, Valdez R, Marilao J. Brand selection criteria for specialists most used dental implants. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral*. 2018; 11(3).
15. IDM. Implantes dentales medicos. [Online].; 2019.. Disponible en: <http://www.implantesdentalesmedicos.com/>.
16. Lindhe J, Karring T, Lang N. *Periodontologia clinica e implantologia odontologica / Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. reimpresada ed. Lindhe J, Karring T, Lang N, editores.: Medica Panamericana; 2009.
17. Institute BB. BTI Biotechnology Institute. [Online]; 1999. Disponible en: <http://bti-biotechnologyinstitute.com/es/pacientes/implantes-dentales/fases-y-duracion-del-tratamiento/>.
18. Zitzmann N, Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. Soft tissue reactions to plaque formation at implant abutments with different surface topography. *J Clin Periodontol*. 2002; 29(456–461).
19. Meyer S, Giannopoulou C, Courvoisier D, Schimmel M, Müller F. Experimental mucositis and experimental gingivitis in persons aged 70 or over. Clinical and biological responses. *Clin Oral Implants Res*. 2017; 28(8).
20. Smeets R, Henningsen A, Jung O, Heiland M, Hammächer C, Stein J. Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis – a review. *Head & face medicine*. 2014; 10(34).
21. Dopico J, Liñares A. Diagnostico y prevalencia de enfermedades periimplantarias. *Revista científica de la sociedad española de periodoncia*. 2015; 1(1).
22. Zitzmann N, Walter C, Berglundh T. Ätiologie, Diagnostik und Therapie der Periimplantitis – eine Übersicht.. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift*.. 2006;(61).
23. Bordés González R, Martínez Beltrán M, García Olivares E, Guisado Barrilao R. El proceso inflamatorio. Universidad de castilla-La mancha. 2010.
24. Armas García J, Miranda Alvarado L, Cuesta del Sol J, Borges A, Leon M. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. *Finlay*. 2015; 5(1).
25. Mitchell R, Kumar V, Abul A, Jon A. *Compendio de Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional*. Novena ed. Sciences EH, editor.; 2017.
26. Abul A, Andrew L, Shiv P. *Cellular and molecular immunology*. 8th ed. España: Elsevier; 2015.
27. González Costa M, González A. Inflammation from an immunologic perspective: a challenge to medicine in the 21st century. *Revista habanera ciencias médicas*. 2019; 18(1).

28. Jie C, Yu W, Jiannong Y, Jinming S. Association between tumor necrosis factor alpha rs1800629 polymorphism and risk of osteoarthritis in a Chinese population. *Brazilian journal of medical and biological research*. 2018; 51(8).
29. Klose C, Mahlaköiv T, Moeller J, Rankin L, Flamar A, Kabata H, et al. The neuropeptide neuromedin U stimulates innate lymphoid cells and type 2 inflammation. *Pubmed central*. 2017; 549(7671).
30. Castellanos J. Orally mucosa. *Revista de la Asociación Dental Mexicana*. 2002; 59(2).
31. Casariego Zulema J. Immunology of oral mucosa: A review. *Avances en Odontoestomatología*. 2012; 28(5).
32. Bobadilla D, Kraunick A. Cicatrizacion de heridas. En *Medicina Legal*. Tegucigalpa: Alin Editora, S.A; 1995.
33. Granjeiro J, Soares G. Biomaterials in Dentistry: principles, methods investigative and applications. En. São Paulo: Cultural Editora Ltda; 2011.
34. Anderson J. Biological Responses to Materials. *Annual Review of Materials Research*. 2001; 31: p. 81-110.
35. Quispe Churata J. Respuesta inflamatoria y reparación del tejido conectivo frente a implantes de titanio y nanohidroxiapatita producidos mediante fricción batida, en ratones. Tesis para optar al grado de maestro en estomatología. Lima: Universidad peruana Cayetano Heredia, Departamento Académico de la Clínica Estomatológica.
36. Alan Kiernan J. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. 4th ed.; 2008.
37. Gupta B, Shaleen C, Vineet R, Gupta V. Quantitative analysis of Argyrophilic Nucleolar organizer regions in odontogenic cysts and tumor – A comparative study. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*. 2018; 8(2): p. 94-97.
38. Pich A, Chiusa L, Navone R. Prognostic relevance of cell proliferation in head and neck tumors. *Annals of oncology*. 2004; 15(9).
39. Cabrini R, Schwint A, Mendez A, Femopase F, Lanfranchi H. Morphometric study of nucleolar organizer regions in human oral normal mucosa, papilloma and squamous cell carcinoma. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 1992; 21(6).
40. Palomo-González MJ, Pérez Requena J, Rego González M, López Nieto M, Cañizares Benítez C. Evaluation of nuclear organizer regions (AgNORs) in thyroid follicular neoplasms. *Revista española de patología*. 2002; 35(1): p. 95-100.
41. Giraldo G, Aranzazu D, Rodríguez B, Pérez M, Ramírez. Caracterización de las Regiones Organizadoras Nucleolares coloreadas con Plata (AgNORs) en tumores cutáneos caninos. *Revista colombiana de ciencias pecuarias*. 2003; 16(2).

42. Balderas Tamez J, Guizar JM, Fandiño LA, Neri Zilli F. Factors related to the success or failure of dental implants placed in the specialty prosthodontics and implantology at Universidad of La Salle Bajío. *Revista española de cirugía oral y maxilofacial*. 2017; 39(2): p. 63-71.
43. Balderas Tamez J, Neri Zilli F, Fandiño L, Guizar JM. Factors related to the success or failure of dental implants placed in the specialty prosthodontics and implantology at Universidad of La Salle Bajío. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*. 2017; 39(2): p. 63-71.
44. Álvarez Fernández B, Garcia Ordoñez M, López Trigo J, Marin Carmona J, Gómez Huelgas R, Juarez Fernandez C. Modification of the immune response in the elderly with nutritional treatments. *Anales de medicina interna*. 2002; 19(8).
45. Pérez Padrón , Pérez Quiñones A, Cid Rodríguez MdC, Díaz Martell , Saborit Carvajal T, García Martí CD. Causes and consequences of failures of the dental implantology. *Revista medica electronica*. 2018; 40(4).
46. López SS. Actualización en el tratamiento de la periimplantitis. Trabajo fin de master en ciencias odontológicas. Sevilla: Universidad de Sevilla, Departamento de estomatología.
47. Morales A, Bravo J, Baeza M, Werlinger F, Gamonal J. Periodontal disease as a chronic non transmissible diseases: Paradigm shift. *Revista clinica de periodoncia, implantologia y rehabilitación oral*. 2016; 9(2).
48. Dominguez J, Acuña J, Rojas M, Bahamondes J, Matus S. Study of association between systemic diseases and dental implant failure. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*. 2013; 6(1).
49. Arora H, Arora N, Solanki R. Argyrophilic nucleolar organizer regions in soft tissue tumors. *Indian Journal of Pathology & Microbiology*. 1996; 39(4): p. 257-263.
50. Xie X, Clausen O, Sudbö J, Boysen M. Diagnostic and prognostic value of nucleolar organizer regions in normal epithelium, dysplasia, and squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer*. 1997; 79(11): p. 2200-2208.
51. Leyva Huerta E, Vega Memije E, Ramírez Macías M, Zarate Daza A. Marcador de regiones de organizadores nucleolares en lesiones epiteliales de la cavidad bucal. *Revista española de patología*. 2004; 37(3).
52. Turan Sönmez F, Eröz R. The role of argyrophilic nucleolar organizing region-associated proteins in clinical exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of international medical research*. 2018; 46(12).
53. Carbajo S, Carbajo Pérez E. NORs and the Cell Cycle. En: *DNA cytometric analysis*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Oviedo.. 1993.
54. Merk millipore. [Online].; 2019.. Disponible en: www.microscopy-products.com.