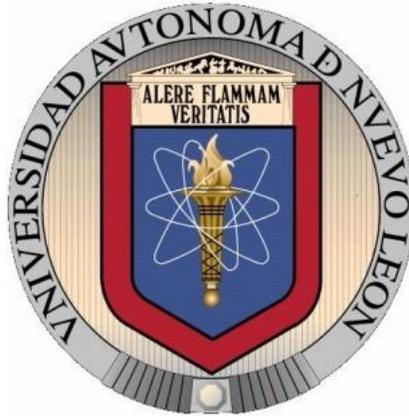


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**“USO DE BIFOSFONATOS EN RATAS WISTAR COMO ANCLAJE
FARMACOLÓGICO PARA EVITAR LA ERUPCIÓN FISIOLÓGICA
DE INCISIVOS”**

POR

RUBÉN YOSIMAR ROMERO HERNÁNDEZ

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN ORTODONCIA**

NOVIEMBRE 2015

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



**“USO DE BIFOSFONATOS EN RATAS WISTAR COMO ANCLAJE
FARMACOLÓGICO PARA EVITAR LA ERUPCIÓN FISIOLÓGICA
DE INCISIVOS”**

POR

RUBÉN YOSIMAR ROMERO HERNÁNDEZ
CIRUJANO DENTISTA UANL

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN ORTODONCIA

NOVIEMBRE 2015

**“USO DE BIFOSFONATOS EN RATAS WISTAR COMO ANCLAJE
FARMACOLÓGICO PARA EVITAR LA ERUPCIÓN FISIOLÓGICA DE
INCISIVOS”**

Comité de Tesis

CD. Posgraduada en Ortodoncia, MC, PhD, Dra. Hilda H.H. Torre Martínez

Presidente

C.D., Especialista en Ortodoncia, PhD. Roberto Carrillo González

Secretario

C.D, MSP, PhD. Dra. Rosalba González Meléndez

Vocal

**“USO DE BIFOSFONATOS EN RATAS WISTAR COMO ANCLAJE
FARMACOLÓGICO PARA EVITAR LA ERUPCIÓN FISIOLÓGICA DE
INCISIVOS”**

Asesores

C.D., Especialista en Ortodoncia, PhD. Roberto Carrillo González

Director de Tesis

C.D., MC, Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos

Asesor del Experimento

CD. Posgraduada en Ortodoncia, MC, PhD, Dra. Hilda H.H. Torre Martínez

Asesor Científico

L.F.M., M.C., Dr. en C. Roberto Mercado Hernández, Asesor Estadístico

Coordinador del Posgrado de Ortodoncia

CD. Especialista en Ortodoncia, PhD. Roberto Carrillo González

Subdirector de Estudios Superiores

CD., MEO, PhD. Sergio Eduardo Nakagoshi Cepeda

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco al Altísimo por siempre estar al lado de mi familia y sobre todo al mío bendiciéndonos y guiándonos en cada paso que damos y logro que obtenemos. Pues todo lo hago por y para él.

A mi familia por el apoyo incondicional y afectuoso que siempre me han dado, con especial énfasis en mis padres, a los cuales les dedico cada uno de mis éxitos personales y profesionales.

A mis hermanos Javier, William, Jesús, Aracely y Grizel.

A mis maestros sin excepción por dejar marcadas para siempre sus enseñanzas tan valiosas.

A mis compañeros de generación por hacer de los 3 años de maestría una gran experiencia de vida, en especial a Marcela, Everest y Álvaro a los cuales considero mis hermanos.

Al personal administrativo por siempre darme la mano en todo: Julio, Esther, Jorge, Kimberly, Angélica, pasantes en general.

A la Dra. Marcela Márquez y al Dr. Anders Holmberg del Instituto Karolinska Suecia por brindarme su confianza y poder trabajar con su producto.

Agradezco también al CIDICS, al Dr. Mario Guzmán, Alejandra González y a Pepe Herrera infinitamente por su ayuda en el laboratorio y manejo de los animales usados para esta investigación.

Quien se merece también ser agradecido especialmente es Fernando Cantú de la compañía de productos dentales NISSIN por su colaboración especial en el préstamo de los aparatos de rayos X portátil y radiovisiógrafo, fundamental para llevar a cabo este experimento.

A la Dra. Miriam de la Garza Ramos le agradezco enormemente por tenderme su mano y ser el apoyo indispensable para esta investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para la realización de mis estudios.

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS), por permitirme el uso de su equipo y su invaluable ayuda en el desarrollo de este estudio.

Al Dr. Ricardo Martínez por su gran participación en la interpretación de la histología de esta investigación

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
Resumen.....	2
Abstract.....	3
Introducción.....	5
Antecedentes.....	9
Materiales y Métodos.....	19
Resultados.....	39
- Clínicos.....	40
- Radiográficos.....	42
- Histológicos.....	42
- Estadísticos.....	49
Discusión.....	54
- Selección de la muestra.....	55
- Selección de la técnica.....	58
- Selección del instrumento de medición.....	60
- Dosis aplicada a los grupos experimentales.....	62
- Análisis de los datos encontrados en los cortes histológicos.....	64
- Crecimiento de incisivos vs erupción.....	66
- Implicaciones clínicas a futuro.....	67
Conclusiones.....	69
Recomendaciones.....	70
Bibliografía.....	73
Anexo Secuencia radiográfica.....	79

RESUMEN

Rubén Yosimar Romero Hernández

Fecha graduación

Universidad Autónoma de Nuevo León

Julio 2015

Facultad de Odontología

Título del estudio: **Uso De Bifosfonatos En Ratas Wistar Como Anclaje Farmacológico Para Evitar La Erupción Fisiológica De Incisivos**

Candidato para el Grado de
Maestría en Ortodoncia.

Área de Estudio: Retención en Ortodoncia

Propósito: El anclaje y la etapa de retención en ortodoncia juegan un papel importante y determinante para el resultado de una oclusión funcional y estable. El propósito de este estudio fue investigar el uso de bifosfonatos de forma local, para proveer anclaje farmacológico a nivel local.

Materiales y métodos: Se utilizaron 3 grupos de ratas Wistar de 12 semanas de edad, dos grupos experimentales a los cuales se les colocaron 2 bifosfonatos diferentes (zoledronato y ODX) durante 1 mes cada tercer día, y 1 grupo control al cual sólo se le colocó solución salina en el mismo intervalo de tiempo. Se tomaron radiografías en 4 tiempos. Al inicio del experimento (T0), al mes cuando se realizó desgaste de 1mm de dientes superiores e inferiores (T1), una semana posterior al desgaste (T2), 15 días después del desgaste dentario (T3). Para evaluar la extrusión de incisivos. Cortes histológicos de la zona de la aplicación y órganos fueron estudiados.

Contribuciones y conclusiones: Se encontró que la aplicación de bifosfonatos de manera local entre los incisivos inferiores de las ratas wistar durante 1 mes, no fue efectivo para detener el crecimiento normal que sufren estos dientes de manera ordinaria provocada por el desgaste al roer el alimento y que al cabo de 1 mes posterior al desgaste estos volvían a la longitud inicial en los grupos experimentales como en el control. Histológicamente se observaron cambios favorables presentando ambos medicamentos un hueso más mineralizado con ausencia de osteoclastos. Zoledronato mostro más agresividad en hueso y órganos.

ASESOR: _____

ABSTRACT

Rubén Yosimar Romero Hernández

Graduation Date

Universidad Autónoma de Nuevo León

July 2015

Facultad de Odontología

Title: Use of Bisphosphonates in Wistar Rats as a Pharmacological Anchorage to Avoid Physiological Eruption of Incisors

Candidate for degree
Master in Orthodontics.

Study area: Post-Orthodontic treatment retention

Purpose: The anchorage and retention post orthodontic therapy play an important and decisive role for the outcome of a functional and stable occlusion. The purpose of this study was to investigate the use of bisphosphonates to provide local anchorage.

Materials and methods: 3 groups of Wistar rats of 12 weeks old, two experimental groups that were placed 2 different bisphosphonates (zoledronate and ODX) for 1 month every other day, and one control group were used to which only saline solution were placed in the same time interval. Radiographs were taken in 4 times. At the beginning of the experiment (T0), one month when 1mm upper and lower teeth were trimmed (T1), one week after the tooth wear (T2), and 15 days after the tooth wear (T3) was performed. To evaluate the extrusion of the incisors. Tissues were analyzed by histology studies.

Results: Clinic and radiografic evaluations shows that bisphosphonates does not stop the normal grow and regeneration of the upper and lower incisors of the rats after they were trimmed, histological findings showed that the drugs were effective keeping osteoclast away the bone surface.

Conclusions: It was found that the application of bisphosphonates locally between the lower incisors of the rats for 1 month was not effective to stop normal extrusion suffering these teeth ordinarily caused by wear to chew food and within 1 month after wear these returned to the initial length in the experimental and control groups.

ASESOR: _____

A decorative L-shaped line consisting of a vertical segment on the left and a horizontal segment extending to the right, both in black. The horizontal segment is positioned below the word 'INTRODUCCIÓN'.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

La retención y contención después de concluido el tratamiento de ortodoncia, es uno de los campos de mayor interés tanto para el paciente como para el ortodoncista, dado que el paciente requiere de una garantía aceptable de su tratamiento por el pago del mismo y un método o sistema de retención que funcione; mientras que el ortodoncista desea que las citas de retención de los pacientes terminados sean cortas y que haya el menor número de relapsos o recaídas, en relación al número de pacientes iniciados. Pues no es redituable en ningún sentido re-tratar a un paciente por alguna falla en el sistema.

Encontrar una forma de asegurar la etapa de retención de cada paciente sin depender de su cooperación en su totalidad, sería una gran ventaja para la consulta.

Los bifosfonatos juegan un papel muy importante en tratamientos de enfermedades crónicas como la osteoporosis, la enfermedad de Paget, inactivando la remodelación ósea desactivando la función específica de los osteoclastos.

Existen varias teorías y estudios de laboratorio con modelos animales realizados acerca del uso de bifosfonatos para proveer anclaje de tipo farmacológico durante el tratamiento de ortodoncia, específicamente durante el movimiento dental en sentido transversal y sagital.

Con base en estas teorías y experimentos, se hizo énfasis en este estudio, en la utilización de 2 diferentes bifosfonatos de manera local en el área bucal, para estudiar el grado de acción sobre el movimiento en sentido vertical de las piezas dentales sobre la función normal de masticación y no durante el tratamiento de ortodoncia.

Uno de los principales problemas del ortodoncista en la etapa de retención es, además de la falta de cooperación de los pacientes con los aparatos de

contención, el de asegurar la retención y oclusión estable a futuro a expensas de que a la gran mayoría de los pacientes son compensados dentalmente o es camuflajeado su problema esquelético. O en su gran mayoría evitar el movimiento indeseado o recíproco provocado por una fuerza igual y opuesta en el sentido contrario al realizar movimiento ortodónticos.

La actividad celular osteoblástica y osteoclástica representa en ambos casos un papel determinante para el desarrollo y finalización del tratamiento; el cual podría ser modificado químicamente con el objetivo de ayudarnos a obtener los resultados deseados.

Este estudio se basó en la aplicación de 2 diferentes bifosfonatos a 2 grupos experimentales de ratas Wistar durante un mes, una vez concluido su crecimiento y desarrollo. Posteriormente se les realizó un desgaste en sentido vertical de 1 mm de sus dientes anteriores superiores e inferiores y se les colocó un punto identificador cerca del margen gingival, para monitorear el grado de extrusión de ambos grupos de dientes y en comparación de un grupo con el otro. Lo anterior con el objeto de analizar si el medicamento citado puede servir como un ancla farmacológica y detener el movimiento de las piezas dentales en sentido vertical.

Los resultados de este estudio darán a los ortodoncistas un panorama más amplio de los nuevos enfoques que intentan interactuar y ser parte de un tratamiento convencional de ortodoncia.

Así como intenta dar nuevas ideas sobre diferentes líneas de investigación acerca del tema a personal docente y estudiantes de Ortodoncia.

Los objetivos planteados al inicio de este estudio son los siguientes:

Objetivo General

Medir el grado de erupción de incisivos centrales de ratas Wistar del Bioterio del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) de la Universidad Autónoma de Nuevo León, administrando ODX y Zoledronato de forma local para anclaje farmacológico.

Objetivos Específicos:

1.- Comparar las diferentes dosis de ODX y Zoledronato para proveer anclaje farmacológico y evitar la erupción fisiológica de incisivos en ratas Wistar del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

2.- Evaluar radiográficamente los movimientos en sentido vertical y antero-posterior de los incisivos de los grupos experimentales comparado con el control.

HIPÓTESIS.

Los bifosfonatos son un tratamiento alternativo para evitar la pérdida de anclaje dental, reabsorción radicular, y recidiva esquelética en ratas Wistar de 8 semanas de edad del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Clasificación del estudio

Experimental

Prospectivo

Longitudinal

Comparativo



ANTECEDENTES

ANTECEDENTES

La mayoría de los mamíferos adultos tienen un desgaste constante de las caras oclusales a lo largo de la vida, debido a las exigencias de la función masticatoria. En muchos casos, la abrasión se compensa por una erupción continua de los dientes. En muchos más casos, la abrasión se compensa por una erupción continuada de los dientes.

La erupción continua es propia de los dientes de ciertos mamíferos inferiores que sufren un desgaste oclusal permanente. Así, los molares del cobayo y del conejo, mantienen la misma altura de la corona clínica, aunque no tienen una corona clínica bien definida, desde la cara triturante hasta el ápice dentario, todo está recubierto de esmalte, que sigue formándose por una amilogénesis permanente a lo largo de la vida. Esta capacidad de formar esmalte compensa el desgaste ininterrumpido de la corona dentaria. La existencia de un plexo intermedio periodontal, que une los haces colágenos de la pared ósea con los provenientes de la raíz, permite que el molar se extruya. En estos casos, se les denomina dientes de crecimiento continuo.

En otros mamíferos en los cuales los dientes sufren abrasión moderada de la superficie triturante, el esmalte está cubierto por una capa de cemento que permite que las fibras de colágeno supra alveolares, se inserten en la corona clínica. Cuando la cara oclusal sufre un desgaste abrasivo, el conjunto del diente hace extrusión y crece para mantener el contacto oclusal. En estos dientes no hay depósito de material dentario, sino simple extrusión vertical y se les denomina dientes de extrusión continuada.

Al aplicar una fuerza a un diente durante un periodo suficiente de tiempo, ocurren dos situaciones: El hueso que se enfrenta y opone al sentido del movimiento tendrá que reabsorberse para permitir el desplazamiento radicular (lado de presión). En el lado opuesto el hueso tendrá que seguir al diente tratando de

mantener íntegro el espesor periodontal; nuevas capas óseas se depositarán sobre la superficie dentaria del hueso alveolar en el lado de presión.

La reabsorción que se produce al aplicar fuerza a los dientes es de dos tipos diferentes: la directa en la cual se reduce la circulación sanguínea del ligamento periodontal y permite la llegada de los elementos celulares y realizar la acción osteoclástica. Y la indirecta en la cual al aplicarse una fuerza demasiado intensa, se produce una hialinización de la zona y los osteoclastos tienen que llegar de otra zona donde haya vitalidad.

El remodelado óseo se da debido a la actividad en el lado de la tensión ligamentosa con neo formación de tejido osteoide que dura de nueve a diez días, el cual no es reabsorbible y evita la recidiva del diente a regresar al sitio anterior. Este tejido osteoide se calcifica y hay una reconstrucción o reparación del tejido conectivo propio del periodonto (Canut 1992; Davidovitch 1980; Harfin 2005; Reitan 2005).

Remodelado:

Indica depósito y reabsorción simultánea en todas las superficies internas y externas del hueso.

Este crecimiento puede manifestarse en dos tipos de movimientos:

- 1.- Arrastre: combinaciones de depósitos y reabsorción, producidos por el depósito de hueso nuevo en un lado de la cortical, mientras en el lado opuesto se produce reabsorción.

2.-Desplazamiento: es el movimiento de todo el hueso como una unidad (Robert Moyers 1996; Valenzuela y cols., 1993).

Retención

El anclaje representa un gran problema que por años significó un gran reto para el ortodoncista.

El control del anclaje dental es frecuentemente el componente más dificultoso del tratamiento ortodóncico. El anclaje necesario es habitualmente difícil de obtener o requiere un nivel de cooperación del paciente que no es conseguido en su plenitud. El anclaje no sólo juega un rol significativo al momento de formular el plan de tratamiento, sino que también indica la factibilidad de lograr los objetivos del tratamiento. Las limitaciones de anclaje, por consiguiente, muy a menudo resultan en una obligación para obtener los propósitos del tratamiento.

Clasificación del anclaje

Según la manera de aplicar la fuerza, el anclaje puede ser:

- ~ Simple.
- ~ Estacionario. No permite el movimiento del elemento.
- ~ Recíproco. Permite un movimiento menor entre dos elementos de igual fuerza.

Según el origen de la fuerza de anclaje:

- ~ Intrabucal. Emplea medios inter e intramaxilar
- ~ Extrabucal. Arco facial, máscara facial.

Según la naturaleza de fuerzas de anclaje:

- ~ Natural. Muscular (bumper), anclaje por cúspide dental, anclaje por patrón facial, ligamento periodontal, tejido óseo, etc.
- ~ Por terapia ortodóncica: Barra con botón Nance, arco transpalatino (ATP), arco lingual, inclinación molar distal.

Según el número de unidades:

- ~ Primario. De una sola pieza
- ~ Compuesto. De dos o más piezas frente una.
- ~ Reforzado. Conjunción o ligadura de varias piezas enfrente de otro grupo.

Según los maxilares implicados:

- ~ Intermaxilar. Módulos elásticos, resortes, charnela.
- ~ Intramaxilar. Botón de Nance, barra palatina, arco lingual, lip bumper y las placas removibles.

Según el elemento de anclaje:

- ~ Dental. Intrabucal.
- ~ Óseo. Intrabucal.
- ~ Externo. Extrabucal.

Según el objetivo del anclaje:

~ Anclaje directo. Cuando el elemento de anclaje es usado para generar movimiento.

~ Anclaje indirecto. Cuando el elemento de anclaje es utilizado para prevenir movimientos indeseados.

Según el anclaje de los primeros molares.

~ Anclaje mínimo. Los primeros molares deben migrar poco en dirección mesial.

~ Anclaje medio o moderado. Migración en grado menor (anclaje recíproco)

~ Anclaje máximo. Los molares no deben migrar mesialmente (Anclaje estacionario). (Randall Moles, 2002).

Bifosfonatos

Los bifosfonatos pertenecen al grupo de los pirofosfatos los cuales funcionan uniéndose a los cristales de fosfato de calcio e inhiben su crecimiento, agregación y disolución. Su eficacia terapéutica se relaciona con su actividad antiresortiva, por lo que son utilizados en enfermedades del hueso como hipercalcemia del cáncer, enfermedad metastásica ósea y la osteoporosis (Hoskins y cols., 1998; Eastell R. 1998; Hawkins y cols., 2000; Rosen y cols., 2005; Lardelli y cols., 2012; Takahashi y cols., 2012).

QUÍMICA

Existen dos tipos de bifosfonatos: Los que contienen nitrógeno (alendronato, risedronato por vía oral; pamidronato, zoledronato por vía intravenosa) y los que

no los contienen (etidronato, clodronato, tiludronato); se agrupan según la vía de administración que se emplee, ya sea oral o intravenosa.

Los bifosfonatos son compuestos sintéticos que tienen estructura química similar al pirofosfato inorgánico, regulador endógeno del metabolismo óseo. La estructura general de los bifosfonatos es bastante fácil de modificar, por lo que las diferentes generaciones pueden variar mucho en sus características biológicas, terapéuticas y toxicológicas.

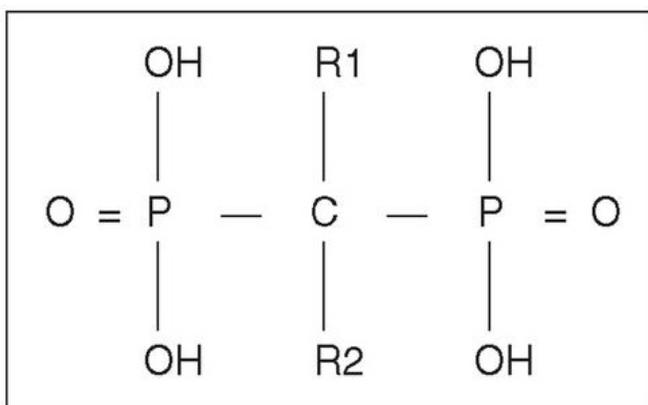


Figura 1.- Estructura básica de los bifosfonatos

MECANISMO DE ACCIÓN

Estos fármacos actúan suprimiendo y reduciendo la reabsorción ósea por los osteoclastos. Esto se consigue directamente impidiendo la agrupación y función de los osteoclastos, e indirectamente estimulando a los osteoblastos para producir inhibidores de la formación de los osteoclastos.

Debido a esta supresión de la reabsorción ósea, se puede aliviar los síntomas de dolor y de las enfermedades ya mencionadas. La vida media de los bifosfonatos en el torrente sanguíneo es muy corta, oscila entre los 30 minutos y las 2 horas,

pero una vez absorbidos por el tejido óseo, pueden persistir durante más de 10 años en los tejidos esqueléticos.

Los factores de riesgo que se relacionan con las Osteonecrosis causada por bifosfonatos según la SECIB (Sociedad Española de Cirugía Bucal) son básicamente: Los pacientes con mieloma múltiple; aquellos en tratamiento concomitante con cortico esteroides; personas que han tomado bifosfonatos orales durante más de tres años, con un tiempo medio de consumo de 5 ó 6 años (Garcia Chacon, 2010; Carranza y cols., 2000; Ghoneima y cols., 2010).

Esto disminuye los riesgos para el uso de este fármaco en la práctica ortodóncica, ya que es bajo el porcentaje de pacientes que se presentan con estas condiciones y la edad en la cual se plantea su uso en el futuro.

Desde el punto de vista farmacológico, los Bifosfonatos son compuestos que se caracterizan por una baja absorción intestinal (1%-5% de la dosis), pero con una altamente selectiva captación y retención a nivel óseo. Se estima que aproximadamente el 80% es eliminado por el riñón y el 20% captado por el hueso. Su vida media plasmática es de sólo una hora, pero su permanencia, una vez captado por el hueso es de años. Son fármacos que inhiben la resorción ósea y que contienen dos grupos fosfonados unidos a un átomo de carbón, en una estructura «P-C-P» (en lugar de oxígeno, como ocurre en el pirofosfato). (Fleisch y cols., 1998).

Los bifosfonatos son potentes inhibidores de la resorción ósea mediada por osteoclastos, reduciendo su actividad y acelerando su apoptosis (Winter y cols., 2012).

Cuando los osteoclastos acidifican la interface ósea al comienzo de la resorción, el alendronato se libera inactivándolos. Así mismo, se ha demostrado en diversos estudios una disminución en la formación de los osteoclastos y de su ciclo de vida (Hardam y cols., 2013; Kaare y cols., 1964).

Esta condición favorecería dentro del campo de la Ortodoncia dado que se podría usarlo a favor cuando se quiere evitar recidivas de algún tratamiento donde es necesario el anclaje, expansión del maxilar superior, pacientes con tendencia o presencia de reabsorción radicular, entre otros, al usarlos únicamente de forma local y en concentraciones pequeñas (Kim y cols., 1996; De la Iglesia y cols., 2009).

En vista que los osteoclastos se forman en espacios medulares y áreas adyacentes de la superficie ósea interna luego de un período de 20 a 30 horas, por su acción química, estas células eliminan las sustancias orgánicas e inorgánicas del hueso en forma casi simultánea. Por otra parte, hay una tendencia a la reacción excesiva luego de la aplicación de fuerzas ortodónticas; una vez comenzada la resorción ósea, ésta tiende a continuar hasta 10 ó 12 días, aun cuando no se ejerza presión (De Dinatale, 2001).

El tratamiento ideal con bifosfonatos ha probado que reduce la posibilidad de fractura entre 6 y 12 meses, después de haber iniciado la terapia; se ha demostrado que el efecto anti fractura en pruebas con placebo que con un periodo de 3 y 4 años de duración del tratamiento, continúa siendo efectivo.

Sus efectos colaterales son cuestionados por su uso prolongado ya que permanecen en el hueso y son liberados meses o años después de haber terminado el tratamiento (Miller y cols., 2007). Se ha demostrado que los efectos colaterales cuando es administrado vía oral, incluyen irritación esofágica. Escasos

son los casos en los que se ha notado la osteonecrosis mandibular, dolor músculo esquelético y fracturas atípicas. Aun así, para la mayoría de los pacientes con osteoporosis los beneficios del tratamiento, sobrepasan los efectos secundarios que pudieran tener.

El número de eventos secundarios reportados son escasos, pero incluyen la Osteonecrosis mandibular (Graham y cols., 2006; Merigo y cols., 2006; Migliorati y cols., 2005).



MATERIALES Y METODOS



MATERIALES Y METODOS

Universo de estudio.

Ratas Wistar de 8 semana de edad obtenidas en la Unidad de Modelos Biológicos del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ya que éstas tiene un crecimiento y desarrollo similar a los humanos y se han usado anteriormente en numerosos estudios de tipo farmacológico, toxicológico y crecimiento y desarrollo craneofacial.

Además de ser animales dóciles que se adaptan bien a las condiciones climatológicas.

Tamaño de la muestra

La muestra total fueron 12 ratas obtenidas por el Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Dado que se organizó la realización de un estudio piloto para probar un polibifosfonato nunca antes utilizado en el medio bucal y con el que se contaba un volumen total específico.

Forma de asignación de los casos a los grupos de estudio:

- Aleatoria

Características del grupo control y del (los) grupo(s) experimental(es):

Grupo control:

Grupo de 4 de ratas a las cuales no se les aplicó el medicamento (bifosfonato) durante todo el estudio y en el cual se evaluará el grado de extrusión de incisivos centrales superiores e inferiores, causado por el desgaste fisiológico en la

masticación y alimentación después del desgaste provocado con una fresa de diamante.

Grupo(s) experimental(es):

Dos grupos de 4 ratas a las cuales se les aplicó una dosis de bifosfonato llamado ODX (Polibifosfonato) a un grupo y al otro de Zoledronato (Aclasta 5mg, Lab. Novartis) cuando alcanzaron su desarrollo óptimo y se evaluó si presentaron extrusión fisiológica de incisivos superiores e inferiores, debido a las fuerzas de masticación con estos dientes después del desgaste de 1mm, con una fresa de diamante.

Criterios de selección:

Criterios de Inclusión:

Ratas Wistar obtenidas en la Unidad de Modelos Biológicos del Centro de Investigación y Desarrollo de la Salud (CIDICS) de la Universidad Autónoma de Nuevo León de 12 semanas de edad.

Criterios de exclusión:

Ratas que presenten alguna enfermedad.

Ratas que nazcan con algún defecto congénito.

Criterios de eliminación:

Ratas que presenten desnutrición o peso inadecuado.

Descripción de procedimientos:

Para la realización del presente estudio se tomó como población un grupo de 12 Ratas Wistar, a quienes se les realizó el siguiente procedimiento:

1. Alimentar y cuidar a las ratas hasta que alcancen un peso ideal de 250 a 300 gramos y que tengan 8 semanas de edad, que es cuando está por terminar su crecimiento y desarrollo.
Todos los días se les dará 20 gramos de alimento, agua y se les limpiará el área donde estén acomodadas.
2. Se separaron en 3 grupos aleatoriamente, uno control en el cual sólo se observará el desgaste fisiológico de incisivos, durante un tiempo determinado y dos experimentales, a los cuales se les aplicará un bifosfonato llamado ODX a dos diferentes concentraciones, para evitar la erupción provocada por el desgaste fisiológico provocado en el proceso de masticación de las ratas y proveer anclaje farmacológico en esta zona.

Los dientes que caracterizan a los roedores son 4 incisivos de gran tamaño, que ya habían quedado reducidos a sólo un par en cada maxilar en los roedores más primitivos conocidos. Estos incisivos no tienen raíces o, si tienen, son pequeñas y abiertas. También presentan una pulpa dental abierta hasta el alvéolo dentario. Los incisivos crecen continuamente durante toda la vida. Los roedores mantienen el tamaño constante royendo alimentos duros u otros objetos, y gracias al rozamiento de estos dientes con los otros.

El ritmo de crecimiento de los incisivos va de entre 2 y 3 milímetros por semana en las especies no excavadoras y, hasta 5 milímetros por semana, en los geómidos que excavan con los dientes. En las especies que hibernan, el ritmo de crecimiento de los dientes se ralentiza durante la hibernación. El 30-60% anterior de los incisivos está cubierto de esmalte, de manera que, a pesar

del rápido desgaste de la sustancia más blanda que encuentra detrás, siempre permanece una zona afilada en forma de cincel. Los incisivos suelen estar torcidos; los del maxilar superior más que los del inferior.

Si el desgaste de los incisivos no es suficiente, estos continúan creciendo y pueden penetrar dentro de una parte del cráneo. Los incisivos inferiores crecen hacia arriba y hacia fuera de la cavidad bucal, y se convierten en completamente inutilizables. Los incisivos superiores, sin embargo, se tuercen el uno alrededor del otro y pueden crecer en espiral hacia fuera de la cavidad bucal; también es posible que salgan de la cavidad bucal, creciendo hacia abajo y formen una especie de gancho por debajo del maxilar inferior, impidiendo que el animal pueda abrir el hocico. Cuando esto pasa, el animal acaba muriendo, pero algunos roedores salvajes han conseguido sobrevivir bastante tiempo con este problema (Whethide y cols., 2004; Carleton y cols., 2005)

3. Se colocaron en jaulas colectivas para ratas, identificándolas con colores para diferenciar de forma adecuada cada uno de los grupos.
4. Anestesia general para la aplicación del bifosfonato (ODX) de larga duración al grupo experimental, con la ayuda de un médico veterinario zootecnista y las condiciones adecuadas.

Para trabajar con los animales *in vivo* es necesario el uso de anestésicos para sedarlos. Estos son los más comunes:

- **Derivados de los opiáceos:** producen poca relajación muscular (ejemplos: fentanil, sulfentanil, bupremorfina).

- **Benzodiacepinas:** sí que producen relajación muscular (ejemplos: diazepam, midazolán).
- **Ketamina:** produce poca relajación muscular y tiene un efecto analgésico.
- **Atropina:** es una inhibidora competitiva de la acetilcolina (neurotransmisor). No es anestésico, pero disminuye la salivación y la secreción bronquial que producen algunos anestésicos, protegiendo así mismo al corazón de la inhibición vagal que producen otros anestésicos y que desembocaría en una bradicardia (disminución del ritmo de los latidos del corazón).

Anestésicos inyectables:

Estas son los anestésicos o **combinaciones más usuales.**

- **Derivados de los opiáceos más benzodiacepinas:** tienen efecto durante 15-20 minutos.
- **Ketamina más benzodiacepinas y atropina:** el efecto se alarga hasta los 30 minutos.
- **Pentobarbital:** las dosis suministradas son de entre 20 y 60 miligramos por kilo, pero pueden producir una depresión respiratoria en el animal, así que debe administrarse con mucho cuidado.

La cual fue escogida para utilizarse en este estudio debido a su rápida acción y duración media para nuestra muestra.

- **Uretano:** es una anestesia estable durante períodos muy largos de tiempo. Disminuye la posibilidad de que haya una depresión respiratoria y del sistema cardiovascular, pero desgraciadamente es carcinógena y el animal debe ser sacrificado después de su uso, al producir daños irreversibles en el cerebro.
- **Cloraloja:** sedante hipnótico.

Anestésicos inhalables:

Para administrarlos es **necesaria una cámara anestésica**, en la que se mantiene una concentración modulable de anestesia mediante una mascarilla. Los anestésicos más usados con este método son los metileterhalogenados, como el halotano, el isoflurano o el enflurano.

Vías de administración

Las descritas a continuación son las **vías de administración – para los fármacos** - más comunes, sobre todo cuando se realizan experimentos con roedores:

- **Intravenosa:** se inyecta en la cola del roedor. Es necesario provocar vasodilatación, por lo que se moja la cola en etanol o bien, se sumerge la aguja con la que se administra el fármaco en agua a 40°C.
- **Intraperitoneal:** Se mantiene la cabeza del animal hacia abajo. Se usa una aguja de calibre corto y la punción, se hace en la parte caudal izquierda del abdomen.
- **Intramuscular:** en el bíceps femoral o en el glúteo. La aguja debe ser de poco calibre y para cerciorarse de que el fármaco se ha inyectado correctamente, se suele aspirar una pequeña cantidad después de la inyección.

En particular esta fue la más indicada para esta investigación por recomendaciones del encargado del área de modelos biológicos del CIDICS U.A.N.L

- **Subcutánea:** se estira la piel de la parte posterior del cuello y se inyecta allí el medicamento, formando un edema, que irá desapareciendo conforme el cuerpo absorba el fármaco.
- **Intragástrica:** muy usada para administrar suspensiones.

5. Analizar periódicamente a ambos grupos tomando radiografías de cabeza, con una radiografía dental Kodak de 57 X 76 mm por un tiempo de exposición de 5 segundos, además de radiografías digitales con un radiovisiografo (Owandy Opteo one) los días 0, 31 y 62 (tiempo I, II y III respectivamente). Para realizar trazado cefalométrico, evaluar movimientos dentales y estado de hueso.

En cada tiempo se midió clínicamente la longitud del incisivo inferior izquierdo, así como la distancia del borde incisal al punto identificador con un vernier.

Con base al estudio de Barret y Harris en 1993 (Ulgen y cols., 1997) se hará la siguiente cefalometría:

PUNTOS CEFALOMÉTRICOS

- Oc. Occipital

- A. Punto A

- VA. Punto más superior y anterior de la superficie craneal.

VT. (Vertex). Punto más superior y posterior de la superficie craneal.

MMxM. Intersección de la cresta alveolar maxilar y la superficie mesial del primer molar maxilar.

DMxM. Intersección de la cresta alveolar maxilar y la superficie distal del tercer molar maxilar

MMxM. Intersección de la cresta alveolar maxilar y la superficie mesial del primer molar maxilar.

DMxM. Intersección de la cresta alveolar maxilar y la superficie distal del tercer molar maxilar.

- MMnM. Intersección de la cresta alveolar mandibular y la superficie mesial del primer molar mandibular.

DMnM. intersección de (a cresta alveolar mandibular y la superficie distal del tercer molar mandibular.

Go. Gonion

- Co. Condilion

MR. Punto más inferior del cuerpo mandibular en la región del borde del masetero.

Cr. Punto más superior de la apófisis coronoides de la mandíbula.

Id. Incisivos inferiores.

MEDIDAS ANGULARES Y LINEALES.

- 1.- Ángulo formado por los puntos Oc-A-Id. (Altura Facial Anterior)
- 2.- Ángulo interineisal.
- 3.- Ángulo formado por los puntos VA-Oc-MR. (Altura Facial Posterior)
- 4.-Distancia en milímetros de Go-Id. (Longitud mandibular)
- 5.-Distancia en milímetros DMnM-MMnM. (Longitud molar)
- 6.-Distancia en milímetros MMnM-Id. (Longitud mandibular anterior)
- 7.-Distancia en milímetros Cr-MR. (Altura de la rama)
- 8.-Extrusión del incisivo inferior.
- 9.- Ángulo formado por los puntos Oc-A-Plano mandibular
- 10.- Ángulo formado por los puntos Oc-A-Plano oclusal

11.-I M P A

Medidas en cráneo seco:

PUNTOS ANTROPOMÉTRICOS CRANEALES

- 1.- Internasal: Punto más anterior de la sutura internasal en el plano medio sagital.
- 2.- Nasofrontal: Intersección de la sutura nasofrontal y la sutura internasal en el plano medio sagital.
- 3.- Nasal Sagital: Se traza una perpendicular en el punto medio de la línea de unión que une a los puntos 1 y 2. El punto nasal es la intersección entre esta perpendicular y la línea lateral externa en el hueso nasal derecho e izquierdo.
- 4.- Orbital: Punto más inferior y externo de la órbita.
- 5.- Zygion: Punto más externo de la sutura temporocigomática en el arco cigomático.
- 6.- Frontoparietal: Intersección de la sutura frontoparietal y de la sutura interparietal del plano.
- 7.- Escama del Temporal: Punto más distante de la escama temporal del plano mediosagital
- 8.- Occipital: Punto más posterior y extremo de la escama del occipital
- 9.- Timpánico: Punto más inferior del proceso timpánico
- 10.- Punto Nasomaxilar: Punto más anterior de la sutura nasomaxilar derecha e izquierda.

PUNTOS ANTROPOMÉTRICOS MAXILARES

- 1.- Alvéolo del Incisivo Superior: Punto más superior del margen del hueso alveolar vestibular del incisivo central superior.
- 2.- Prosteon: Punto más inferior y anterior del hueso alveolar entre los 2 incisivos
- 3.- Incisivo Superior: Punto más prominente del borde incisal del incisivo superior.
- 4.- Punto de la cúspide mesiobucal del molar superior Punto más prominente de la cúspide mesiobucal del primer molar superior.
- 5.- Punto MX: Punto más inferior del proceso zigomático de la maxila
- 6.- Punto Fosa central del Molar Superior: Punto medio en la fosa central del primer molar superior
- 7.- FIP: Punto más posterior del foramen incisivo
- 8.- PNS: Espina nasal Posterior

PUNTOS ANTROPOMÉTRICOS MANDIBULARES

- 1.- Incisivo Inferior: Punto más prominente del borde incisal del incisivo inferior
- 2.- Infradental (ID): Punto más superior y anterior de la cresta mandibular entre los dos incisivos inferiores.
- 3.- Incisivo Inferior Alveolar (I1A): Punto más inferior sobre el hueso alveolar vestibular del incisivo central inferior.
- 4.- Mentón (ME): Punto más inferior de la sínfisis Mandibular
- 5.- Alveolar Mandibular (MA): Punto más profundo en la parte superior de la cresta alveolar mandibular entre el incisivo inferior y el 1er molar inferior.

- 6.- Punto de la Cúspide Mesiobucal del Molar Inferior: Punto más prominente de la cúspide mesiobucal del primer molar inferior.
- 7.- Fosa central del Molar Inferior: Punto medio en la fosa central del 1er molar inferior.
- 8.- Coronoides: Punto más superior del proceso coronoides de la mandíbula.
- 9.- Condilion: Punto más posterior y superior del cóndilo mandibular
- 10.- Gonion (GO): Punto más posterior sobre el contorno del hueso del ángulo goniaco de la mandíbula.
- 11.- Punto Gonion Tangencial: Asumiendo que la mandíbula está colocada sobre un plano; el punto de gonion mandibular es su unión con este plano.

VARIABLES EN CRÁNEO SECO

MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

1.- Medidas Craneales Sagitales

Longitud Esquelética Total: Distancia entre el punto occipital y el punto nasal

2.- Medidas Craneales Verticales

- Altura Esquelética Máxima: Distancia entre el punto frontoparietal y el punto timpánico. Tomando el promedio entre la altura derecha e izquierda.

- Altura Facial Anterosuperion Distancia entre el punto nasomaxilar y el prostion. Tomando el promedio entre derecha e izquierda

Altura Facial Anteroinferior: Distancia entre prostion e infradental

- Altura Facial Anterior Total: Distancia entre el punto nasomaxilar y el punto infradental tomando en promedio entre derecha e izquierda

MEDIDAS ESQUELÉTICAS MAXILARES SAGITALES

1.- PNS-PR (Longitud Maxilar Total): Distancia entre PNS y Prosthion

2.- PNS-FIP (Longitud Posterior del Maxilar): Distancia entre PNS y el punto posterior del foramen incisivo

MEDIDAS DENTALES

1.- Distancia Bimolar Superior: Distancia entre la fosa central de los primeros molares superiores derecho e izquierdo

2. Altura de la Corona del Incisivo Superior: Distancia entre el punto del Incisivo Superior y el Punto ISA. Tomando un promedio la altura derecha e izquierda.

3.- Altura del Molar Superior: Distancia entre el Punto MX y la cúspide mesiobucal del primer molar superior. Tomando un promedio entre derecha e izquierda.

MEDIDAS MANDIBULARES SAGITALES

1.- Id-Cond (Longitud Mandibular Total I): Distancia entre el punto infradental y los condilios. Tomando un promedio entre el derecho y el izquierdo.

2.- Id-Cor (Longitud Total Mandibular II): Distancia entre el punto Infradental y el punto coronoides. Tomando un promedio entre el derecho y el izquierdo.

3.- Id-Go (Longitud del Cuerpo): Distancia entre el punto infradental y el punto Gonion.

Tomando un promedio entre la longitud derecha e izquierda.

MEDIDAS MANDIBULARES VERTICALES

1.- COND-GoT (Altura de la Rama I): Distancia entre el punto condilion y el punto

GoT. Tomando un promedio entre la altura derecha e izquierda.

2.- COR-GoT (Altura de la Rama II): Distancia entre el punto coronoides y el punto Go

T. Tomando un promedio entre la altura derecho y la izquierda.

3.- Me-Ma (Altura del Cuerpo): Distancia entre el punto Me y el Punto M a Tomando un promedio entre el derecho y el izquierdo.

MEDIDAS DENTALES

1.- Distancia Bimolar Inferior.- Distancia entre la fosa central del primer molar inferior derecho e izquierdo

2.- Altura Coronal del Incisivo Inferior: Distancia entre el punto del incisivo inferior y el punto lia. Tomando un promedio entre la altura derecha e izquierda.

3.- Altura Molar Inferior: Distancia entre el punto Me y el punto de la cúspide mesiobucal del primer molar inferior, tomando un promedio entre la altura derecha e izquierda.

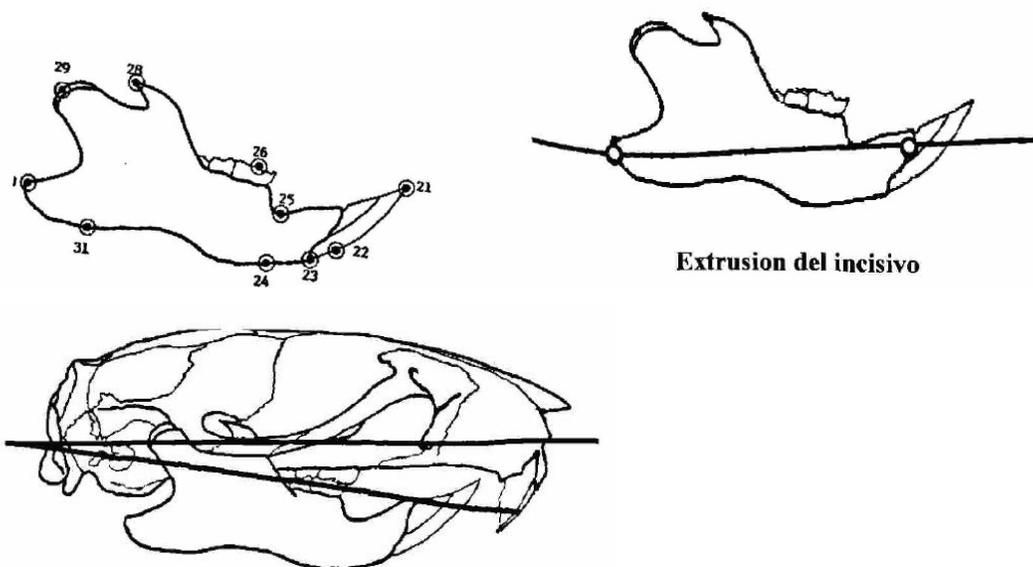


Figura 2.- Puntos craneométricos y medidas utilizadas para medir la extrusión de incisivos en ratas.

6. Al cabo de 3 meses se sacrificarán las ratas.

7. Obtención de cortes histológicos de mandíbula, hígado y riñón.

A nivel laboratorio:

Las ratas se dividieron en 3 grupos:

I.- Grupo control al cual no se le administró ningún medicamento

II.- Grupo al que se le colocó Zoledronato 3 veces por semana durante 30 días

III.- Grupo al que se le colocó ODX 3 veces por semana durante 30 días

La dosis de medicamento administrada a cada rata fue obtenida dependiendo del peso de cada una de ellas y la cantidad en volumen del medicamento. Así como también se calculó la dosis adecuada de anestésico y/o relajante muscular según el tipo de procedimiento que se realizó en las diferentes etapas de la fase experimental.

Dichos cálculos se muestran en la tabla 1 en la sección de Anexos.

Toma de radiografías

Radiografías laterales de cráneo completas y del área dental en cuestión se tomaron en 4 tiempos con una rayos X digital (Genoray Port-X-II Ezx-60) y un sensor radiovisiógrafo digital (Opteo one).

Tiempo 0: Antes de realizar las aplicaciones medicamentosas

Tiempo I: A los 30 días después de la aplicación de bifosfonatos y del desgaste de 1 mm de los dientes centrales inferiores y superiores en todos los grupos.

Tiempo II: 45 días después del desgaste dental (1mm)

Tiempo III: 90 días después del desgaste dental (1mm)

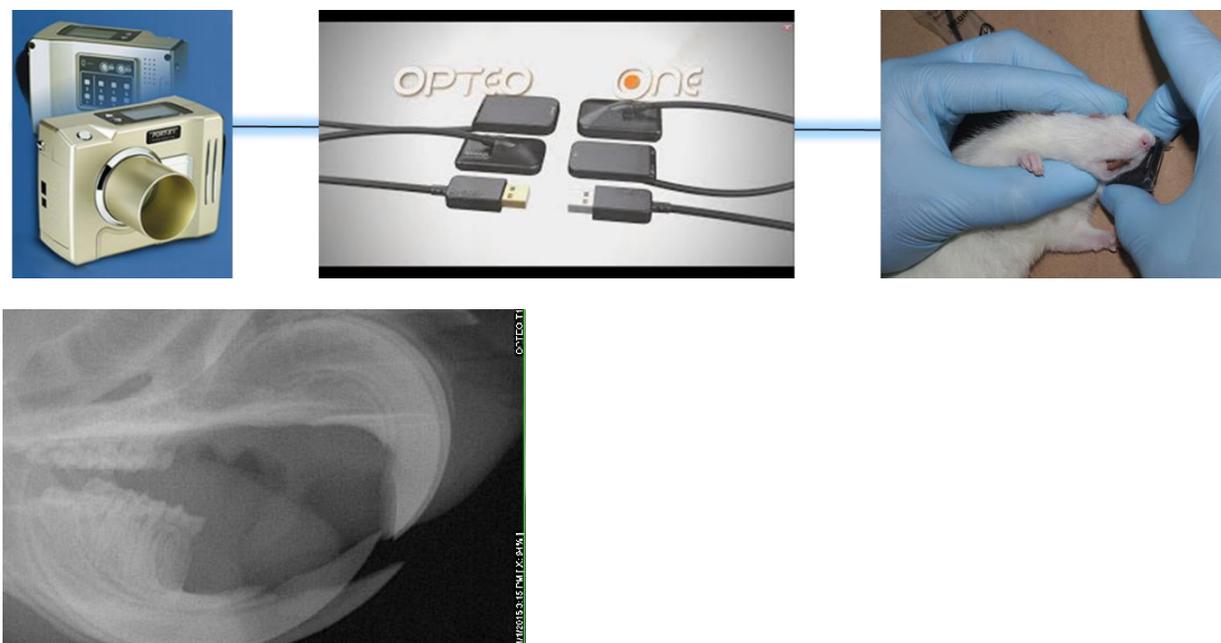


Figura 3.- Toma de radiografías digitales con rayos “X” portátil y radiovisiógrafo.

Técnica de aplicación de los Bifosfonatos

- 1.- Se aplicaba (Dosis) de Xilacina (Relajante muscular) a las ratas para facilitar la manipulación de éstas al colocar el bifosfonato de manera inyectada.
- 2.- Con la ayuda del veterinario encargado del cuidado de las ratas se sostenía a las ratas de manera individual para que el operador inyectara el medicamento con una jeringa de 1ml en la mucosa gingival, situada entre los dos centrales inferiores según la dosis específica para cada grupo.

1	Peso de rata	Zoledronato	Volumen	Odex	Volumen		Control volumen	Pentobarbital	Xyla
2	204.52	0.01	0.040904	2.5	0.020452		0 0.04 ml	0.142839365	0.20452
3	298.24	0.01	0.059648	2.5	0.029824		1 0.04 ml	0.208294603	0.29824
4	224.1	0.01	0.04482	2.5	0.02241		0 0.04 ml	0.156514286	0.2241
5	230.74	0.01	0.046148	2.5	0.023074		1 0.04 ml	0.161151746	0.23074
6	243.78	0.01	0.048756	2.5	0.024378		0 0.04 ml	0.170259048	0.24378
7	258.77	0.01	0.051754	2.5	0.025877		1 0.04 ml	0.180728254	0.25877
8	224.83	0.01	0.044966	2.5	0.022483		0 0.04 ml	0.157024127	0.22483
9	243.8	0.01	0.04876	2.5	0.02438		1 0.04 ml	0.170273016	0.2438
10	198.24	0.01	0.039648	2.5	0.019824 *		0.04 ml	0.138453333	0.19824
11	222.58	0.01	0.044516	2.5	0.022258		0 0.04 ml	0.155452698	0.22258
12	271.46	0.01	0.054292	2.5	0.027146		1 0.04 ml	0.189591111	0.27146
13	229.98	0.01	0.045996	2.5	0.022998		0 0.04 ml	0.160620952	0.22998
14	267.53	0.01	0.053506	2.5	0.026753		1 0.04 ml	0.186846349	0.26753

Tabla 1.- Calculo de dosis aplicada a los grupos experimentales de medicamentos y anestésicos.



Figura 4.- Medición de la longitud total del incisivo inferior con vernier.

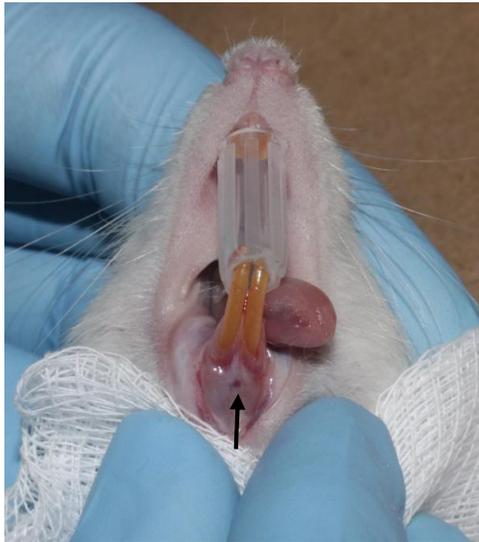


Figura 5.- Área de punción.



Figura 6.- colocación del medicamento.

Desgaste de incisivos superiores e inferiores y colocación de punto identificador de resina

Para realizar el desgaste dental y la colocación de una obturación de resina en uno de los dientes de todas las ratas del estudio se utilizó el siguiente material:

Guantes (Blossom)

Turbina marca Dremel (Modelo 300) con fresa de diamante para el desgaste de 1mm

2 fresas de diamante (Troncocónica de extremo redondeado y bola #1)

Vernier

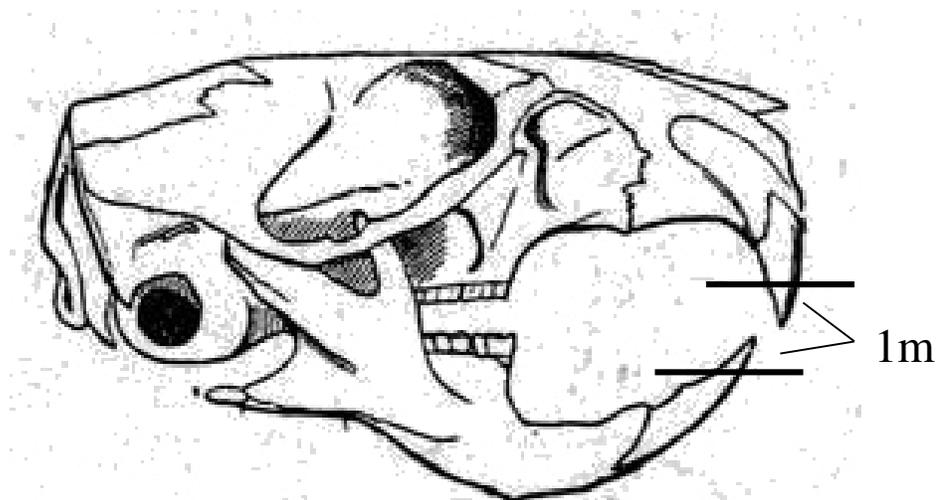
Marcador (Sharpie)

Acido grabador, adhesivo y resina para colocar el punto de resina en los dientes

Radiografías oclusales para tomar radiografías laterales de cráneo a cada rata

1.- Se procedió a anestésiar de manera general y a identificar a cada grupo de ratas

2.- Con la ayuda del marcador indeleble se pintó 1mm de la parte más superior de cada incisivo de las ratas para desgastarlo con la turbina eléctrica (Dremel 300); al hacer este procedimiento se coincidió en que la punta activa del marcador al utilizarse en los dientes media 1mm exactamente.



Desgaste incisal de 1mm en cada diente

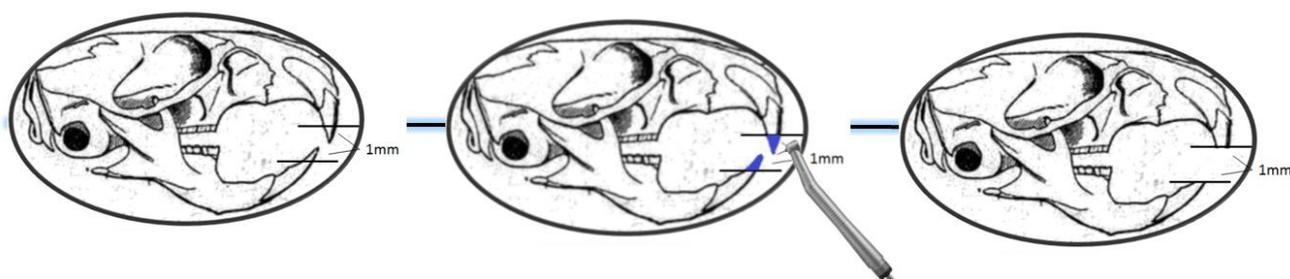


Figura 7.- Esquema para realizar el desgaste dentario en cada animal.

3.- Colocación del punto de resina identificador:

Con el objetivo de tener una guía de visualizar la extrusión de los incisivos, tanto clínica como radiográficamente, se colocó un punto de resina identificador de color azul a una distancia de 7 mm del borde superior en el incisivo inferior izquierdo a cada rata de todos los grupos.

En primer lugar se midió la distancia antes mencionada y se marcó un punto guía, para posteriormente realizar una cavidad la cual se acondicionó con ácido grabador 10 segundos según las especificaciones del fabricante (Transbond™ Plus Self Etching Primer) y fue fotocurado 10 segundos.

4.- Finalmente se obturó la cavidad con resina de color azul 20 segundos. Este punto identificador permitió ser visualizado en las mediciones clínicas y

radiográficas al verse la muesca hecha en la cavidad en la radiografía, que fue tomada al final de este procedimiento de manera individual a cada rata con el equipo antes mencionado.

5.- Radiografía final del tiempo II con los desgastes de incisivos y resina colocada, fueron tomadas a cada una de las ratas. Nótese la muesca radiolúcida en la parte vestibular del incisivo inferior la cual corresponde a la cavidad hecha para colocar la resina.

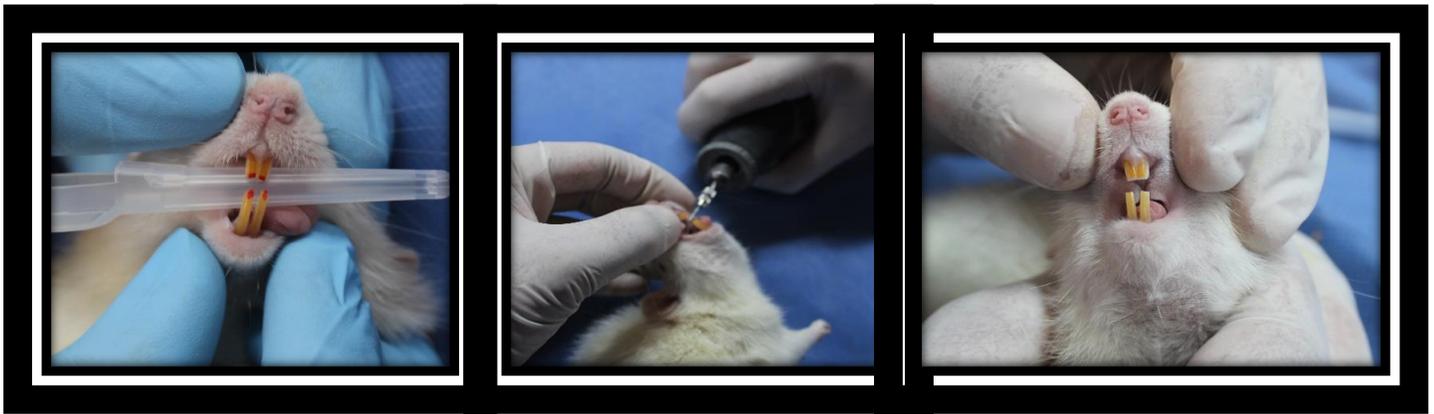


Figura 8.- Protocolo de desgaste en todos los grupos. Se colocaba una marca de 1 mm y se procedió al desgaste.



Figura 9.- Material utilizados para desgaste y colocación de punto identificador de resina.



Figura 10.- Organización de los grupos para para cada procedimiento.



Figura 11.- Colocación de punto identificador de resina a 7mm gingival al borde incisal ya desgastado.

Toma de radiografías finales

Se procedió a tomar las radiografías finales de las ratas de los grupos de la misma manera antes descrita. Previo a la toma de las radiografías se anestesió por completo a las ratas con la dosis adecuada de Pentobarbital. Posterior a la última toma radiográfica se programó el procedimiento de eutanasia de los animales para disecar mandíbula y órganos para su estudio histopatológico.

RESULTADOS

RESULTADOS

Clínicos

Las mediciones clínicas de la longitud total del incisivo inferior se realizaron con un vernier calibrado en milímetros en los 4 diferentes tiempos antes mencionados.

Se demostró que la aplicación de bifosfonatos no detuvo el crecimiento del incisivo inferior. El cual se recuperó hacia la longitud inicial 1 semana después del desgaste de 1mm que se realizó a los 30 de iniciar la fase experimental y el día que se dejó de aplicar el medicamento. El punto identificador que se colocó a 7mm apical del borde incisal desgastado, sufrió desplazamiento incisal conforme los días y cerca de los 15 días posterior a su colocación se encontraba en el borde incisal o ya perdido. Lo que demuestra de igual manera que no se detuvo el crecimiento dental en los grupos experimentales.

Rata	Longitud Inicial Incisivo inferior Izquierdo inicial
Control 1	9mm
Control 2	10mm
Control 3	9mm
Control 4	9.4mm
ODX 1	9.5mm
ODX 2	10mm
ODX 3	9mm
ODX 4	9.8mm
Zoledronato 1	8.8mm
Zoledronato 2	10mm
Zoledronato 3	10mm
Zoledronato 4	9mm

Tabla 2.- Longitud inicial clínica del incisivo inferior izquierdo de cada rata.

Rata	Medida inicial de extrusión del incisivo	Extrusión del incisivo al momento del desgaste	Extrusión del incisivo 1 semana post desgaste
Control 1	4.5mm	3.5mm	RIP
Control 2	3.5mm	2.5mm	RIP
Control 3	3.5mm	2.5mm	4.5mm
Control 4	4.5mm	3.5mm	RIP
ODX 1	5mm	4mm	4mm
ODX 2	4mm	3mm	No se tomo
ODX 3	4mm	3mm	RIP
ODX 4	4mm	3mm	RIP
Zoledronato 1	4mm	3mm	4mm
Zoledronato 2	4mm	3mm	RIP
Zoledronato 3	4.5mm	3.5mm	(No se tomó)
Zoledronato 4	3.5mm	2.5mm	RIP

Tabla 3.- Medidas de extrusión del incisivo de manera análoga en radiografías oclusales.

Rata	Altura del incisivo inferior inicial	Altura del incisivo inferior al momento del desgaste	Altura del incisivo 1 semana post-desgaste
Control 1	12mm	11mm	RIP
Control 2	12.5mm	11.5mm	RIP
Control 3	12.5mm	11.5mm	
Control 4	12.5mm	11.5mm	RIP
ODX 1	12mm	11mm	12.5mm
ODX 2	13mm	12mm	No se tomo
ODX 3	12mm	11mm	RIP
ODX 4	12mm	11mm	RIP
Zoledronato 1	13mm	12mm	13mm
Zoledronato 2	12mm	11mm	RIP
Zoledronato 3	12mm	11mm	(No se tomó)
Zoledronato 4	13.5mm	12.5mm	RIP

Tabla 4.- Comparación de extrusión clínica del incisivo inferior.

Radiográficos

El trazado cefalométrico de las radiografías para evaluar la extrusión de incisivos inferiores se realizó de dos maneras:

- Radiografías laterales de cráneo convencionales (Análogas)
- Radiografías laterales de cráneo digitales

Se determinó al evaluar las mediciones de ambos métodos, que la aplicación de bifosfonatos durante 1 mes cada tercer día a los grupos experimentales no detuvo el crecimiento de los incisivos, al ser rebajados de manera vertical a los 30 días de la aplicación inicial, ya que los dientes de los roedores al estar en un ámbito constante de desgaste, al alimentarse tienden a crecer y regenerarse. No hay un desplazamiento eruptivo. Dado que esa es la característica especial de estos incisivos.

Histológicos

Posterior a la fase experimental del estudio se procedió a terminar con la vida de las ratas existentes del estudio, con una sobredosis de Pentobarbital para obtener las cabezas de cada una de ellas, los riñones e hígado.

Se obtuvieron las laminillas de los cortes histológicos de zona anterior de mandíbula, riñón e hígado (éstos últimos solo de los dos grupos experimentales). Como complementarios también se obtuvieron de cortes de cabeza de rata en sentido anteroposterior y transversal de algunas de ellas, para observar a grandes rasgos cambios en macizo facial y cráneo.



Figura 12. Proceso para realizar cortes histológicos

Hallazgos histológicos en el grupo control:

Se encontró un hueso sano, con bastante celularidad constituida por osteocitos, bien vascularizado y medula ósea con aspecto normal.

Así también se obtuvieron zonas de osteoblastos en la región externa e interna de la medula ósea con aspecto normal.

Hallazgos histológicos en el grupo Zoledronato:

A nivel óseo se encontró un hueso hipermineralizado con áreas de escasa o nula celularidad (osteocitos), aposición ósea irregular.

Se percibieron zonas importantes de extravasación en el tejido conectivo cercano a hueso, medula ósea ocupada por extravasación.

En cuanto a la pulpa dental, ésta se registró dilatada y con áreas hemorrágicas.

En hígado se manifestó gran congestión vascular, vasodilatación además de extravasación entre los hepatocitos, la célula funcional del hígado.

En riñón se observaron áreas de gran y moderada vasodilatación y congestión vascular, así como zonas de poca extravasación entre las células del tejido renal.

También se registraron zonas de extravasación, vasodilatación y congestión en cortes histológicos transversales, coronales y sagitales de cabeza, como en cerebro, tejido blando de mucosa nasal y músculo.

Esto indica que el Zoledronato aplicado en periodos cortos en el área subyacente al área de trabajo, provoco daño en órganos de tipo hemorrágico, así como un hueso en el área de la punción acelular. Solo se presentó una característica positiva a destacar, el hueso hipermineralizado, que puede ser una característica favorable en el tema de retención post-tratamiento ortodóncico.

Hallazgos histológicos en el grupo ODX:

A nivel óseo se encontró una disminución mínima de osteocitos, un hueso más mineralizado, presencia de osteoblastos en el periostio y algunas células osteoprogenitoras. Se observaron zonas de transición de hueso normal a zonas de poca celularidad, así como escasa vascularidad.

Los cortes de hígado mostraron organización de hepatocitos normal con moderada vascularidad. Algunos de los cortes mostraron zonas de congestión y extravasación moderada.

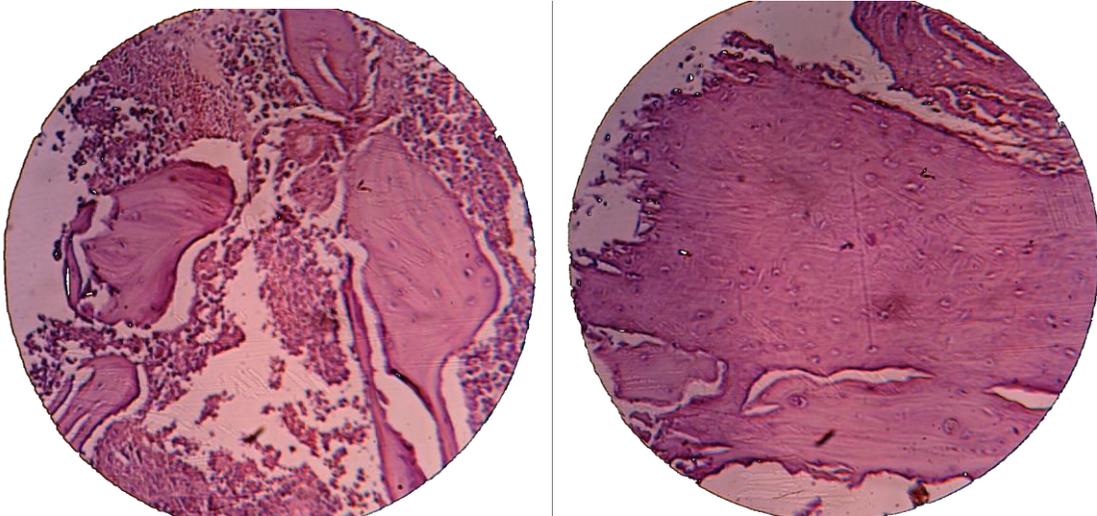
A nivel renal se puede destacar zonas de vasodilatación y congestión moderada, sólo en algunos cortes.

El corte histológico en sentido sagital mostró congestión y vasodilatación en la pulpa dental y mucosa nasal.

Estos hallazgos indican que la dosis aplicada de ODX fue más noble con los tejidos en comparación con el ácido Zoledrónico.

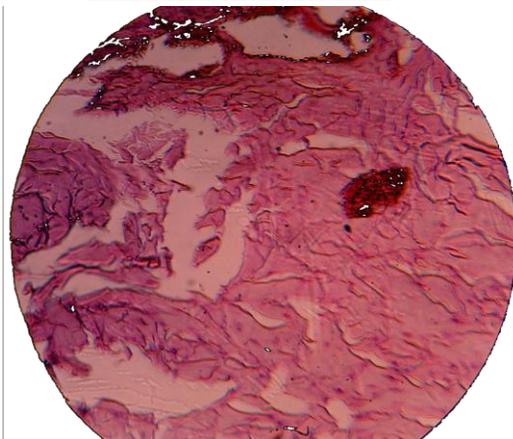
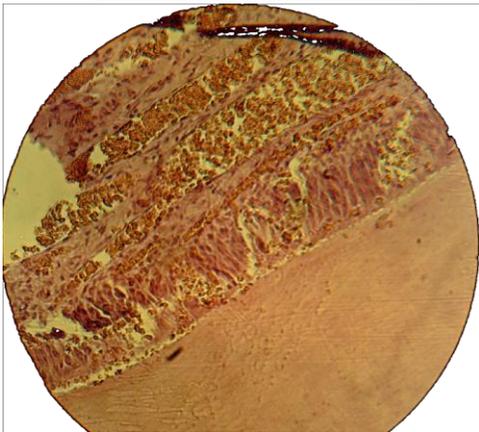
Cortes Histológicos

Casos controles:

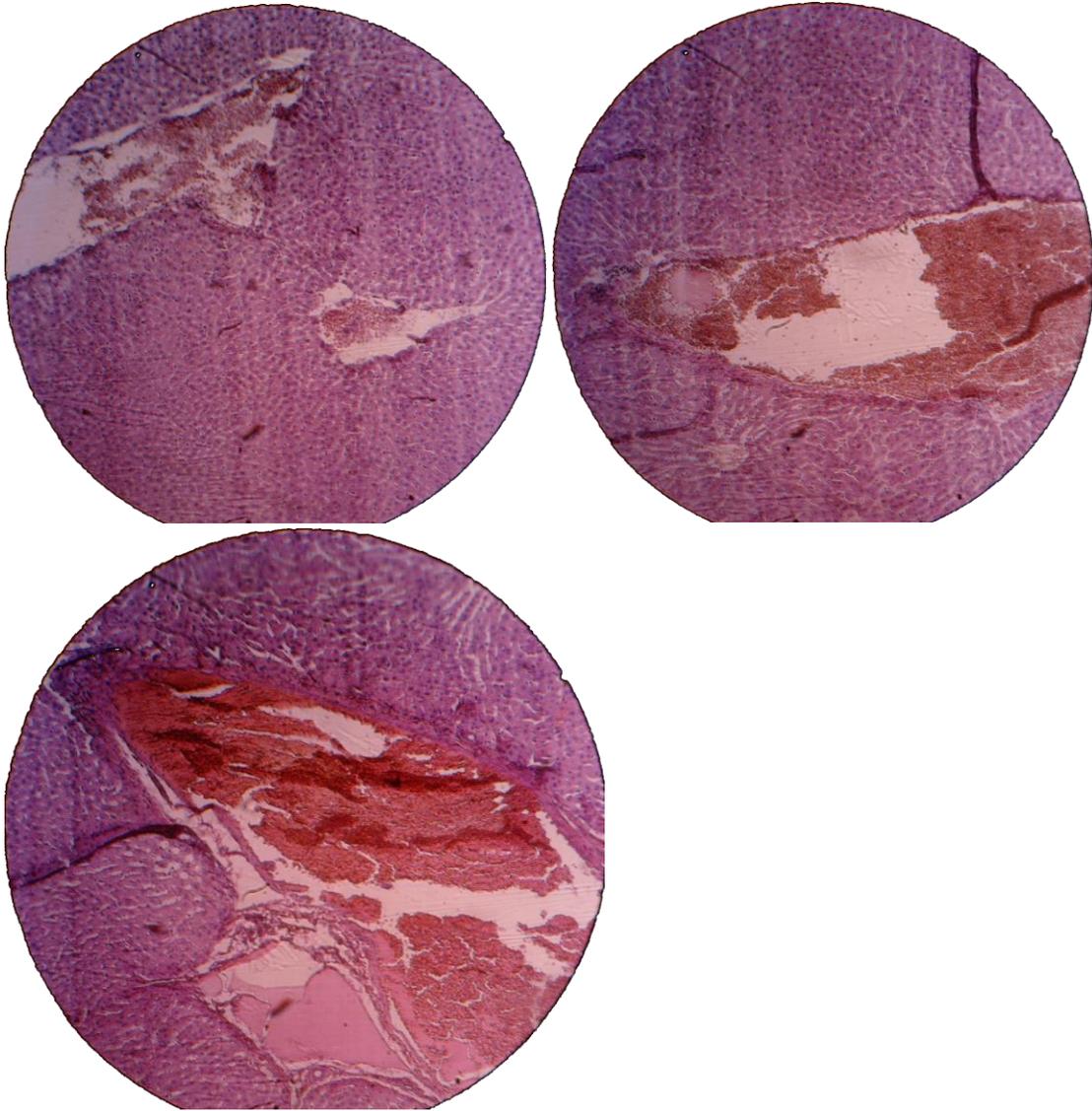


Cortes histológicos de mandíbula donde se observa hueso con características normales y celularidad adecuada.

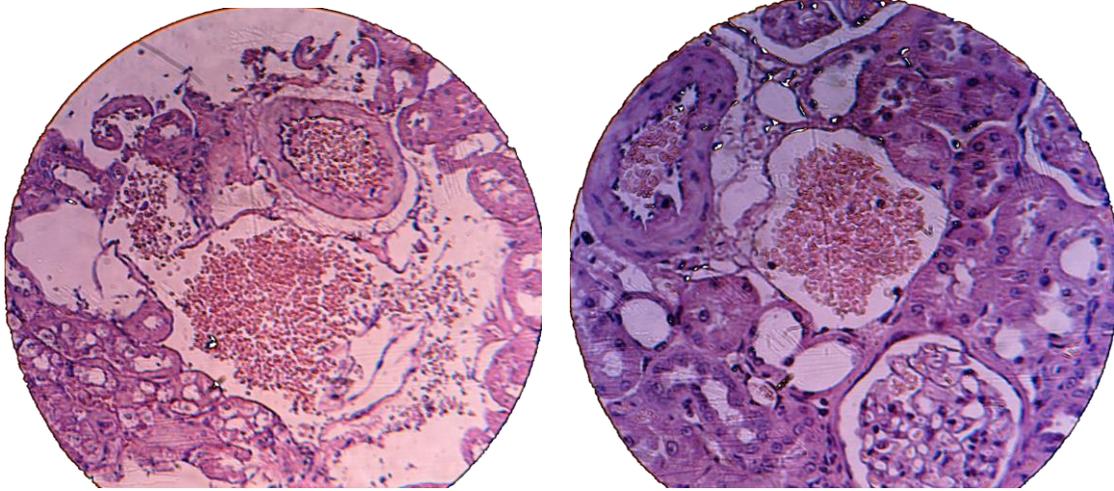
Casos donde se aplicó Zoledronato



**Cortes histológicos de mandíbula donde observamos hueso cortical casi en su totalidad acelular, cerca de comenzar una necrosis debido a la falta de nutrientes.

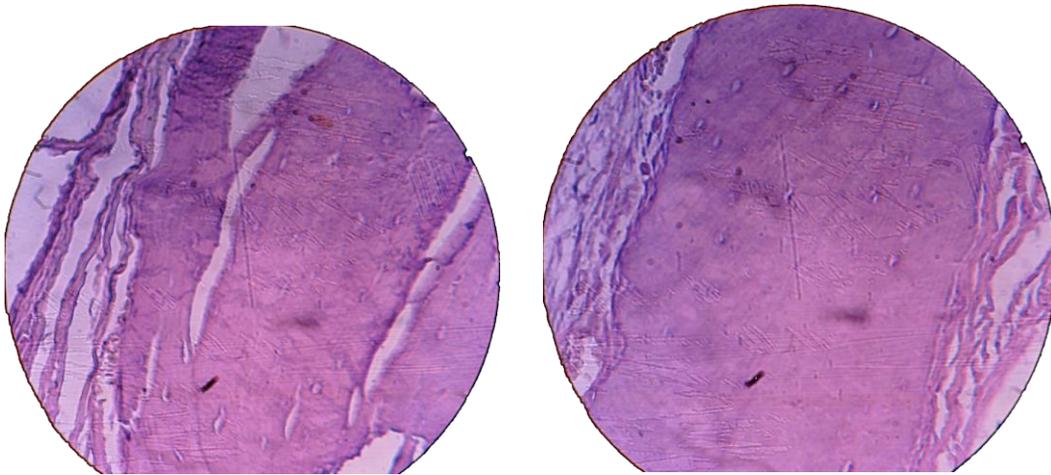


Cortes histológicos de Hígado donde se observa zonas importantes de extravasación sanguínea (Derrames) en diferentes zonas del órgano

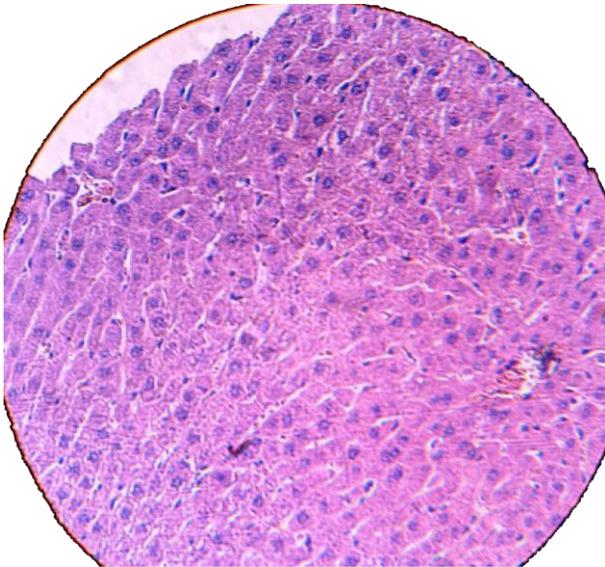


Cortes histológicos de Riñón donde se observa zonas de extravasación (derrames) sanguínea en diferentes zonas del órgano.

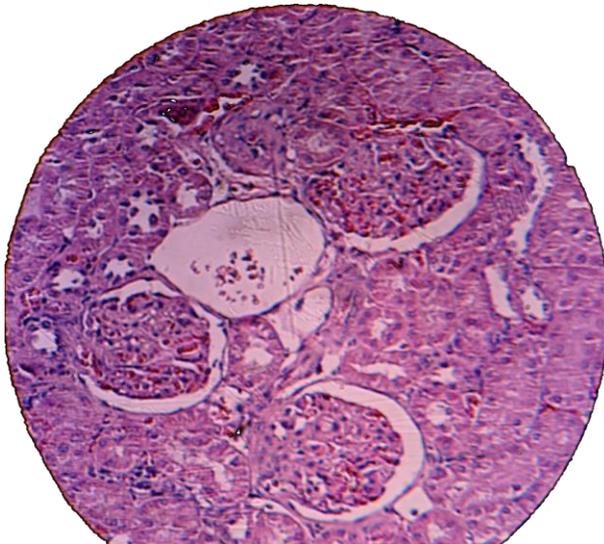
Casos donde se aplicó ODX:



**Cortes histológicos de Mandíbula donde se aplicó ODX en los cuales se observa una disminución de la cantidad de células normales en el hueso (osteocitos).



Corte de Hígado donde se observa una distribución normal.



Cortes histológico de riñón donde se observa tejido normal, corpúsculos glomerulares con ligera extravasación sanguínea.

Estadísticos

Para realizar la estadística de esta investigación se utilizó el programa SPSS (Statistical Package for the Social Science) versión 20.

Al analizar los resultados de las muestras clínicas y radiográficas en las cuales se midió clínicamente la altura del incisivo inferior en los tiempos 0 (al inicio del estudio y antes de colocar los medicamentos en los grupos experimentales), tiempo 1 (a los 30 días de haber colocado el medicamento cada tercer día y cuando se realizó el desgaste incisal de 1mm), tiempo 2 (7 días después del desgaste incisal, es decir a los 37 días), y al tiempo 3 (15 días posteriores al desgaste incisal, es decir al día 44)

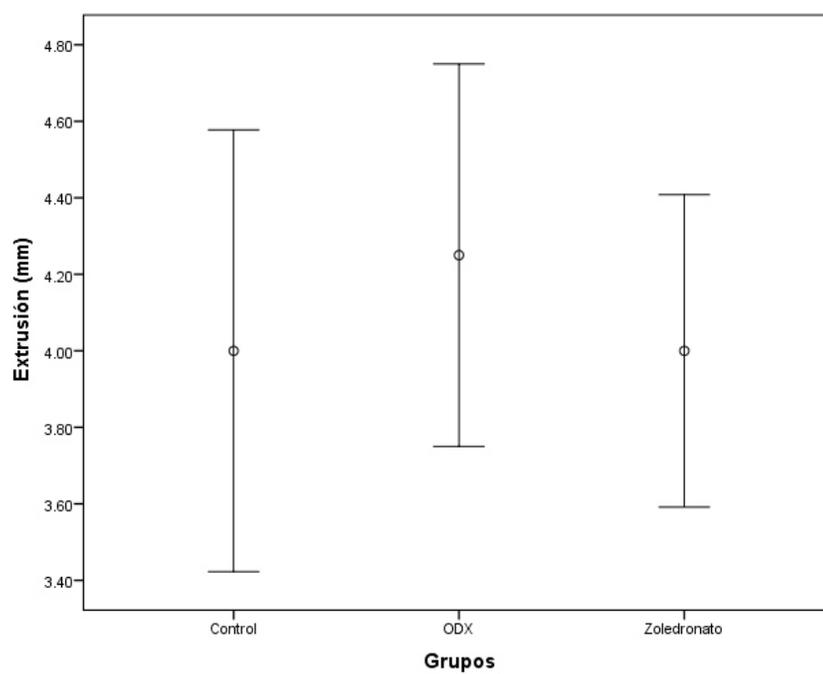
Al analizar las mediciones clínicas de la longitud del incisivo inferior en los diferentes tiempos, los resultados estadísticos indican que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la longitud inicial del incisivo y las mediciones posteriores, lo cual afirma que la aplicación de bifosfonatos a los grupos experimentales no detuvo la erupción de los incisivos inferiores.

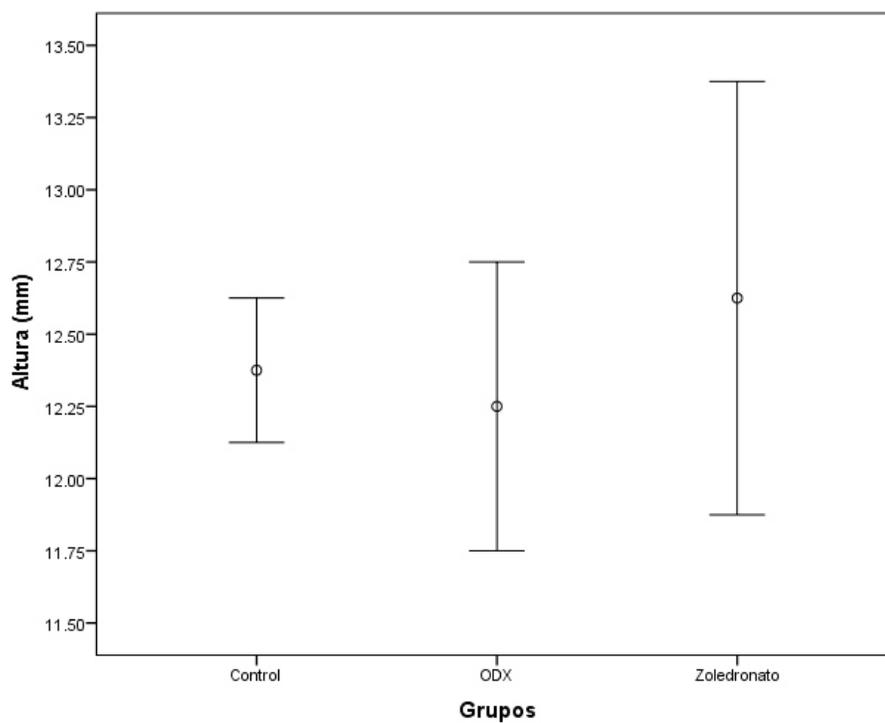
Extrusión y alturas en el tiempo inicial (1)

		Descriptivos							
		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Extrusión	Control	4	4.0000	.57735	.28868	3.0813	4.9187	3.50	4.50
	ODX	4	4.2500	.50000	.25000	3.4544	5.0456	4.00	5.00
	Zoledronato	4	4.0000	.40825	.20412	3.3504	4.6496	3.50	4.50
	Total	12	4.0833	.46872	.13531	3.7855	4.3811	3.50	5.00
Altura	Control	4	12.3750	.25000	.12500	11.9772	12.7728	12.00	12.50
	ODX	4	12.2500	.50000	.25000	11.4544	13.0456	12.00	13.00
	Zoledronato	4	12.6250	.75000	.37500	11.4316	13.8184	12.00	13.50
	Total	12	12.4167	.51493	.14865	12.0895	12.7438	12.00	13.50

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Extrusión	Entre grupos	.167	2	.083	.333	.725
	Dentro de grupos	2.250	9	.250		
	Total	2.417	11			
Altura	Entre grupos	.292	2	.146	.500	.622
	Dentro de grupos	2.625	9	.292		
	Total	2.917	11			





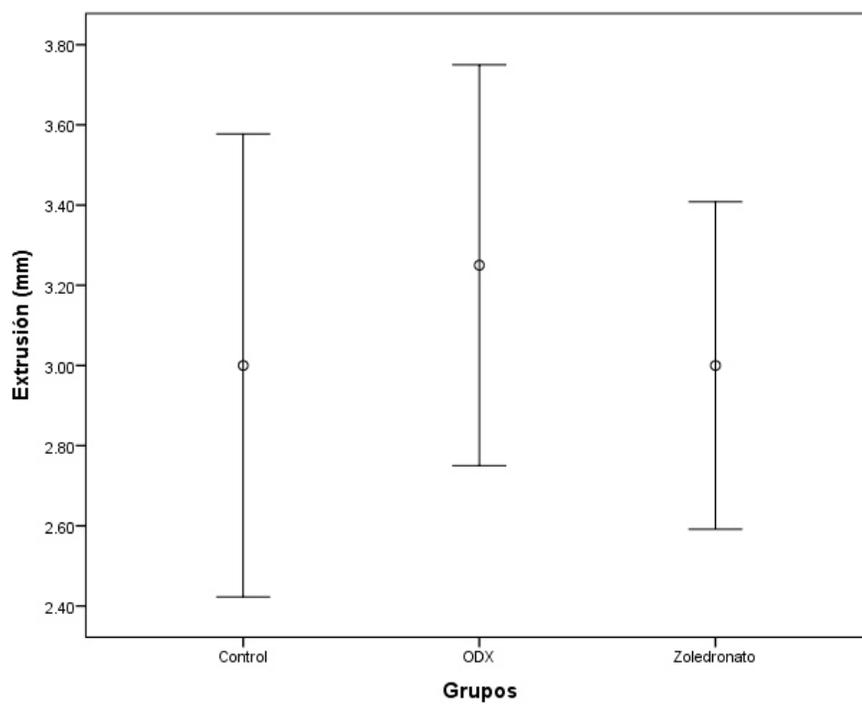
Extrusión y alturas en el tiempo 30 días

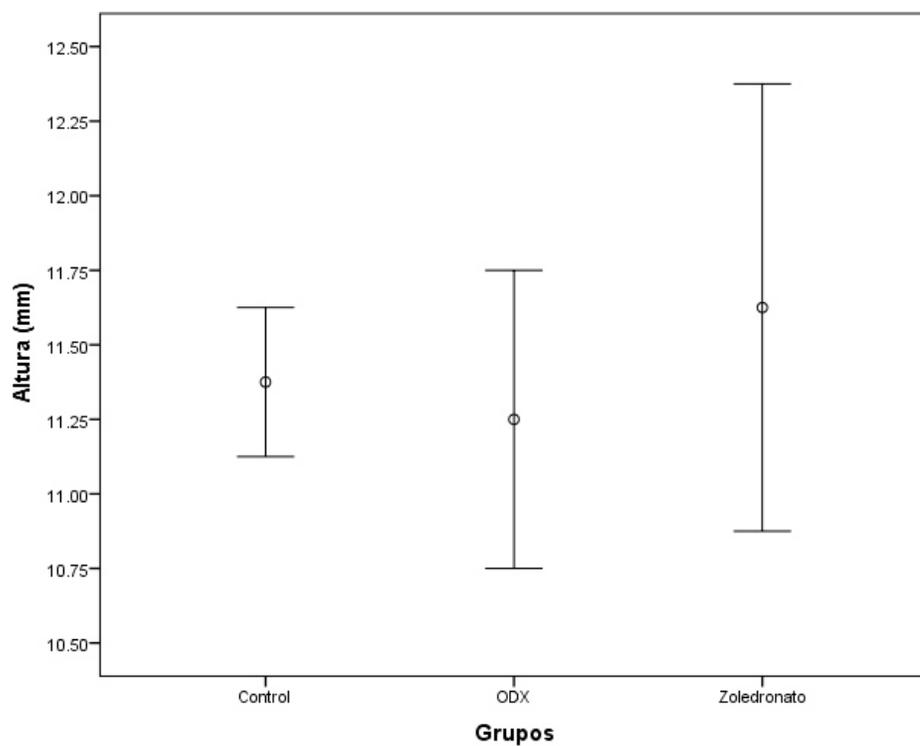
Descriptivos

		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Extrusión	Control	4	3.0000	.57735	.28868	2.0813	3.9187	2.50	3.50
	ODX	4	3.2500	.50000	.25000	2.4544	4.0456	3.00	4.00
	Zoledronato	4	3.0000	.40825	.20412	2.3504	3.6496	2.50	3.50
	Total	12	3.0833	.46872	.13531	2.7855	3.3811	2.50	4.00
Altura	Control	4	11.3750	.25000	.12500	10.9772	11.7728	11.00	11.50
	ODX	4	11.2500	.50000	.25000	10.4544	12.0456	11.00	12.00
	Zoledronato	4	11.6250	.75000	.37500	10.4316	12.8184	11.00	12.50
	Total	12	11.4167	.51493	.14865	11.0895	11.7438	11.00	12.50

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Extrusión	Entre grupos	.167	2	.083	.333	.725
	Dentro de grupos	2.250	9	.250		
	Total	2.417	11			
Altura	Entre grupos	.292	2	.146	.500	.622
	Dentro de grupos	2.625	9	.292		
	Total	2.917	11			





Extrusión y alturas en el tiempo 37 días

Informe

Grupos		Extrusión	Altura
Control	N	1	
	Media	4.5000	
	Desviación estándar	.	
	Mínimo	4.50	
	Máximo	4.50	
ODX	N	1	1
	Media	4.0000	12.5000
	Desviación estándar	.	.
	Mínimo	4.00	12.50
	Máximo	4.00	12.50
Zoledronato	N	1	1
	Media	4.0000	13.0000
	Desviación estándar	.	.
	Mínimo	4.00	13.00
	Máximo	4.00	13.00
Total	N	3	2
	Media	4.1667	12.7500
	Desviación estándar	.28868	.35355
	Mínimo	4.00	12.50
	Máximo	4.50	13.00



DISCUSSION

DISCUSION

Esta investigación tuvo como objetivo principal medir el grado de erupción de incisivos centrales de ratas Wistar del bioterio de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ubicado en el CIDICS del área médica, administrando dos bifosfonatos: ODX y Zoledronato de forma local para crear anclaje farmacológico y evitar la extrusión o erupción fisiológica de dichos dientes. Esto con el objetivo de crear un ancla farmacológica en las corticales alveolares del maxilar inferior, donde después del tratamiento de ortodoncia sean menores las posibilidades de recidiva de movimiento dental y mucho menor el tiempo de uso del retenedor. Pudiéndose utilizar solo en la noche y evitar colocar los de tipo fijo, que a largo plazo si no hay una buena higiene del paciente, puede causar problemas periodontales.

Selección de la muestra

Al revisar los diferentes estudios que analizan la relación del movimiento dental normal contra aquellos que en uno o varios grupos experimentales utilizan bifosfonatos para crear anclaje farmacológico y disminuir el movimiento dental, se encontró que la cantidad de animales utilizados en los experimentos fue muy variada entre los autores. Lo que si correspondió en todos es que los grupos de ratas fueron del mismo género para evitar la reproducción durante la fase experimental y todas habían completado su crecimiento y desarrollo.

Fujimura y cols., (2009) trabajó con tan sólo 8 ratones a los cuales les colocó una dosis de $2\mu\text{g}/20\mu\text{l}$ de bifosfonato diariamente durante 12 días, en el lugar adyacente a la molar superior que se estaba traccionando sagitalmente, por medio de un resorte de Níquel-Titanio. El movimiento fue medido clínicamente cada 2 días y el lado derecho de cada ratón sirvió como grupo control.

Choi y cols., (2010) utilizó una muestra de 54 ratas Wistar divididas en 3 grupos de 18 ratas cada uno, de los cuales dos fueron experimentales colocándoles 2.5mmol/L y 10mmol/L de Clodronato y solución salina al grupo control cada tercer día durante 17 días, en el área subperióstica adyacente a la molar en movimiento sagital, con un resorte de Níquel-Titanio con 60g de fuerza.

Liu y cols., (2004) analizaron el grado de recidiva en un grupo de 26 ratas Wistar a los cuales les colocaron un resorte transversal de expansión con 120mN de fuerza en cada lado. El molar superior derecho de cada rata sirvió como control y en el lado izquierdo se colocó una concentración de 2.5, 10 y 40 mM de Clodronato, en el área subperióstica cada tercer día durante un periodo de tres semanas.

Sato y cols., (2000) revisaron cortes histológicos para verificar si la aplicación de bifosfonatos en 12 ratas Wistar a las cuales se les colocó un elástico separador entre dos molares superiores, disminuía la cantidad de osteoclastos y reabsorción ósea en el lado de presión del ligamento periodontal durante el movimiento. El cual fue exitoso.

Karras y cols., (2009) observaron que la utilización de Aledronato para inhibir el movimiento dental en 2 grupos de 25 ratas Sprague-Dawley, aplicándoles 7mg/kg de peso 1 vez por semana durante 5 semanas, fue efectivo en un 75% a las 2 semanas y 58% a las 4 semanas.

Kaipatur y cols., (2013) midieron la resistencia al movimiento dental de manera sagital de la primer molar de 4 grupos de ratas Spague-Dawley (5 cada uno), por medio de un resorte en un estudio piloto en el que aplicó Aledronato, antes de empezar el movimiento dental y otros durante el movimiento. Se comprobó que la utilización de bifosfonatos por un periodo de tiempo antes de empezar el movimiento dental, fue más efectivo que cuando se usa durante el movimiento dental, obteniendo un porcentaje mucho mayor.

Keles y cols., (2007) investigaron el grado inhibición del movimiento dentario en 8 ratones en los que se comparó un bifosfonato (Pamidronato) contra

Osteoprotegerina (vía de regulación de la osteoclastogénesis), aplicándolos en dosis de 5 y 10 mg/kg durante 8 días. En este estudio la osteoprotegerina tuvo ligeramente mayor porcentaje de éxito que el bifosfonato, postulándose como un compuesto excelente para futuras investigaciones, ya que es un compuesto producido por el mismo organismo.

Lee y cols., (2001) colocaron bifosfonatos durante 7 días en 44 ratas Wistar, después de la realización de expansión rápida palatina con un resorte formado por alambre de 0.5 mm de cromo cobalto y que incluía dos hélix en su diseño. Esto para evaluar la recidiva de la expansión de un lado contra el otro, siendo uno de éstos el propio grupo control, al cual sólo se le inyectó solución salina durante 3 días posterior al procedimiento de expansión. Además hubo otros grupos donde se aplicó el bifosfonato solo 3 días y otro, donde el mismo aparato, se dejó como retención 7 días pero no se administró ningún medicamento

Ortega y cols., (2012) utilizaron un bifosfonato potente denominado Zoledronato en un grupo experimental de 15 ratas a las cuales se les removió la primera molar superior de lado izquierdo y con un resorte de 10g de fuerza de Níquel-Titanio, se traccionó la segunda molar hacia el espacio de la primera molar. Esta técnica también fue aplicada a un grupo control de 15 ratas, a las cuales se les inyectó solución salina en el área adyacente a la segunda molar, mismo lugar donde se le aplicó el zoledronato al grupo experimental. El estudio tuvo un grande porcentaje de éxito en inhibir el movimiento dental en el grupo experimental, comparado con el control.

Después de revisar numerosas bibliografías sobre movimiento dental sagital y transversal usando bifosfonatos como anclaje farmacológico, se notó la ausencia de un estudio específico de movimiento dental vertical, enfocado a la retención post tratamiento ortodóntico, así como ausencia de la toxicología histológica que pueden causar las dosis continuas y altas de dicho medicamento.

En este estudio se incluyó a 12 ratas Wistar distribuidas de la siguiente manera: dos grupos experimentales formados por cuatro ratas cada uno de 8 semanas de edad y un grupo control de igual número y edad. Todas del mismo género.

Estas fueron seleccionadas al azar para cada grupo y se colocaron en colectivas del área de modelos biológicos del CIDICs de la Universidad Autónoma de Nuevo León con su letrero de identificación.

Con respecto a la edad se sabe que las ratas terminan su crecimiento y desarrollo craneofacial a la séptima semana de edad, por lo cual fue óptimo realizar el estudio en todos los grupos. No se excluyó ninguno de los animales, debido a que en su revisión general inicial, todos estuvieron en excelente estado de salud bucal y general.

Pesos

Al no encontrarse diferencia estadísticamente significativa entre los pesos de los grupos, se estableció que la alimentación y nutrición fue igual para todos los animales del estudio, tanto de grupos experimentales como el de controles. Por lo tanto, la dieta no hizo variar los resultados del mismo.

Selección de la técnica

Durante el tratamiento de ortodoncia, a lo largo de la historia se ha tratado de realizar maniobras necesarias para evitar efectos indeseados, como lo indica la tercera ley de Newton en sentido igual y opuesto al movimiento que se quiere, imprimiendo fuerzas sobre los dientes.

Para esto se han diseñado numerosas técnicas, aparatos y dispositivos para evitarlo incluyendo hoy en día el uso de los mini tornillos o mini implantes, que sin duda son de excelente apoyo mecánico.

Otro punto a considerar es la importancia del manejo de la recidiva en el tratamiento, sobre todo en pacientes con tratamiento terminado, ya que hoy en día se completan tratamientos en los cuales hay compensaciones dentales y a

este factor se le agregan elementos externos como hábitos de los pacientes que propician este problema.

Desde hace 2 décadas hasta la fecha, numerosos autores se han interesado por agregar una alternativa a estos dos problemas, creando anclaje de tipo farmacológico en el área de interés, siendo este el medio bucal.

El cien por ciento de los estudios revisados para esta investigación lo han hecho en modelos animales con roedores (ratas y ratones), debido a que su crecimiento y desarrollo es muy similar al del humano. De éstos, han estudiado la cantidad de movimiento dental agregando sustancias químicas como bifosfonatos o en ocasiones mucho menos frecuente usando osteoprotegerina, en sentido transversal y sagital, ya sea por medio de un resorte, traccionando, expandiendo, o simplemente colocando un elástico separador entre los molares estrechamente en contacto para producir un desplazamiento (Igarashi y cols., 1994; Fujimura y cols., 2009; Lui y cols., 2004; Choi y cols., 2010; Ortega y cols., 2012; Putranto y cols., 2008; Lee y cols., 2001; Keles y cols., 2007; Kaipatur y cols., 2013; Karras y cols., 2009; Seifi y cols., 2009; Sato y cols., 2000; Kirschneck y cols., 2013; Iglesias-Linares y cols., 2010; Dunn y cols., 2007; E.J. Toro y cols., 2011).

Lo cierto es que en ninguno de los estudios revisados se estudió el efecto del medicamento sobre un movimiento natural del diente o en un desplazamiento vertical.

Es por esto que para la presente investigación se emplearon dos tipos de bifosfonatos diferentes para medir la extrusión de incisivos en ratas Wistar, aplicándolos directamente a nivel subperióstico en la zona intermedia de los incisivos mandibulares de los animales, con el enfoque de aplicarlo posteriormente en la etapa de estabilización pre retiro de aparatología ortodóntica y etapa de retención de la población en general y disminuir a grandes proporciones la recidiva en el tratamiento, dando una mayor satisfacción al paciente.

Selección del instrumento de medición de las variables dentarias

Básicamente en la revisión de los estudios se encontraron 3 formas de medición del desplazamiento dentario: clínicamente, radiográficamente y digitalmente.

La mayoría de los estudios revisados optaron por evaluar el grado de movimiento digitalmente. Algunos de ellos lo hicieron mediante tomografías computarizadas o de haz de cono tomadas a los animales en varios tiempos (Semana 2 y 4, otro a los días 3, 7, 10, 14, 17 y 21) para así obtener imágenes del área en cuestión en 2D medir milimétricamente (Dunn y cols., 2007; Kirschneck y cols., 2013; Kaipatur y cols., 2013).

Lee y cols., (2001) evaluaron el grado de recidiva milimétricamente en fotos que fueron tomadas clínicamente pero que se digitalizaron en varios grupos después de haber realizado expansión rápida palatina, con un resorte que ejercía 60 gramos de fuerza.

Por otra parte Karras y cols., (2009) tomaron impresiones de polivinilsiloxano del área donde se abrió el espacio, debido al movimiento a la semana 2 y 4 de haber traccionado con un resorte sagitalmente la primera molar superior. Estas fueron vaciadas en yeso y después digitalizadas para poder medir en milímetros la distancia en un software especial.

Otros de los autores decidieron tomar radiografías oclusales y laterales de cráneo a los animales de estudio, en este caso ratas para después digitalizarlas y por medio de programas de computadora especializados, se puede medir la distancia recorrida de los dientes. Tal es el caso de Keles y cols., (2007) al tomar radiografías oclusales a los días 0, 1, 4, 8 y 12 de la tracción con un resorte, después fueron ampliadas digitalmente (X50) y el movimiento dental fue calculado como una media de la distancia entre el espacio intermolar superior y el incisivo superior (distancia de donde se sostenía el resorte de tracción). Y por su parte Ortega y cols., (2013) midieron el desplazamiento dentario por medio de radiografías laterales de cráneo tomadas a los animales con un radiovisiografo

digital en 4 tiempos diferentes (día 0, 7, 14 y 21) durante los 21 días de tracción de un molar superior con un resorte de Níquel-Titanio.

Estas fueron trazadas tomando en consideración puntos craneométricos descritos en la cefalometría de Barret y Harris en 1993, pero creando sus propios planos y distancias para medir el movimiento de manera horizontal en milímetros. Además combinaron esta forma de medición con otra medida clínica, ya que los cráneos de las ratas fueron disecados, midieron el espacio interpolar con calibradores especiales (Align Technologies, Santa Clara, California) estos fueron de 0.10, 0.20, 0.25, 0.30, 0.40 y 0.50mm.

Por último varios de los autores decidieron solamente tomar medidas milimétricamente, tomadas clínicamente para evaluar el efecto de los bifosfonatos sobre el movimiento dental al medir la distancia intermolar desde las crestas de las cúspides mesiopalatinas de las primeras molares superiores y con superimposiciones de los modelos de yeso tomados a las ratas, para saber el grado de recidiva transversal. Así como simplemente midiendo el movimiento sagital (espacio intermolar) de los primeros molares superiores traccionados por medio de resortes hacia el incisivo superior con resortes con un vernier en diferentes tiempos, durante la fase experimental. (Igarashi y cols., 1994; Liu y cols., 2001; Fujimura y cols., 2009 y Choi y cols., 2010).

Basados en los ejemplos anteriores para este estudio se decidió combinar los tres tipos de medición anteriormente descritos al tomar radiografías convencionales con un rayos X portátil (Genoray Port-X-II Ezx-60) y una película oclusal colocada como película para tomar radiografías laterales de cráneo (radiografía dental Kodak de 57 X 76 mm) y medir la extrusión del incisivos basados en los punto, planos y una medida en específico de la cefalometría de Barret y Harris descrita en 1993, que es la de extrusión del incisivo inferior.

Con ayuda de un radiovisiógrafo digital (opteo one, Owandy) también se tomaron radiografías laterales de cráneo a las ratas y fueron trazadas utilizando la misma información de los puntos craneométricos y planos sagitales para medir

milimétricamente si hubo detenimiento de la extrusión del incisivo inferior milimétricamente (En 4 tiempos diferentes).

Por último también se consideró tomar medidas clínicas que fueran de apoyo para esta investigación. Con un vernier manual se midió en el tiempo 0 (antes de recibir cualquier tratamiento) la longitud total del incisivo inferior izquierdo de todas las ratas del estudio. A los 30 días (Tiempo 1) de haber administrado el medicamento se realizó un desgaste de incisivos superiores e inferiores de 1mm, con un fresa de diamante y se colocó un punto de resina identificador a 7mm apical el borde incisal ya desgastado (lo más cerca del margen gingival posible), para poder ir midiendo progresivamente desde el borde incisal al punto identificador si hubo extrusión del incisivo en los tiempos 2 y 3.

Dosis aplicada a los animales

Al analizar los diferentes estudios en los que fueron utilizados distintos tipos de bifosfonatos en diferentes dosis y vía de administración, se observó que estas son parecidas y se relacionan con lo administrado en humanos. Karras y cols., (2009) mencionan que se dio 7mg por kg de pesos de Aledronato a cada rata del estudio 1 vez por semana por vía intraperitoneal durante 5 semanas. Esta dosis fue diseñada para asemejarse a la que se usa en humanos para tratar la osteoporosis y que, correlacionada con más estudios, se demostró que en ratas es la dosis límite para poder causar un efecto biológico.

Igarashi y cols., (1994) demostraron reducción del movimiento dental significativo en ratas colocando .5 mg por kg de forma sistémica y .1 mmol/L de forma local el bifosfonato (AHBUBP) en ratas Wistar. Así como colocando de forma subperióstica a 1 de los grupos 3 días antes de realizar fuerza sobre los dientes de manera transversal. No hubo problemas de edema, enrojecimiento ni erosión en el lugar de la aplicación.

Sato y Cols., (2000) colocaron 1.5mg por kg y 1.0 mg por kg de Pamidronato de manera intravenosa 1 día antes de la colocación de 1 elástico separador entre las

molares de ratas Wistar, lo cual indica que es una dosis ligeramente baja pero muy similar a la aplicación en los otros estudios que durante 21 días.

Lee y cols., (2001) aplicaron 5mg por kg de peso de Risedronato de manera subcutánea diariamente durante 3 y 7 días en 2 grupos experimentales al realizar expansión palatina. Que según el estudio es considerada como una dosis baja y no peligrosa.

Liu y cols., (2004) administraron de manera subperióstica en la zona adyacente a los dientes en evaluación, 50µl de Clodronato cada tercer día durante 3 semanas; lo cual fue muy similar al presente estudio en dosis, tiempo y forma de suministro.

Keles y cols., (2007) utilizaron inyecciones subcutáneas de Pamidronato en dosis de 5 mg por kg durante solo 8 días, lo cual se vio reflejado en un menor porcentaje total de reducción del movimiento dental en el grupo experimental, pero bastante eficiente en la reducción histológica de osteoclastos.

Dubaine y cols., (2011) colocaron 2.5mg por kg de un polibifosfonato llamado ODX de forma intravenosa, 1 vez por semana durante 4 semanas para reducir la metástasis de osteosarcoma en ratas Wistar. Este polibifosfonato mostró grandes cambios al reducir la metástasis y crear zonas de osteocondensación para inhibir la osteólisis en los lugares de las lesiones.

Es por esto que se eligió para este trabajo aplicar una dosis calculada con base en todo lo encontrado en los estudios con los rangos de éxito y en la cantidad de medicamento disponible, siendo 0.04ml de Aclasta® (0.01mg/kg de peso vivo de Zoledronato) y 0.02ml (2.5mg/kg de peso vivo) de ODX para los grupos controles, mientras que al grupo experimental se le colocó 0.02ml de solución salina durante la fase experimental

Análisis de los datos encontrados en los cortes histológicos

Ha sido controversial el tema de que el uso de bifosfonatos puede ser peligroso en el medio bucal por su asociación con la Osteonecrosis de los maxilares, al inhibir la función de los osteoclastos. Pero se ha demostrado que no afecta en el cien por ciento la regeneración y sanación de los tejidos además de la remodelación del hueso.

Ortega y cols., (2012) en su estudio donde antes de colocar zoledronato y realizar movimiento dental de la segunda molar superior, realizaron extracción de la primera molar, describen que al contrario de lo que comúnmente se piensa, al aplicar el bifosfonato en la zona adyacente a la molar en la que se realizó movimiento, el grupo experimental tuvo mejor cicatrización de la herida y no perdió altura de hueso. Al haber inactivación de los osteoclastos se manifestó un mejor llenado del alveolo. Mientras que el grupo control perdió el hueso alveolar.

Además reportaron que los grupos controles tuvieron reabsorción radicular con la tracción, mientras que el grupo experimental no.

Igarashi y cols., (1994) demostraron que la reducción de osteoclastos en el área de superficie de presión durante el movimiento dental con bifosfonatos es significativamente menor que el grupo control. Además de evitar reabsorción radicular en el área de presión del ligamento periodontal, lo cual si sucedió en los controles.

Estudios demuestran que al comparar el número de células multinucleadas u osteoclastos en cortes histológicos con una tinción especial llamada TRAP (Tartrate-resistant acid phosphatase), entre grupos experimentales a los cuales se les administraron bifosfonatos, contra grupos controles, hay una disminución estadísticamente significativa en los grupos experimentales (Igarashi y cols., (1996); Lee y cols., (2001); Liu y cols., (2004); Keles y cols., (2007); Kimura y cols., (2008); Fujimura y cols., (2009).

Kaipatur y cols., (2013) encontraron en cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina, que en uno de sus grupos experimentales el cual fue pre dosificado con Aledronato, 3 meses antes de empezar el movimiento dental, mostraron áreas morfológicas distintas de remodelación ósea evidentes, con remodelación ósea disminuida y ausencia de osteoclastos en la superficie.

Esto es muy similar a lo que encontramos en los dos grupos experimentales, los cuales fueron pre dosificados 1 mes con 2 bifosfonatos totalmente diferentes en estructura química (Zoledronato y ODX), antes de la fase experimental.

Los cortes obtenidos de Zoledronato donde se analizó el área circundante a la colocación del medicamento mostraron una zona ósea con casi nula actividad osteocítica y nula actividad osteoclástica, en comparación con los cortes histológicos de ODX, en los cuales no se manifestó actividad osteoclástica pero poca reducción osteocítica, lo que indica que el hueso seguía en una condición más normal.

Sato y cols., (2000) demostraron con inmunocitoquímica como los bifosfonatos inhiben la formación de catepsina K por parte de los osteoclastos durante el movimiento dental. La cual se encarga de degradar el colágeno tipo I como función principal. Además indicaron que los bifosfonatos reducen significativamente la expresión de la H⁺-ATPasa de tipo vacuolar que se encuentra en la parte rugosa de la membrana de los osteoclastos, que a su vez se provee el ambiente ácido para empezar la desmineralización durante la reabsorción.

Choi y cols., (2010) evidenciaron en cortes histológicos de hueso alveolar como la aplicación de clodronato a una dosis de 10mmol/L cada tercer día en un grupo experimental, como al séptimo día ya hay una disminución significativa estadísticamente de osteoclastos en la zona donde se ha estado realizando el movimiento.

Crecimiento de incisivos inferiores y superiores de roedores Vs erupción

Investigadores mencionan que los bifosfonatos aplicados de forma sistémica, infiltrativa en la zona adyacente al movimiento y de manera tópica, funciona en diferentes porcentajes de éxito para detener el movimiento dental a través del hueso en sentido sagital y transversal, proveyendo anclaje farmacológico en zona de molares y todos en respuesta a una carga o fuerza de activación aplicada sobre los dientes en cuestión, para lograr ver la reacción al movimiento en comparación con el lado opuesto de la arcada los cuales fueron usados como grupo control.(los porcentajes de éxito de los grupos experimentales en comparación con los controles fueron desde un 56% hasta un 86%). (Iglesias-Linares revisión sistemática de la literatura 2010)

El presente estudio desde el principio se enfocó a medir un tipo de movimiento dental diferente, no asistido por algún aparato ortodóncico o mecánico, que estuviera relacionado con el tema de evitar la recidiva después del tratamiento de ortodoncia y disminuir el uso de los retenedores por parte del paciente, para hacer tanto la vida del paciente y la del ortodoncista más comfortable.

Al inicio del estudio no se conocía del todo, debido a la falta de literatura en el área de ortodoncia y de estudios similares en animales ya antes mencionados, el modo de regeneración de los dientes de los roedores al desgaste.

Los dientes anteriores que caracterizan a los roedores son 4 incisivos de gran tamaño, estos incisivos no tienen raíces o, si tienen, son pequeñas y abiertas. También presentan una pulpa dental abierta hasta el alvéolo dentario. Los incisivos crecen continuamente durante toda la vida. Los roedores mantienen el tamaño constante royendo alimentos duros u otros objetos, y gracias al rozamiento de estos dientes con los otros. También se les llaman dientes de raíz abierta o de crecimiento continuo y en particular los de estas especies de roedores (especie *Geomys*). Y se les considera como la máxima herramienta contra el desgaste dentario.

El ritmo de crecimiento de los incisivos va de entre 2 y 3 milímetros por semana en las especies no excavadoras y, hasta 5 milímetros por semana, en los geómidos que excavan con los dientes. El 30-60% anterior de los incisivos está cubierto de esmalte, de manera que, a pesar del rápido desgaste de la sustancia más blanda que encuentra detrás, siempre permanece una zona afilada en forma de cincel (Westheide y cols., 2004; Carleton y cols., 2005)

Implicaciones clínicas a futuro

Estudios han demostrado que los bifosfonatos aplicados de forma local en el área bucal con diferentes técnicas, dígame infiltrativa, subperióstica o tópica han funcionado para reducir el movimiento dentario de manera sagital y transversal, durante algún tratamiento específico como lo es la expansión maxilar o el cierre de algún espacio, al traccionar un diente por medio de un resorte de manera exitosa al crear anclaje farmacológico. Actuando histológicamente sobre los osteoclastos al reducir el grado de remodelación en la zona relacionada o en cuestión, aún comparado contra el lado contralateral del mismo individuo. (Fujimura y cols., 2009; Lui y cols., 2004; Choi y cols., 2010; Ortega y cols., 2012; Putranto y cols., 2008)

Al tener estas ventajas con este medicamento en particular y con dosis que se ha demostrado que son bajas y con poco riesgo de osteoradionecrosis, resulta prometedor que pueda ser utilizado uno de carácter polibifosfonato al tener ventajas de nobleza y potencialización al disminuir la acción osteoclástica para pacientes que terminen su tratamiento o se encuentren en la etapa de retención del mismo, y así reducir el porcentaje de recidiva de una maloclusión y pacientes más conformes, al no tener que utilizar por periodos prolongados sus retenedores

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Al término del estudio, después de efectuar las mediciones y análisis correspondientes, se llegó a las siguientes conclusiones:

- 1.- La aplicación de bifosfonatos en el área interincisal de manera local en ratas Wistar durante un mes cada tercer día, no detuvo el crecimiento vertical de incisivos inferiores.
- 2.- La aplicación de Zoledronato en el área interincisal inferior durante 30 días, provoco cambios en áreas de hueso entre los centrales inferiores volviéndolo acelular al inactivar los osteoclastos.
- 3.- La aplicación de ODX en el área interincisal inferior durante 30 días provocó cambios mínimos en áreas de hueso entre los centrales inferiores, disminuyendo la cantidad de células funcionales del hueso (osteocitos) comparado con el grupo control.
- 4.- La aplicación de dichos bifosfonatos a nivel local, no afecta de manera sistémica el crecimiento de incisivos superiores después del desgaste.
- 5.- La dosis aplicada de Zoledronato afectó histológicamente la morfología de tejidos como hígado, riñón y cerebro, al encontrarse zonas de hemorragia y congestión vascular.
- 6.- La aplicación infiltrativa den la mucosa bucal de las ratas Wistar de ODX provoco reacción inflamatoria leve en el área de punción, comparado los otros dos grupos.

The word "RECOMENDACIONES" is centered in a bold, black, sans-serif font. To its left is a vertical line that extends downwards and then turns left to become a horizontal line that underlines the text. Below this horizontal line is a second, slightly longer horizontal line.

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

A continuación se presentan algunas ideas para investigaciones subsecuentes que puedan seguir incrementando los conocimientos en esta área:

- Realizar el mismo protocolo de esta investigación con las siguientes variantes:
 - Realizar pulpectomía de los incisivos inferiores para inducir más al movimiento de extrusión
 - Variar las dosis de los bifosfonatos entre más grupos experimentales

- Colocar una fuerza extrusiva verdadera a uno de los grupos, para medir el grado de extrusión usando bifosfonatos

- Desarrollar un ungüento o gel tópico que contenga bifosfonatos para disminuir el impacto sistémico y que este sea orientado a ser más local sobre la zona en la cual se quiera trabajar y medir su funcionamiento clínico así como histológico por periodos de larga duración

- Realizar un experimento similar en otro tipo de animales experimentales que sean permitidos como mini pigs o conejos para evaluar la respuesta.

- Comparar si existe diferencia significativa en detener el movimiento dental de forma sagital o vertical de bifosfonatos, comparados con osteoprogeterina o calcitonina, ya que estos también tienen potencial de inhibir la función osteoclástica

A thick black L-shaped line that starts vertically on the left and then turns horizontally to the right, framing the word 'BIBLIOGRAFIA' from the top and left.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Adachi H, Igarashi K, Mitani H, Shinoda H. (1994) **Effects of Topical Administration of a Bisphosphonate (Risedronate) on Orthodontic Tooth Movements in Rats.** J Dent Res 73(8): 1478-1484.
2. Adam J. "AJ" Ortega, et al. (2012) **Local application of Zoledronate for maximum anchorage during space closure.** American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 142: 780-91.
3. Canut, J. (1992) **Ortodoncia Clínica. Capítulo 15: Movimiento Ortodóncico, reacción tisular ante las fuerzas.** Salvat (edt) Barcelona; pp. 239-255.
4. Christian Kirschneck et al. (2013) **Differentiated analysis of orthodontic tooth movement in rats with an improved rat model and three-dimensional imaging.** Annals of Anatomy, 195: 539-553.
5. Davidovitch Z. (1980) **Electric currents bone remodeling and orthodontic tooth movement. Part II.** Am J Orthod; 77: 33.
6. Dra. Valeria García Chacón y Cols. (2010). **Bifosfonatos en Implantología. Consideraciones quirúrgicas y protocolos prácticos.** Gaceta dental, pagina 127: 176-192.
7. E. Wilson Carleton, M. & Musser, G. (2005) **"Order Rodentia"**, DeeAnn M. Reeder (Hrsg.): Mammal Species of the World. 3ª edición. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. ISBN 0-8018-8221-4.
8. E.j. Toro¹, v. Bradaschia-correa², v.e. Arana-chavez², a. Piedrahita¹, a. Butler¹, j. Neubert¹, d. Ostrov¹, t. Wronski¹, (2011) **bisphosphonate-linked enoxacin (benx) reduces orthodontic tooth movement in rats.** Location: Presentation Type: Poster Session 1Orthodontics, University of Florida, Gainesville, FL, 2Division of Oral Biology - School of Dentistry, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil
9. Eastell R. (1998) **Treatment of postmenopausal osteoporosis.** N Engl J Med; 338:736.

10. Elisabetta Guercio de Dinatale. (2001) **Biología del movimiento dentario ortodóntico** Acta odontológica venezolana, 12, VOLUMEN 39 N° 1.
11. ENCICLOPEDIA ENCARTA 98. "Anclaje", Diccionario Actual de la Lengua Española, [soporte CD] 1995 Biblograf, S.A., Barcelona. DENTINATOR. "Fuerzas en ortodoncia" Portal virtual Dentinator [en línea] <<http://www.dentinator.net/Especialidades/ortodoncia/apunts/fuerzas.htm>> (Consulta 12/12/2002) MOLES RANDALL C. "Advanced Techniques in Oral Implant reconstruction Implant-Assisted Orthodontic Therapy". Portal virtual Smile1.com [en línea]. (consulta 10/10/2002) <http://www.oocities.org/boliviadental/artic/anclaje.html>
12. Fernando de la iglesia. (2009) **Bifosfonatos y su relación con la ortodoncia**. Rev esp ortod. ; 34 146-9.
13. Fleisch H. (1998) **Biphosphonates: Mechanism of action**. Endocr Rev; 19: 80-100.
14. Florence Daubinine. (2011) **Treatment of bone metástasis in prostate cancer: Efficacy of a novel polybisphosphonate**. Anticancer Research, 31: 4141-4146.
15. F. Hawkins Carranza et al. (2000) **Bases moleculares del mecanismo de acción de los bifosfonatos**. Reemo, vol.9, número 5.
16. Graham JW. (2006) **Biphosphonates and orthodontics: clinical implications**. J Clin Orthod; 40 (7); 425-8
17. Ghoneima AA. Et al. (2010) **Bisphosphonates treatment and orthodontic considerations**. Orthodontics & Craniofacial Research. 13: 1-10.
18. Hardam J, Limbird L., (2003) **Las Bases Farmacológicas de la terapéutica**, Goodman and Gilman, 10ma edición. México: McGraw-Hill Interamericana.

19. Hawkins Carranza, F; Jódar Gimeno, E; Martínez Díaz-Guerra, G. (2000) **Pharmacology of bisphosphonates**. Publicado en Rev Esp Enferm Metab Oseas.; 09:169-71. - vol.09 núm 05.
20. Hosking D, Chilvers CE, Christiansen C, et al. (1998) **Prevention of bone loss with alendronate in postmenopausal women under 60 years of age**. N Engl J Med; 338:485.
21. Igarashi K, Adachi H, Mitani H, (1996) **Inhibitory effect of the topical administration of biphosphonate (risedronate) on root resorption incident to orthodontic tooth movement in rats**. Journal of Dental Research 75: 1644-1649.
22. Igarashi K, Mitani H, Adachi H, Shinoda H. (1994) **Anchorage and retentive effects of a bisphosphonate (AHBuBP) on tooth movements in rats**. Am J Orthod Dentofacial Orthop. Sep; 106(3):279-89.
23. Iglesias-Linares A, Yáñez-Vico RM, Solano-Reina E, Torres-Lagares D, González Moles MA. (2008) **Influence of bisphosphonates in orthodontic therapy: Systematic review**. Source School of Dentistry, University of Seville, Spain. December 31.
24. Jeremy Karras et al. (2009) **Effect of alendronate on orthodontic tooth movement in rats**. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 136: 843-7.
25. Josefina Choi et al. (2010) **Effects of clodronate on early alveolar bone remodeling and root resorption to orthodontic forces: A histomorphometric analysis**. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 138: 548.
26. Kaare Reitan. (1964) **Effects of Force Magnitude and Direction of Tooth Movement on Different Alveolar Bone Types***. The Angle Orthodontist: October 1964, Vol. 34, No. 4, pp. 244-255.

27. Kayou Lee et al. (2001) **Effects of Bisphosphonates on the remodeling of rat sagittal suture after rapid expansion.** Angle Orthod. 71: 265-273.
28. Keles A, Grunes B, Difuria C, Gagari E, Srinivasan V, Darendeliler MA, Muller R, Kent R Jr, Stashenko P. (2007) **Inhibition of tooth movement by osteoprotegerin vs. pamidronate under conditions of constant orthodontic force.** Eur J Oral Sci. Apr; 115(2):131-6.
29. Kim T, Yoshida Y, Yokota K, Sasaki T. (1996) **An ultrastructural study of the effects of topical administration of a bisphosphonate (Risedronate) root resorption incident to orthodontic tooth movement in rats.** J Dent Res.; 75: 1644-1649.
30. Julia Harfin, (2005) **Tratamiento Ortodóntico en el Adulto**, cap. 1 Ortodoncia en adultos, fundamentos biológicos e histológicos, 2da Edición, Editorial Panamericana.
31. Lin Liu, Karou Igarashi. (2004) **Effects of local administration of clodronate on orthodontic tooth movement and root resorption in rats.** European Journal of Orthodontics, 26, 469-473.
32. Matthew D. Dunn et al. (2007) **Local delivery of osteoprotegerin inhibits mechanically mediated bone modeling in orthodontic tooth movement.** Bone, 41: 446-455.
33. Masakazu Kimura et al. (2008) **Bisphosphonate Treatment Increases the size of the mandibular condyle and normalizes growth of the mandibular ramus in Osteoprotegerin-deficient mice.** Calcif. Tissue Int. 82: 197-147.
34. Merigo E, Manfredi M, Meleti M, Guidotti R, Ripasarti A, Zanzucchi E, D'Aleo P, Corradi D, Corcione L, Sesenna E, Ferrari S, Poli T, Bonaninil M, Vescovi P. (2006) **Bone necrosis of the jaws associated with bisphosphonate treatment: a report of twenty-nine cases.** Acta Biomed; 77:109-17.

35. Migliorati CA, Schubert MM, Peterson DE, Seneda LM et al. (2005) **Bisphosphonate-associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bone**. *Cancer*; 104:83-93.
36. Moyers, Robert E, (1996) *Manual de ortodoncia*. Mexico. Panamerica ,4ta Edicion
37. Mustafa Ulgen. (1997) **The influence of the masticatory hypofuntion on the craniofacial growth and development in rats**. ~ Sedat Baran, Dr.Med.Dent., b Hakan Kaya, Dr.Med.Dent.,c and Irfan Karadede, Dr.Med.Dent. b., *Am J Orthod Dentofac Orthop*; 111:189-98.
38. Nagashima M, Takahashi H, Shimane K, Nagase Y, Wauke K. (2012) **Osteogenesis and osteoclast inhibition in rheumatoid arthritis patients treated with bisphosphonates alone or in combination with pitavastatin over an 18-month follow-up after more than 4 years of treatment with bisphosphonates**. *Arthritis Res Ther*. Oct 18;14(5):R224.
39. Neelambar R. Kaipatur et al. (2013) **Impact of Bisphosphonate drug burden in alveolar bone during orthodontic tooth movement in a rat model: A pilot Study**. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 144: 557-67.
40. Paula andre Gomez, Cesar Moncada. (2009) **Implicaciones de la osteoporosis sobre el movimiento ortodónico**. *Odontología universidad CES. Revista CES odontología vol 22 nº 1 pag 55-62*.
41. Pazianas M, Miller P, Blumentals WA, Bernal M, Kothawala P. (2007) **A review of the literature on osteonecrosis of the jaw in patients with osteoporosis treated with oral bisphosphonates: prevalence, risk factors, and clinical characteristics**. *Clin Ther*. Aug; 29(8):1548-58.
42. Rama Putranto et al. (2008) **Effects of bisphosphonates on root resorption and cytokine expression during experimental tooth movement in rats**. *Orthodontics waves*, 67: 141-149.

43. Reitan K. (1997) **Current principles and techniques. Cap. 2: Biomechanical principles and reactions.** Mosby, San Luis; pp. 101-192.
44. Rosen CJ. (2005) **Postmenopausal osteoporosis.** N Eng J Med;353:595-603
45. Shahid Beheshti university of Medical Sciences, Tehran, Iran, N. **Effect of nitrogen containing bisphosphonate on the orthodontic anchorage unit,** AGHAEIPOUR, *Shahid Beheshti university of Medical Sciences, Tehran, Iran,* and A. SAFFAR-SHAHROUDI, *Shahid Beheshti university of Medical Sciences, Tehran, Iran*
46. Sieber P, Lardelli P, Kraenzlin CA, Kraenzlin ME, Meier C. (2012) **Intravenous Bisphosphonates for Postmenopausal Osteoporosis: Safety Profiles of Zoledronic Acid and Ibandronate in Clinical Practice.** Clin Drug Investig. Nov 27.
47. Valenzuela V. & Pavic J. (1993) **Respuesta dentaria a los movimientos ortodóncicos.** Rev Den Chile; 84(2): 85-92.
48. Wilfried Westheide, Reinhard Rieger. (2004) **"Rodentia, Nagetiere",** Spezielle Zoologie. Teil 2: Wirbel- oder Schädeltiere. Spektrum Akademischer Verlag. ISBN 3-8274-0307-3. Maier, W.
49. Winter MC, Coleman RE. (2012) **Bisphosphonates in the Adjuvant Treatment of Breast Cancer.** Clin Oncol (R Coll Radiol). Nov 30.
50. Yuji Fujimura, Hideki Kitaura, Masako Yoshimatsu, Toshiko Eguchi, Haruka Kohara, Yukiko Morita and Noriaki Yoshida. (2009) **Influence of bisphosphonates on orthodontic tooth movement in mice.** European Journal of Orthodontics, 31, 572-577.
51. Yuki Sato et al. (2000) **Bisphosphonate administration alters subcellular localization of vacuolar-type H⁺-ATPase and Cathepsin K in osteoclast during experimental movement of rat molars.** The anatomical record, 260: 72-80.

Anexo:

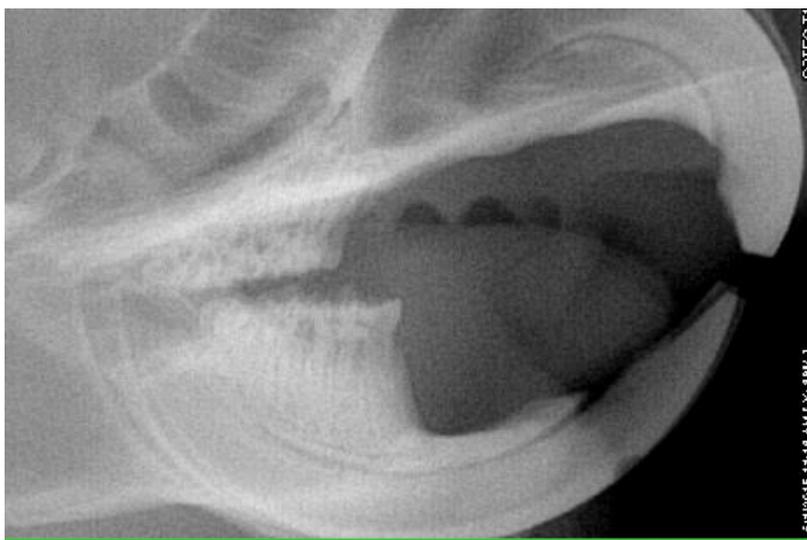
Secuencia de radiografías en los diferentes tiempos y mediciones

Rata 1 Control

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)

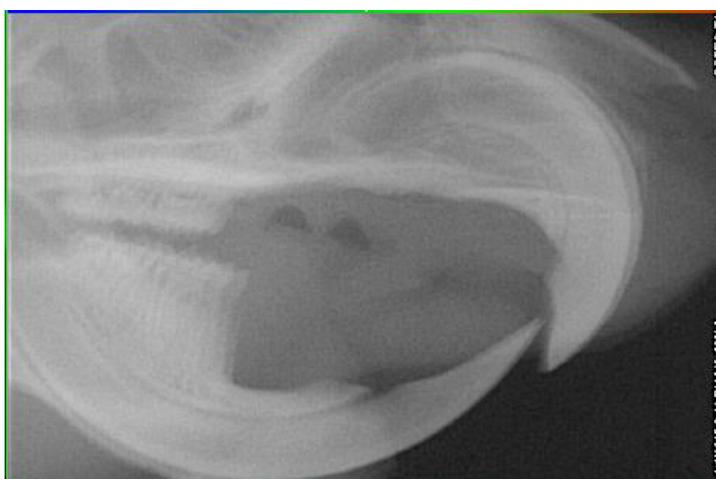


3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)



Rata 2 control

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)



3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)



Rata 3 control

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)



3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)



Rata 4 Control

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)



3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)

Rata 1 Zoledronato

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)



3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)



Rata 2 Zoledronato

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)



3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)



Rata 3 Zoledronato

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)



3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)



Rata 4 Zoledronato

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)



3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)

Rata 1 ODX

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)



3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)



Rata 2 ODX

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)



3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)



Rata 3 ODX

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)



3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)



Rata 4 ODX

Primera Toma radiográfica (Inicial)



2da Toma (Primer Desgaste y Block out)

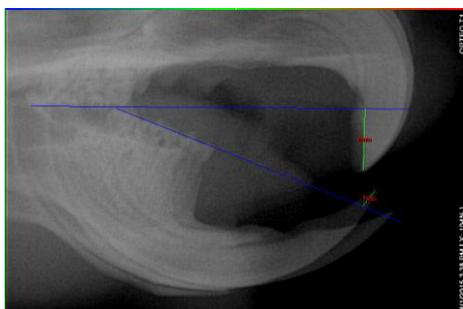


3ra toma (Segundo desgaste y resina compuesta)

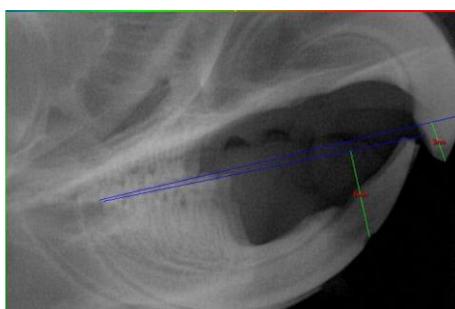


Secuencia de radiografías trazadas

Zoledronato 1



Inicial (T0)



Momento del desgaste (T1)

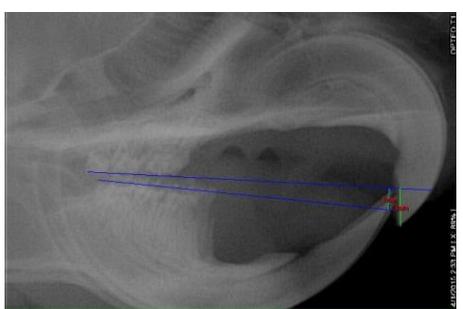


1 semana post desgaste (T2)

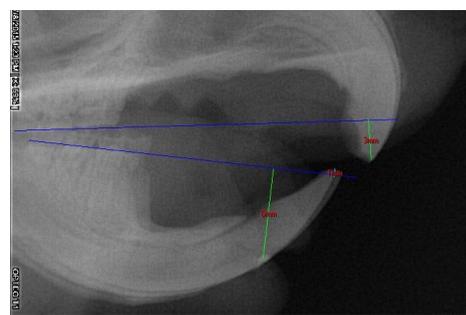


2 semanas post desgaste (T3)

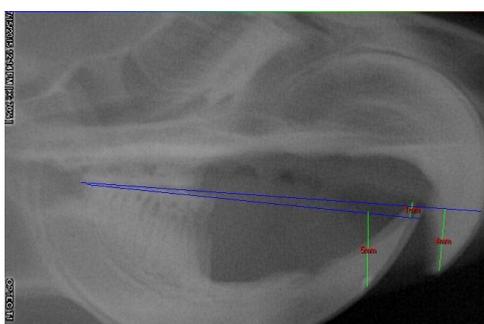
ODX



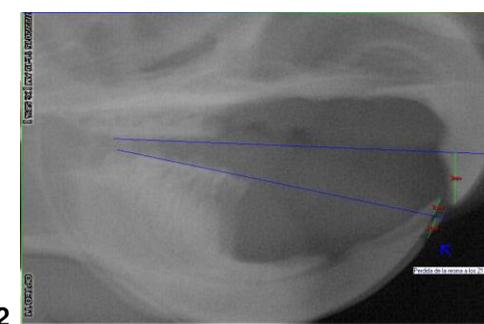
T0



T1



T2



T3