

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



**COMPARACION DEL EFECTO DE LA POLIGUANIDINA CONJUGADA (CATDEX),  
LASER FOTOTERMICO Y FOTOCOAGULACION MEDIANTE IMAGENOLOGIA 3D  
EN OSTEONECROSIS MANDIBULAR INDUCIDA POR BIFOSFONATOS EN RATAS  
WISTAR.**

**ESTUDIO EXPERIMENTAL EN VIVO.**

**SEGUNDA FASE.**

Por

**DR. JORGE MARIO ANTÚNEZ TREVIÑO**

Como requisito para obtener el Grado de:

**ESPECIALISTA EN CIRUGÍA ORAL Y MAXILOFACIAL**

Febrero 2020

**COMPARACION DEL EFECTO DE LA POLIGUANIDINA CONJUGADA (CATDEX),  
LASER FOTOTERMICO Y FOTOCOAGULACION MEDIANTE IMAGENOLOGIA 3D  
EN OSTEONECROSIS MANDIBULAR INDUCIDA POR BIFOSFONATOS EN RATAS  
WISTAR.**

**ESTUDIO EXPERIMENTAL EN VIVO**

**SEGUNDA FASE.**

**Comité de Tesis**

---

Dra. Belinda Ivett Beltrán Salinas

Directora de Tesis

---

Dra. Myriam Angélica De La Garza Ramos

Co- Director de Tesis.

---

Dr. Mario A. Guzmán García

Asesor

**COMPARACION DEL EFECTO DE LA POLIGUANIDINA CONJUGADA (CATDEX),  
LASER FOTOTERMICO Y FOTOCOAGULACION MEDIANTE IMAGENOLOGIA 3D  
EN OSTEONECROSIS MANDIBULAR INDUCIDA POR BIFOSFONATOS EN RATAS  
WISTAR.**

**ESTUDIO EXPERIMENTAL EN VIVO**

**SEGUNDA FASE**

Asesores:

---

Dra. Marcela Márquez Holmberg

Asesor de Experimento

## AGRADECIMIENTOS

## ABREVIATURAS

CATDEX	Poliguanidina conjugada
MRONJ	Osteonecrosis de los maxilares inducida por Medicamentos
CONE BEAN	Estudio de haz de cono en 3D
OMS	Organización Mundial de la Salud
AINE	Analgésico Antiinflamatorio no Esteroideo
BIFOSFONATO	Fármaco análogo no metabolizado de los pirofosfatos endógenos.

ZA

Acido Zolendrónico

PAD

Desinfección Fotoactivada (láser)

LLLT

Terapia con láser de bajo nivel

## TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
RESUMEN .....	
INTRODUCCIÓN .....	
ANTECEDENTES.....	
MATERIALES Y MÉTODOS.....	
RESULTADOS.....	
• HISTOPATOLÓGICOS.....	
• IMAGENOLÓGICOS.....	
• ESTADÍSTICOS.....	
DISCUSIÓN.....	
CONCLUSIONES.....	
RECOMENDACIONES.....	
BIBLIOGRAFÍA.....	
ANEXOS.....	

## RESUMEN

Dr. Jorge Mario Antúnez Treviño

Febrero 2020

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Odontología

Centro de Investigación y Desarrollo de la Salud (CIDICS)

Título del estudio: **Comparación Del Efecto De La Poliguanidina Conjugada (Catdex), Láser Fototérmico Y Fotocoagulación Mediante Imagenología 3D En Osteonecrosis Mandibular Inducida Por Bifosfonatos En Ratas Wistar. Estudio Experimental En Vivo. Segunda Fase.**

### INTRODUCCIÓN.

Actualmente existen diferentes fármacos y tratamientos en general para tratar padecimientos como la osteoporosis, entre ellos se encuentran los bifosfonatos, un grupo de sustancias que se encargan de modificar el mecanismo de acción de las células generadoras de tejido óseo naturales en el cuerpo (función osteoblasto-osteoclasto) para prevenir el progreso de estas enfermedades crónico degenerativas y darle una mejor calidad de vida a los pacientes que padecen lo anterior y otras enfermedades con características similares.

Aún y cuando este tipo de medicamentos son de excelente ayuda en muchas partes del organismo en cuanto a tejidos duros se refiere, en la mandíbula en específico ha causado interés en general por que genera un efecto secundario que es de notar, como lo es la osteonecrosis de este hueso en particular ya que es un hueso de menores dimensiones que los demás que se benefician de este fármaco, crea una descompensación en la función osteoblasto-osteoclasto causando una menor

vascularidad a nivel medular y una consiguiente osteonecrosis con pérdida de función y volumen óseo en esta zona anatómica del cuerpo.

Desde que se supo de este efecto adverso en la mandíbula, se han hecho numerosos estudios referentes a este padecimiento, y como tratarlos de manera correcta y de ser posible empírica para que el paciente afectado pueda beneficiarse de los efectos del bifosfonato sin tener que padecer los efectos secundarios que estos conllevan. Actualmente se encuentra en estudio el uso de la poliguanadina conjugada (catdex) como método eficaz para contrarrestar los efectos contralaterales de los bifosfonatos.

La presente tesis consta de una segunda parte en estudio del CatDex sobre las mandíbulas de ratas winstar y como esta sustancia bioquímica ayuda a la regeneración ósea, al óptimo desarrollo de hueso y al bloqueo de los efectos secundarios que causan los bifosfonatos. En una primera instancia se utilizó este fármaco en ratas en vivo para valorar los efectos clínicos. Esta segunda parte se centrará en estudiar a nivel celular-histológico los cambios que se presentan una vez aislando las mandíbulas y por medio de microscopía electrónica observar y reportar los efectos que esta sustancia representa.

## **OBJETIVOS.**

### OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

Evaluar el tejido óseo por medio de aislamiento de mandíbulas de ratas, procesamiento histológico y estudio a microscopía del uso del CatDex en ratas con osteonecrosis inducida por bifosfonatos y valorar si es realmente tiene un efecto significativo en estos padecimientos.



Reportar los cambios óseos posterior a la osteonecrosis por el uso de bifosfonatos por el uso de un antibiótico en específico, n grupo control y el uso de terapia láser y compararlo con el uso del Catdex.

## **MATERIALES Y MÉTODOS.**

### TÉCNICA MUESTRAL

Muestra de ratas winstar (36) a las cuáles se les trató por medio de la inducción de osteonecrosis mandibular y posteriormente el uso de CatDex y otros componentes para verificar las densidades óseas de un lado de la mandíbula.

### **IMPACTO-BENEFICIO.**

Actualmente se conoce que la necrosis inducida por medicamentos es un problema de salud global ya que se los bifosfonatos se encuentran entre los fármacos de mayor uso principalmente en pacientes con enfermedades metabólicas óseas, aunque también se sabe que son usados en otras alteraciones sistémicas que afectan a una cantidad inmensurable de pacientes; por lo tanto al investigar otro fármaco que inhiba o inclusive proteja y cause neoformación ósea es de gran importancia para beneficiar a la comunidad afectada.

En un estudio echo por el Hospital Churchill en Oxford (*Medication-related osteonecrosis (MRONJ) of the mandible and maxilla; Dunphy, Salzano, Gerber, Graystone, 2020*) Menciona que en el 25% de los casos este padecimiento ocurre de manera no expuesta por lo que es difícil de diagnosticar y aun así avanza la enfermedad hasta el punto en el que se vuelve irreversible el tratamiento conservador por lo que se recurren a tratamiento quirúrgicos extensos los cuales aumentan de gran manera la morbilidad de los paciente. Por lo que el uso profiláctico de el medicamento estudiado en esta investigación ayudara a esta gama de pacientes la cual es alta.

## **CONTRIBUCIONES Y CONCLUSIONES.**

Una vez concluida la etapa en la que a los modelo murínicos se le aplicaron los bifosfonatos y se realizó el estudio para contrarrestar la osteonecrosis inducida por éstos y el sacrificio de las ratas winstar en cuestión se procedió a realizar la disección de los tejidos óseos mandibulares los cuales son de nuestro interés particular y se continuó a realizar cortes histológicos de los tejidos con enfermedad.

Se evaluó por medio un estudio de haz de cono (CBCT) las ratas que cumplieron con los requisitos de interés para el estudio y se evaluó con el programa i-Cat Vision las unidades Hounsfield que presentaban en un perímetro determinado la estructura ósea afectada y a la cual se le aplicaron los medicamentos en cuestión que iban a determinar si funcionaba o si causaba beneficios importantes posterior a recibir la dosis de bifosfonatos. Se descubrió que aquella ratas que recibieron la dosis de CATDEX sí mejoraron o al menos mantuvieron unidades Hounsfield positivas para determinar que funcionaba el medicamento.

De igual manera se estudiaron laboratoriales que se les había tomado a los modelos animales previo a su sacrificio y se encontró que los indicadores de resorción-neoformación ósea se encontraban en algunos casos de manera ordinaria y en otros tantos aumentada lo que nos refiere que existió un proceso de metabolismo óseo.

También y por último se estudio histológicamente las ratas en cuestión y se encontró que en su mayoría presentaban focos de osteogénesis y una disminución significativa de bacterias y microorganismos que es bien sabido que el aumento patológico de estas en zonas con poca vascularidad aumenta la morbilidad de la enfermedad por lo que se determinó que además de beneficiar metabólicamente al hueso afectado también lo protege contra patógenos que incrementan el proceso de necrosis ósea.

# **INTRODUCCIÓN**

## **INTRODUCCIÓN**

Existen actualmente múltiples enfermedades que afectan a la población global, importante entre ellas son las que engloban los órganos sistémicamente ya que se vuelve un manejo complicado para la salud del paciente, porque aún cuando existen diversas maneras de tratar estos padecimientos que son satisfactorias, muchas de las veces tienen efectos secundarios que a pesar de que pueden acabar o disminuir considerablemente el problema generan otros nuevos los cuales se tornan más complicados de tratar y el riesgo-beneficio se vuelve cuestionable.

Es de interés particular las enfermedades óseas y oncológicas que afectan a los pacientes en todo el mundo. Una de ellas es la osteoporosis, la cual generalmente es propia de la edad adulta y a la cual se le atribuyen múltiples complicaciones que pueden llegar a afectar considerablemente la calidad de vida de aquellos que lo padecen. También existen situaciones oncológicas que intervienen negativamente en el metabolismo óseo y las cuales además del padecimiento degenerativo celular en el órgano afectado afecta de igual manera el tejido óseo.

Para tratar enfermedades que afectan metabólicamente al hueso en su proceso de neoformación y reabsorción se utilizan fármacos antirresortivos, especialmente los bifosfonatos. Los bifosfonatos son medicamentos que actúan a nivel enzimático óseo y causan alteraciones en el ciclo en las que estas actúan dando como resultado principalmente la inhibición de la función osteoclástica y de esta manera disminuyen o inclusive anulan la resorción ósea que causan estas enfermedades como la osteoporosis o las metástasis óseas que afectan al hueso.

A pesar de estos beneficios para los pacientes que usan los bifosfonatos, estos como la gran mayoría de los fármacos causa efectos secundarios de relevancia para la calidad de vida del paciente, para nuestro interés en el área médico-quirúrgica de cirugía oral y maxilofacial es la osteonecrosis principalmente en la región del tercio inferior facial, el hueso maxilar inferior o mandibular. Esta estructura anatómica es la que principalmente se encuentra afectada ya que es un hueso que con la edad se vuelve

menos vascularizado por ser un hueso más cortical que medular por lo que pierde esta característica llevando a la mayor incidencia de padecer necrosis ósea. Aunado a esto se sabe que la cavidad bucodental es un sitio que contiene una amplia gama de microorganismos que son propios de la región pero que en estados patológicos estos aumentan su número y los vuelven peligrosos para la vida del paciente una vez que se produce una bacteremia.

Se ha tratado de contrarrestar este padecimiento secundario al uso de fármacos con diversos métodos, el más relevante que se pudo encontrar es el uso de una poliguanadina conjugada (CATDEX) la cual podría inhibir este efecto secundario anteriormente descrito por medio de la reactivación del metabolismo óseo y la protección contra bacterias patógenas que aumenten la posibilidad de riesgo de padecer osteonecrosis mandibular medicamentosa. Actualmente al no ser aun posible por cuestiones médico-éticas el uso en paciente humanos se decidió usar un modelo murínico de ratas winstar para observar por diversos medios que efecto causa este medicamento posterior a la administración de bifosfonatos en zonas con osteotomías en la zona mandibular.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

La osteonecrosis mandibular inducida por bifosfonatos es un problema de salud actual, el cual afecta principalmente a pacientes que presentan el padecimiento de osteoporosis. Causándoles una menor calidad de vida y problemas relacionados con la salud como pueden ser fracturas patológicas, infecciones y cambios irreversibles óseos.

Se encuentra actualmente en investigación el uso de múltiples métodos de recambio óseo mediante agentes químicos para obtener de nuevo la calidad ósea deseada.

Por lo anterior el presente estudio se planea la siguiente pregunta de investigación:

Hipótesis: ¿Será la poliguanadina conjugada útil en la obtención de neoformación ósea contra la osteonecrosis inducida por bifosfonatos?

## **JUSTIFICACIÓN.**

En un estudio hecho en el departamento de Medicina y Reumatología en el Centro Médico Davis de la Universidad de California en Sacramento (*Epidemiology, etiology and diagnosis of osteoporosis, Lane, Nancy E. MD; 2005*) se menciona que en ese año afectó a más de 10 millones de personas en los Estados Unidos de Norteamérica y se estimó que para el presente año 2020 aproximadamente subirá la cifra a 14 millones en aquellos pacientes mayores de 50 años. Se menciona en este mismo estudio que globalmente se estima que 200 millones de personas se encuentran afectadas por esta enfermedad crónica degenerativa de carácter óseo.

Se calcula igualmente que el costo que genera el tratar esta condición en cuanto a traumatología se trata por fracturas causadas por esta enfermedad va a exceder los 50 billones de dólares para el año 2040. Si a esto le agregamos que además de las fracturas patológicas por la pobre calidad ósea también se encuentra el riesgo de padecer osteonecrosis y la realización de un tratamiento coadyuvante las cifras monetarias aumentan en gran medida.

Por lo tanto y tomando de referencia estos datos, se justifica el hecho de que globalmente se requiere un tratamiento que ayude a prevenir el padecimiento de la osteonecrosis que dicho sea de paso también al presentarse este estado patológico es más fácil que ocurran fracturas patológicas y otros padecimientos que acarreen el padecer osteonecrosis las cuales deben ser tratadas para mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados.

Expresado lo anterior es de suma importancia el estudio del medicamento que aquí se investiga para prevenir los efectos adversos de la osteoporosis la cuál es tratada con bifosfonatos y causa problemas de salud.

## **OBJETIVOS.**

### OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

Evaluar el tejido óseo por medio de aislamiento de mandíbulas de ratas, procesamiento histológico y estudio a microscopia del uso del CatDex en ratas con osteonecrosis inducida por bifosfonatos y valorar si es realmente tiene un efecto significativo en estos padecimientos.

Reportar los cambios óseos posterior a la osteonecrosis por el uso de bifosfonatos por el uso de un antibiótico en específico, n grupo control y el uso de terapia láser y compararlo con el uso del Catdex.



## HIPÓTESIS.

Será posible obtener cambios óseos positivos al utilizar la poliguanadina conjugada en sitios de lesión por osteonecrosis mandibular inducida por bifosfonatos, para mejorar la calidad de hueso que se afecta.

*“Existirán otros compuestos químicos que funcionen de la misma manera o que tengan el mismo efecto que el Catdex”*

### Hipótesis nula

El láser, el Catdex no son un tratamiento efectivo para la osteonecrosis inducida por bifosfonatos.

### Hipótesis alterna

- A. La reducción de la infección por Streptococcus después de la osteotomía mandibular, puede reducir el riesgo de BONJ en ratas tratadas con bifosfonatos
- B. La infección por Streptococcus se puede reducir de manera efectiva en las ratas tratadas con bifosfonatos (ZA) usando la Fototermia láser, fotocoagulación o el Catdex y que éstos tratamientos son más eficaces que la terapia estándar con clindamicina.
- C. El Catdex es más efectivo para el tratamiento preventivo de la osteonecrosis de los maxilares inducida por bifosfonatos.
- D. La terapia láser es un mejor método para el tratamiento preventivo de la Osteonecrosis de los maxilares comparado con el Catdex.

E. La Antibioticoterapia vía intramuscular es más efectiva que el Catdex y la terapia laser en el tratamiento de la osteonecrosis de los maxilares inducida por bifosfonatos.

### **Objetivos Específicos.**

1.-Estudiar imagenológicamente el estado del hueso osteotomizado y al cual se le aplicó el medicamento bifosfonato para inducir la osteonecrosis mandibular, y al cual se le aplicaron diferentes medios terapéuticos para contrarrestarlo.

2.- Estudiar histopatológicamente el estado del hueso osteotomizado y al cual se le aplicó el medicamento bifosfonato para inducir la osteonecrosis mandibular, y al cual se le aplicaron diferentes medios terapéuticos para contrarrestarlo.

3.- Estudiar por medios de laboratorio como se altera la bioquímica sanguínea de los modelos murínicos posterior al uso de los diversos métodos para contrarrestar la osteonecrosis mandibular inducida por bifosfonatos.

4.- Estudiar por medios de laboratorio como se altera la biometría hemática sanguínea de los modelos murínicos posterior al uso de los diversos métodos para contrarrestar la osteonecrosis mandibular inducida por bifosfonatos.

5.- Estudiar por medios de laboratorio como se altera la las enzimas propias del metabolismo óseo de los modelos murínicos posterior al uso de los diversos métodos para contrarrestar la osteonecrosis mandibular inducida por bifosfonatos.

### **Clasificación del Estudio:**

- Experimental
- Longitudinal
- Comparativo

## ANTECEDENTES

### **OSTEONECROSIS MANDIBULAR POR MEDICAMENTOS (*MRONJ*).**

La osteonecrosis mandibular inducida por medicamentos, *MRONJ* por sus siglas en la lengua inglesa es un padecimiento que afecta a aquellos pacientes que consumen fármacos que generalmente son antirresortivos, los cuales los consumen por padecimientos que afectan al metabolismo óseo en cuanto a su proceso de reabsorción-neofromación. Antiguamente se le llamaba necrosis mandibular ósea inducida por bifosfonatos porque eran éstos los únicos medicamentos que se conocía que causaban este padecimiento, actualmente existen otros como el denosumab y los agentes antiangiogénicos que están compuestos por anticuerpos monoclonales y por lo tanto se camio el termino de 'bifosfonatos' por 'medicamentos' para englobar los fármacos que se acaban de mencionar entre otros.

El primer caso fue descrito en el 2003 por Marx en el que habla de una necrosis avascular en la mandíbula causada por el uso crónico de bifosfonatos y así el autor Migliorati le designo el nombre de oseteoquemonecrosis. El término *MRONJ* es como se mencionó el último término dsignado por la Asociación Americana de Cirugía Oral y Maxilofacial (AAOMS) y se diferencia de aquellos padecimientos que causan necrosis ósea mandibular posterior al uso de radioterapia o en casos de cáncer metastásico a hueso.

En este padecimiento lo que ocurre principalmente es que al existir una alteración en el recambio óseo en cuanto a metabolismo se trata, el hueso se vuelve más denso en su estructura, esto para prevenir el desgaste crónico de las enfermedades relacionadas que disminuyen la calidad ósea y proteger la estructura. Al ocurrir esto de igual manera los vasos sanguíneos que nutren al hueso y que le dan una estabilidad indirectamente se vuelven menos viables por lo que al momento de existir un traumatismo así sea leve se puede desarrollar un proceso metabólico óseo en el cual no exista una reparación correcta del mismo y por lo tanto causar esta necrosis. Dicho sea de paso, la mandíbula en el área maxilofacial es uno de los huesos más corticales y densos por lo que es el hueso que tiene una mayor predilección a sufrir este padecimiento.

Existen diferentes estrategias las cuales nos pueden ayudar a disminuir el riesgo de padecer esta enfermedad a consecuencia de los medicamentos antes mencionados, como puede ser el uso de antibióticos profilácticamente al momento de hacer un procedimiento dental principalmente.

## **CATDEX**

Se sabe que mas del 90% de la población en el mundo ha padecido en algún momento de su existencia una enfermedad o un desorden de carácter odontológico, los más comunes siendo la caries dental y la enfermedad que engloba al periodonto propiamente dicho. La bacteria que generalmente se aísla en estos casos de periodontitis crónica es la *P. gingivalis* mientras que la caries dental se relaciona principalmente por el *S. mutans* que ayuda a la aglomeración de placa dentobacteriana y es una de las bacterias comensales de la cavidad bucoental.

Uno de los tratamientos que se usa con regularidad, además del cepillado y de los medios físicos ya conocidos universalmente, es el uso de la clorhexidina que es un medicamento que no se consume vía oral pero si se utiliza tópicamente en forma de colutorios orales para disminuir el riesgo de las enfermedades anteriormente mencionadas, tiene un potencial tóxico muy leve cuando se emplea de manera adecuada, pero cabe recalcar que tiene otros efectos adversos como la pigmentación en el esmalte dental, irritación en la mucosa subyacente y alteraciones en los sentidos gustativos orales. Incluso se le conoce como un agente que puede producir efectos antígeno-anticuerpo en los pacientes, como son las alergias a los componentes. De igual manera otros efectos negativos es la citotoxicidad celular y la posibilidad de necrosis celular. Por último también se menciona en estudios de literatura científica que puede causar afección en las líneas celulares osteoblásticas, odontoblásticas y del periodonto e interferir en la correcta cicatrización de las heridas.

Una vez dicho todo esto, es importante recalcar que para que exista un pronóstico favorable al momento de tratar la osteonecrosis mandibular inducida por medicamentos es imperativamente necesario que ninguno de los efectos adversos de los mencionados anteriormente de la clorhexidina suceda, ya que pueden aumentar de gran manera la

vulnerabilidad del hueso afectado y dañar permanentemente a éste causando que el pronóstico y los tratamientos conservadores sean menos favorables. Por lo tanto y sabiendo que el uso de un antiséptico es importante para favorecer los tratamientos es necesario eliminar al mínimo estas adversidades para un mejor tratamiento.

El CATDEX es una macromolécula polidispersa con un peso de 55kD y una cadena de carbohidratos con múltiples grupos de guanidina a cada lado de esta cadena. Tiene una carga catiónica electroestática con una amplia gama de pHs y además es hidrofílica como característica. El CATDEX es un potente agente antitumoral en diversas líneas celulares de este tipo. Se menciona en la literatura que interactúa con los enlaces aniónicos de muchas de estas líneas celulares por lo que causa una internalización por el sistema poliamínico destruyendo las células tumorales en cuestión. Al igual que en las células tumorales también en las bacterias ocurre muerte celular por la carga negativa que presentan en su superficie bacteriana, que es causada por los lipopolisacáridos de la membrana.

Las bacterias mencionadas de la caries dental y la enfermedad periodontal, influyen enormemente en el progreso de la *MRONJ* ya que alteran la flora microbiana normal de la cavidad oral y al progresar en número causan un estado patológico que en el hueso enfermo o con poca vascularidad puede ser catastrófico. Se sabe que uno de los beneficios del CATDEX sobre la clorhexidina es que es menos tóxico y que la concentración no altera ninguna célula del cuerpo morfológicamente.

## **LÁSER**

Existen diferentes estrategias para el tratamiento de la *MRONJ*. Ruggiero et al (2007) reportó que el tratamiento se debe decidir dependiendo de la etapa clínica en la que se encuentra el paciente al momento de padecer la enfermedad, de las etapas que menciona este autor está la 0 (zero) la cual es aquella en que los pacientes toman fármacos antirresortivos o antiangiogénicos específicos pero no presentan hueso necrótico con exposición, los cuales no necesitan ningún tipo de tratamiento. En la etapa 1 (uno) se menciona aquellos pacientes que sí presentan una exposición de hueso necrótico pero que se encuentra asintomática, y no infectada por ningún motivo. Y en

estos casos se recomienda prescribir un colutorio antimicrobiano. En la etapa 2 (dos) se refiere a aquella que ya tiene hueso expuesto, se encuentra el paciente con sintomatología dolorosa y una infección concomitante de tejidos duros y/o blandos. En estos casos se utilizan medicamentos analgésicos, colutorios antimicrobianos e inclusive antibióticos sistémicos, con secuestrectomías adicionales. Por último en la etapa 3 (tres), se menciona que ocurre lo de la etapa 2 pero es más avanzado y además pueden ocurrir fistulas orocutáneas, fracturas patológicas, infecciones más diseminadas, entre otras, aquí el tratamiento es la debridación extensa, y la resección quirúrgica con alta tasa de morbilidad.

Mester et. al. (1971), describe el uso de la terapia con láser como un abordaje terapéutico para promover la regeneración tisular en tejidos afectados. La terapia de dosis bajas (*LLLT*) es una estrategia que se utiliza hoy en día para tratar la regeneración, tratar la sintomatología dolorosa y la curación adicional de las heridas que pudiera presentarse. Además es bioestimulante y antimicrobiano y aumenta la tasa de epitelización.

El láser de alta energía conocido como *Er: YAG* es un láser muy hidrofóbico por sus características en sus ondas, una de las características que pudiesen beneficiar en el tratamiento de la *MRONJ* es que puede abatir el hueso afectado sin causar daños térmicos de relevancia. En estudios más recientes se encontró que el método curativo más efectivo sigue siendo la cirugía de resección en casos selectos pero que el uso de láser mejora ampliamente los casos ya que minimiza el tiempo de recuperación y elimina restos óseos que pudiesen quedar en el área postquirúrgica en los externos lo que beneficia a la recuperación clínica (*Laser surgery un management of medication-related osteonecrosis of the jaws: a meta-analysis; Correa Momesso et al, 2020*).

## **BIFOSFONATOS**

Los bifosfonatos se usan en una amplia gama de enfermedades crónicas degenerativas que afectan al tejido óseo principalmente, entre ellas destacan la enfermedad de Paget

o osteopatía deformante, displasias esqueléticas como la osteogénesis imperfecta, enfermedades que alteran el metabolismo del calcio y principalmente la osteoporosis que es una enfermedad común en nuestro entorno. Si se usan de manera intravenosa es porque el paciente en cuestión presenta enfermedades oncológicas como tumores en hueso, o metástasis a distancias, mientras que aquellos pacientes que los usan en vía oral son aquellos que padecen osteoporosis normalmente. Estos fármacos generan una muerte celular programada de los osteoclastos.

## **COMPOSICION QUIMICA**

Los bifosfonatos presentan una estructura química que está compuesta por un enlace de fósforo-carbono-fósforo. Están unidos estos componentes fosfóricos covalentemente al carbono y por lo tanto su nombre bifosfonatos o difosfonatos, La cadena larga lateral define la composición química de estos y la cadena corta va a determinar su farmacocinética.

## **MECANISMO DE ACCIÓN**

Dentro de su mecanismo de acción se menciona que son similares a los pirofosfatos, pero a diferencia de éstos, los bifosfonatos no tienen un átomo de oxígeno, pero un átomo de carbono por lo que inhiben directamente aquellas enzimas que van a utilizar los pirofosfatos. Ambos grupos fosfatos que se encuentran unidos por el átomo de carbono funcionan de tal manera que coordinan o manipulan los iones de calcio y por lo tanto potencialmente se unen a ellos.

Al ser el tejido óseo el que más contiene este mineral es donde mayoritariamente se fija este fármaco. Una vez en el cuerpo lo que hace es que se va directamente a las células resorptivas, los osteoclastos y posteriormente éstos los liberan causando una disrupción enzimática intracelular alterando el metabolismo óseo en este punto.

Existen dos tipos de compuestos bifosfonados, el no-nitrogenado y el nitrogenado, ambos destruyen los osteoclastos. Los no nitrogenados se metabolizan en las células y reemplazan un grupo pirofosfato del ATP creando una molécula no funcional que compite



con las células encargadas de la energía. En este punto ocurre una muerte celular programada del osteoclasto y por consiguiente se obtiene una antiresorción ósea. Los del grupo nitrogenado se unen y bloquean la enzima farnesil sintasa difosfato en la vía de la coenzima A reductasa (o vía de mevalonato). Al unirse a esta vía se forman dos metabolitos que son necesarios para formar proteínas en la membrana celular. Esto afecta las proteínas internas del osteoclasto y las de su membrana perdiendo su funcionalidad.

## **EFFECTOS SECUNDARIOS**

El riesgo de *MRONJ* en pacientes que toman bifosfonatos depende del número de factores que lo afectan, principalmente si se toman vía intravenosa o vía oral, y el tiempo de consumo de ellos, adicionalmente la dosis empleada también juega un rol importante en el desarrollo de la patología.

Además de la ya conocida necrosis ósea causada por este medicamento, otros efectos secundarios de relevancia según la Academia Americana de Reumatología son calambres musculares y dolor, dolor al deglutir, dolor abdominal, náusea, cefaleas, y/o rash cutáneo. El ácido zoledrónico causa hipotensión arterial, letargo, mareos, debilidad, constipación digestiva y fiebre.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **UNIVERSO DE ESTUDIO**

Para este estudio en particular se utilizaron para la primera fase de la investigación experimental 36 ratas Wistar que contaban con ocho semanas de edad y las cuales fueron criadas en el CIDICS de la UANL, se utilizaron estos modelos murínicos porque se ha probado científicamente que tienen compatibilidad similar a diferentes funciones de los seres humanos y por lo tanto la experimentación en ellas puede ser mas adelante traspolada a estudios en pacientes humanos. Posteriormente ya en el estudio histopatológico, laboratorial y de imagenología del CBCT fueron se excluyeron algunos especímenes que perecieron durante el transcurso del modelo experimental de la primera fase quedando únicamente 30 ratas Wistar en total, 5 animales para cada grupo: CATDEX, terapia con láser, fototermia, antibiótico, fototermia, control positivo y control negativo.

### **Tamaño de la Muestra**

En esta segunda fase fueron 30 ratas Wistar en total, divididas en diferentes grupos de estudio las cuales fueron obtenidas del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

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

-Aleatoria

### **Características de los grupos experimentales y grupos control:**

#### **GRUPO CON TRATAMIENTO CON CLINDAMICINA**

Se estudiaron 6 ratas Wistar aleatoriamente a las cuales se les aplicó el fármaco bifosfonato de manera intravenosa en un período de seis semanas. Una vez realizado

esto se les procedió a realizar una osteotomía mandibular y se les inoculó el microorganismo *S. gordonii*. Lo anterior para provocar intencionalmente la osteonecrosis mandibular. Se les administró el medicamento antibiótico clindamicina de manera intramuscular y se tomaron los laboratoriales correspondientes para evaluar su evolución. Posteriormente se les sacrificó y se realizó estudios imagenológicos en tercera dimensión con un CBCT para evaluar las unidades Hounsfield que nos darán la densidad ósea en el área específica por medio de una medición perimetral y el estudio histopatológico correspondiente para evaluar la calidad ósea a nivel microscópico. De la misma manera se evaluará las posibles alteraciones en los valores del hemograma y bioquímica sanguínea. Durante esta fase únicamente se utilizaron para el estudio 5 de los 6 modelos murínicos ya que uno de ellos pereció durante la fase I experimental.

#### **GRUPO CON TRATAMIENTO CON LASER FOTOTÉRMICO**

Se estudiaron 6 ratas Wistar aleatoriamente a las cuales se les aplicó el fármaco bifosfonato de manera intravenosa en un período de seis semanas. Una vez realizado esto se les procedió a realizar una osteotomía mandibular y se les inoculó el microorganismo *S. gordonii*. Lo anterior para provocar intencionalmente la osteonecrosis mandibular. Se les administró la terapia de láser de fototermia en la región osteotomizada y se tomaron los laboratoriales correspondientes para evaluar su evolución. Posteriormente se les sacrificó y se realizó estudios imagenológicos en tercera dimensión con un CBCT para evaluar las unidades Hounsfield que nos darán la densidad ósea en el área específica por medio de una medición perimetral y el estudio histopatológico correspondiente para evaluar la calidad ósea a nivel microscópico. De la misma manera se evaluará las posibles alteraciones en los valores del hemograma y bioquímica sanguínea. Durante esta fase únicamente se utilizaron para el estudio 5 de los 6 modelos murínicos ya que uno de ellos pereció durante la fase I experimental.

#### **GRUPO CON TRATAMIENTO CON TERMOCOAGULACION**

Se estudiaron 6 ratas Wistar aleatoriamente a las cuales se les aplicó el fármaco bifosfonato de manera intravenosa en un período de seis semanas. Una vez realizado

esto se les procedió a realizar una osteotomía mandibular y se les inoculó el microorganismo *S. gordonii*. Lo anterior para provocar intencionalmente la osteonecrosis mandibular. Se les trató con fotocoagulación en el área afectada y se tomaron los laboratoriales correspondientes para evaluar su evolución. Posteriormente se les sacrificó y se realizó estudios imagenológicos en tercera dimensión con un CBCT para evaluar las unidades Hounsfield que nos darán la densidad ósea en el área específica por medio de una medición perimetral y el estudio histopatológico correspondiente para evaluar la calidad ósea a nivel microscópico. De la misma manera se evaluará las posibles alteraciones en los valores del hemograma y bioquímica sanguínea. Durante esta fase únicamente se utilizaron para el estudio 5 de los 6 modelos murínicos ya que uno de ellos pereció durante la fase I experimental.

#### **GRUPO CON TRATAMIENTO CON CATDEX**

Se estudiaron 6 ratas Wistar aleatoriamente a las cuales se les aplicó el fármaco bifosfonato de manera intravenosa en un período de seis semanas. Una vez realizado esto se les procedió a realizar una osteotomía mandibular y se les inoculó el microorganismo *S. gordonii*. Lo anterior para provocar intencionalmente la osteonecrosis mandibular. Se les administró la poliguanidina conjugada (CATDEX) de manera local y se tomaron los laboratoriales correspondientes para evaluar su evolución. Posteriormente se les sacrificó y se realizó estudios imagenológicos en tercera dimensión con un CBCT para evaluar las unidades Hounsfield que nos darán la densidad ósea en el área específica por medio de una medición perimetral y el estudio histopatológico correspondiente para evaluar la calidad ósea a nivel microscópico. De la misma manera se evaluará las posibles alteraciones en los valores del hemograma y bioquímica sanguínea. Durante esta fase únicamente se utilizaron para el estudio 5 de los 6 modelos murínicos ya que uno de ellos pereció durante la fase I experimental.

### **GRUPO CONTROL NEGATIVO:**

Se estudiaron 6 ratas Wistar aleatoriamente a las cuales no se les aplicó el fármaco bifosfonato ni se les realizó osteotomías mandibulares o inoculación del microorganismo *S. gordonii*. Lo anterior para provocar intencionalmente la osteonecrosis mandibular. Se les tomaron los laboratoriales correspondientes para evaluar su evolución. Posteriormente se les sacrificó y se realizó estudios imagenológicos en tercera dimensión con un CBCT para evaluar las unidades Hounsfield que nos darán la densidad ósea en el área específica por medio de una medición perimetral y el estudio histopatológico correspondiente para evaluar la calidad ósea a nivel microscópico. De la misma manera se evaluará las posibles alteraciones en los valores del hemograma y bioquímica sanguínea. Durante esta fase únicamente se utilizaron para el estudio 5 de los 6 modelos murínicos ya que uno de ellos pereció durante la fase I experimental.

### **GRUPO CONTROL POSITIVO:**

Se estudiaron 6 ratas Wistar aleatoriamente a las cuales se les aplicó el fármaco bifosfonato de manera intravenosa en un período de seis semanas. Una vez realizado esto se les procedió a realizar una osteotomía mandibular y se les inoculó el microorganismo *S. gordonii*. Lo anterior para provocar intencionalmente la osteonecrosis mandibular. A este grupo en específico no se dio tratamiento alguno. Posteriormente se les sacrificó y se realizó estudios imagenológicos en tercera dimensión con un CBCT para evaluar las unidades Hounsfield que nos darán la densidad ósea en el área específica por medio de una medición perimetral y el estudio histopatológico correspondiente para evaluar la calidad ósea a nivel microscópico. De la misma manera se evaluará las posibles alteraciones en los valores del hemograma y bioquímica sanguínea. Durante esta fase únicamente se utilizaron para el estudio 5 de los 6 modelos murínicos ya que uno de ellos pereció durante la fase I experimental.

**Efecto de las variables y resultados:**

- Densidad cuantitativa de especies bacterianas (posterior a la osteotomía mandibular).
- La tasa de la extensión de la osteonecrosis en el grupo de control positivo.
- Medición de la densidad ósea por medio de unidades Hounsfield con el software *i-Cat vision* de cada grupo por medio de una medición estandarizada perimetral de la zona afectada y tratada.
- Valoración de laboratoriales completos tanto de hemograma, bioquímica sanguínea y enzimas metabólicas propias de los tejidos óseos.
- Valoración clínica microscópica de los tejidos óseos afectados por medio de un microscopio convencional.

### **Métodos para la toma de medidas**

- Para la evaluación imagenológica en tercera dimensión CBCT se utilizó un aparato de cone-beam convencional, se les colocó a las ratas Wistar en posición y se les realizó los cortes axiales, sagitales y coronales respectivamente, para este punto del experimento los modelos murinicos en cuestión ya se habían sacrificado. Posteriormente con el software *i-Cat visión* se les realizaron medidas perimetrales del área osteotomizada y tratada posteriormente con los diversos métodos ya descritos y se evaluaron las unidades Hounsfield en 4 puntos para evaluar la densidad ósea.
- Para la toma de laboratoriales se realizó la toma de muestras sanguíneas posterior a la osteotomía mandibular y a la aplicación de bifosfonatos y su tratamiento según el grupo al que pertenecían. Posteriormente se les sacrificó para realizar las demás medidas.
- Para la evaluación histopatológica se realizaron una vez sacrificadas las ratas, la disección de las regiones mandibulares, se realizaron cortes y se procedió a la fijación de los tejidos de manera convencional, se estudiaron clínicamente los cambios presentes en las zonas afectadas y tratadas para estudiar microscópicamente los cambios óseos y bacteriológicos presentes.

### **MODELO ANIMAL GENERAL**

- **Modelo:**

-Modelo de rata Wistar a la que se le indujo intencionalmente osteonecrosis mandibular al aplicársele bifosfonatos, osteotomía e inoculación de un microorganismo.

- Se utilizaron para la primera fase 36 Ratas Wistar machos con 8 semanas de edad respectivamente para la primera fase.

- Se tomó un tiempo de dos semanas para la aclimatación.

• **Anestesia:**

Intraperitoneal para sedación con pentobarbital

• **Protocolo de tratamiento:**

-**Semanas 1-6:** la administración de los bifosfonatos intravenosa por la vena caudal de la Rata Wistar, una vez por semana (1 mg / kg)

-**Semana 5:** Toma de muestra bacteriana antes y después de la inoculación. En primer lugar, la inoculación bacteriana se realiza antes de la simulación de la extracción del diente mediante una osteotomía mandibular, posteriormente se procede a la inoculación de bacterias diario durante una semana.

-**Semana 6:** Administración del tratamiento por grupo Clindamicina, Fotocoagulación, laser Fototérmico, Catdex. (ver diagrama)

-**Semana 7:** La eutanasia y el tejido obtenido para su análisis de datos mediante imagenología 3D (Cone Beam).

• **Post-operatorio manejo del dolor:** Antiinflamatorio no Esteroideo

• **Las técnicas quirúrgicas:** osteotomía mandibular intraoral

• **Criterios para la eliminación de estudio:** rata pierde 20% de su peso,

• **La eutanasia:** sobredosis de anestesia.





**Figura 2.- Diagrama del protocolo de osteonecrosis mandibular inducida por bifosfonatos en ratas Wistar**

**Criterios de Selección:**

**a) Criterios de inclusión**

- Ratas de la misma raza y edad
- Ratas sanas sin presencia de antecedentes patológicos

**b) Criterios de exclusión**

- Ratas que presenten alguna patología.
- Ratas con presencia de infecciones previas.
- Ratas con edad o raza diferente a la indicada.
- Ratas que nazcan con algún defecto congénito.

**c) Criterios de eliminación**

1. Ratas que presenten desnutrición o peso inadecuado.

## DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO

Para la realización del estudio se tomó como población un grupo de 36 ratas Wistar, a quienes se le realizó el siguiente procedimiento:

1.- se alimentaron, y cuidaron a las ratas hasta que alcanzaran un peso ideal de 250mg a 300mg y que tuvieran 8 semanas de edad.

Todos los días se les dio 20 gr de alimento, agua y se les aseaba el área en donde se encontraban con la finalidad de que se aclimataran.

2.-Se separaron en 6 grupos de 6 ratas cada uno aleatoriamente:

- Grupo control positivo
- Grupo control negativo
- Grupo que será tratado con Clindamicina
- Grupo que será tratado con Fototermia
- Grupo que será tratado con Fotocoagulación Laser
- Grupo que será tratado con Catdex

3.- Se separaron y colocaron en jaulas colectivas para ratas, identificándolas con colores y números para poder diferenciar de forma adecuada a cada uno de los grupos.

4.- Se administró el bifosfonato (Ácido Zolendrónico) por vía intravenosa en una dosis de 1 mg/kg por la vena caudal de la rata Wistar a los grupos experimentales una vez por semana durante 6 semanas, con la ayuda de un médico Veterinario Zootecnista y con un adecuado manejo de animales, y las condiciones adecuadas.

5.- A la quinta semana, primero se tomó un cultivo bacteriano intraoral y posteriormente se inocularon a cada uno de los grupos experimentales *S. gordonii* intraoralmente mediante una pipeta colocando 100 ug de *S. gordonii* (24 horas previas a la realización de la osteotomía mandibular).

6.- se administró anestesia general a cada una de las ratas para la realización de la osteotomía mandibular a nivel del primer molar inferior izquierdo con ayuda de un médico veterinario zootecnista

Para trabajar con los animales in vivo es necesario el uso de anestésicos para sedarlos y poder realizar la osteotomía mandibular.

Los anestésicos que comúnmente se utilizan en veterinaria son:

**Derivados de los opiáceos:** producen poca relajación muscular. Por ejemplo: fentanilo, sulfentanilo, bupremorfina).

**Benzodiacepinas:** son fármacos que si producen relajación muscular. Por ejemplo: Diazepan, Midazolam.

**Ketamina:** produce poca relajación muscular y tiene un efecto analgésico.

**Atropina:** es una inhibidora competitiva de la acetilcolina (neurotransmisor). Este fármaco no es anestésico, pero tiene propiedades inhibitorias de 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).

**Pentobarbital:** las dosis suministradas son de entre 20-60 miligramos por kilogramo de peso, pero pueden producir una depresión respiratoria en el animal, así que debe de administrarse con mucho cuidado.

Este medicamento fue elegido para la realización de este estudio debido a su rápida acción y duración media para nuestra muestra.

**Uretano:** es un anestésico estable durante periodos 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, también produce daños irreversibles en el cerebro.

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

### **Vías de Administración:**

Describiremos a continuación las vías de administración más comunes para la utilización de fármacos anestésicos en roedores:

- **Intravenosa:** se inyecta el fármaco en la vena caudal del roedor. Es necesario provocar una 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 calibre corto y la punción, se hace en la parte caudal izquierda del abdomen.
- **Intramuscular:** se coloca el fármaco en el bíceps femoral o en el glúteo. La aguja debe ser de poco calibre y para corroborar de que el fármaco se haya infiltrado correctamente, se suele aspirar una pequeña cantidad después de la inyección.
- **Subcutánea:** se retrae un poco la piel de la parte posterior del cuello del roedor y se coloca en esa zona el fármaco, suele formar edema que va a ir desapareciendo conforme el cuerpo absorba el fármaco.
- **Intragástrica:** muy usada cuando se administran suspensiones sedantes.

7.- Después de colocar la anestesia intraperitoneal con pentobarbital, se procedió a colocar un abre bocas en el roedor, posteriormente realizamos una osteotomía con ayuda de una fresa redonda número 6 y un micromotor quirúrgico en la región de primer molar inferior izquierdo simulando una extracción dental.

8.- Se inoculó *S. gordonii* de manera directa en la región afectada en una cantidad de 100 ug por roedor con ayuda de una micropipeta. Dicha bacteria se continuó inoculando mediante la colocación de *S. gordonii* en el alimento del roedor durante una semana.

9.- Se administró el tratamiento seleccionado para cada grupo experimental (Catdex, Fotocoagulación con láser, Láser Fototérmico, Clindamicina)

10.- Posterior a la séptima semana, se realizó la eutanasia mediante la administración de pentobarbital a dosis altas.

11.- Se tomó la Imagenología en 3D (Cone Beam) para observar sus cortes axiales, sagitales y coronales de cada rata Wistar y poder comparar la densidad ósea de la región mandibular izquierda (afectada) con la región mandibular derecha (no afectada).

12.- Se obtuvieron los resultados y se compararon los datos por cada grupo experimental.

A nivel laboratorio:

**Las 36 ratas se dividirán es 6 grupos experimentales:**

- El primer grupo constara de 6 ratas Wistar, se administró bifosfonato intravenoso y se utilizó Catdex como tratamiento.
- El segundo grupo constara de 6 ratas Wistar, se administró bifosfonato intravenoso y se utilizó Fototermia láser como tratamiento.
- El tercer grupo constara de 6 ratas Wistar, se administró bifosfonato intravenoso y se utilizó Termocoagulación como tratamiento.
- El cuarto grupo constara de 6 ratas Wistar, se administró bifosfonato intravenoso y se utilizó Clindamicina como tratamiento.

- El quinto grupo constará de 6 ratas Wistar, a las cuales se le administró bifosfonato intravenoso sin recibir farmacoterapia (grupo control positivo)
- El sexto grupo constara de 6 ratas Wistar, a las cuales no se le realizó ningún tratamiento (grupo control negativo).

Las dosis de cada medicamento administrado 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 del anestésico y/o relajante muscular.

### **TÉCNICA DE APLICACIÓN DEL BIFOSFONATO INTRAVENOSO**

- Con la ayuda del Veterinario encargado del cuidado de las ratas, se sostenía a cada una de ellas de manera individual, y se colocaba en una caja de acrílico especial para ratas para que permanecieran inmóviles y que la cola estuviera expuesta para una adecuada identificación de la vena caudal.
- Se realizó la tricotomía de la cola de la rata para una adecuada visualización de la vena caudal
- Se colocó alcohol con ayuda de una torunda de algodón en el sitio de la punción, para que el operador inyectara el Ácido Zolendrónico en una dosis de 1 mg por kilogramo de peso con ayuda de una jeringa de 1 ml.  
Previa infiltración se tenía que aspirar para corroborar el sitio de punción adecuado.
- La infiltración del bifosfonato (Ácido Zolendrónico) se realizó una vez por semana durante 6 semanas.

### **TÉCNICA PARA LA ANESTESIA GENERAL Y OSTEOTOMÍA MANDIBULAR**

- Se aplicó una dosis de Xilacina (Relajante Muscular) a cada una de las ratas para facilitar la manipulación de estas.
- Se colocó la anestesia intraperitoneal con fenobarbital (25-40 mg/kg peso)
- Esperamos a que hiciera efecto el anestésico colocado.
- Se colocó un abre bocas en el roedor, posteriormente se realizó una osteotomía con ayuda de una fresa redonda número 6 y un micromotor quirúrgico en la región de primer molar inferior izquierdo simulando una extracción dental.
- Se inoculó *S. gordonii* de manera directa con ayuda de una micropipeta en el lugar de la osteotomía mandibular (100ug)

Taxon	Barbitúrico (Pentobarbital sodico)	Thopental (pentotal)	Ketamina	Uretano	Exobarbital	Thiamynal
Rata	25 * IV 40-50 * IP	20 * IV 40 * IP	22-44 * IM	0.75 * IP	200 * IP	40-70 * IV SOL AL 1 %
Ratón	35 * IV 40- 50 * IP	25 * IV 50 * IP	22-44 * IM		200 * IP	
Hamster	35-40 *IP	20 * IV 40 * IP	22-44 * IM			
Cobayo	30 * IV 40 * IP	20 * IV 40-50 * IP	22-44 * IM	1.5* IP	200 * IP	
Conejo	30 * IV 30 * IP	20 * IV	22-44 * IM	1.0 * IV 1.0 * IP	40 * IV	45-60 * IV SOL AL 2 %

IV = intravenosa IP= intraperitoneal IM = intramuscular 25\* = mg/kg de peso vivo

Tabla1.- Anestésicos recomendados para animales con fines de experimentación y enseñanza dependiendo del taxón/especie (Olivares, 1996)





Figura 4 y 5.- Infiltración del Ácido Zolendrónico por la vena caudal de la rata Wistar a una dosis de 1 mg/ kg de peso.



Figura 6 y 7.- Infiltración de Pentobarbital sódico en la región intraperitoneal de la Rata Wistar a una dosis del 25-40 mg/kg peso.



Figura 8.- Toma de cultivo intraoral en región retromolar de la rata Wistar previo a la osteotomía Mandibular.



Figura 9 y 10.- Zona de la osteotomía mandibular izquierda con una fresa redonda de carburo número 6.



Figura 11 y 12.- Láser Fox, A.R.C. de la empresa de Kevort Instruments para la realización de la Fototermia láser y fotocoagulación.



Figura 13 y 14.- Colocación de la fotocoagulación laser en la región de la osteotomía mandibular izquierda



Figura 15 y 16.-Zona de la osteotomía mandibular izquierda antes y después de la colocación de la fotocoagulación láser.



Figura 17 y 18.- Colocación del material EmunDo en la zona de la osteotomía mandibular izquierda para el grupo experimental de ratas Wistar cuyo tratamiento es el de Fototermia láser.

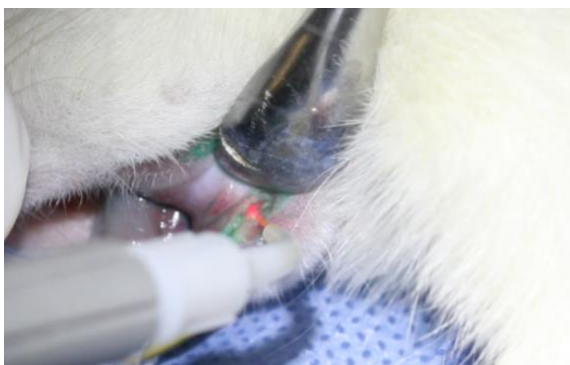


Figura 19 y 20.- Activación del material EmunDo en la zona de la osteotomía mediante láser Fototérmico, formando una capa protectora en la zona afectada.



Figura 21 Y 22.- Colocación de la poliguanidina conjugada (Catdex) de manera directa en el lugar de la osteotomía mandibular.



Figura 23 y 24.-Inoculación directa de *S. gordonii* en la zona de la osteotomía mandibular izquierda mediante la utilización de una micropipeta.



Figura 25.- Toma de cultivo bacteriano intraoral una semana posterior a la inoculación / osteotomía mandibular.



Figura 26.- Retraso en la cicatrización a las 3 semanas de realizada la osteotomía mandibular izquierda.

## RESULTADOS

En nuestro modelo de investigación animal (rata Wistar) se observó clínicamente que la administración de Ácido Zolendrónico por vía intravenosa durante cuatro semanas y 3 semanas después de la osteotomía en la región mandibular del lado izquierdo, hubo alteraciones clínicas como el retraso en la cicatrización con ligera exposición de tejido óseo con inflamación y ligera epitelización en la periferia de la osteotomía (observar figura 26). Situación compatible con Osteonecrosis mandibular por bifosfonatos similar a la que se produce en humanos según la Asociación Americana de Cirugía Oral y Maxilofacial.

Con las dosis y tiempos empleados en nuestro estudio hubo cambios en la densidad ósea del lado izquierdo (lado afectado) en comparación con el lado derecho (lado no afectado) como consecuencia de la administración por vía intravenosa del bifosfonato (Ácido Zolendrónico), ya que según la literatura, la administración por vía intravenosa tiene mayor incidencia de presentar Osteonecrosis mandibular y alteraciones sistémicas, comprobamos los cambios en la densidad ósea mediante las unidades Hounsfield de la

imagenología en 3D (Cone Beam) . Cabe mencionar que diversos estudios realizados anteriormente en ratas, el bifosfonato fue administrado por vía subcutánea, por lo tanto, no se reportaron alteraciones radiológicas ni histopatológicas (Moñivas Palomero , García López et al 2015).

## **TÉCNICA PARA EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO.**

Para realizar el estudio histopatológico en cuestión se recurrió a utilizar los medios clásicos de fijación de los tejidos para evaluarlos mediante microscopía convencional óptica.

- En primera instancia se realizó la disección de los tejidos mandibulares óseos una vez que la rata ya había sido sacrificada para su estudio.
- Se procede a realizar el paso crítico de la fijación histológica por medio de inmersión, perfusión con formaldehído y lavado con agua, repitiendo estos pasos en algunos casos para una mayor nitidez.
- Posterior al paso descrito con anterioridad se procede a realizar la etapa de inclusión en la cual se deshidratan los tejidos óseos a evaluar, en este paso de segunda etapa se procede a usar xiloles y alcoholes crecientes para luego utilizar una parafina de grado médico para poder realizar múltiples cortes posteriores. Al final de este paso se realiza la congelación.
- En la siguiente etapa de este proceso de estudios histopatológicos se realiza la microtomía o los cortes múltiples de los tejidos ya que se sabe que un solo corte en ocasiones no nos da una nitidez o un claro ejemplo de lo que queremos o buscamos observar en el estudio. Nos brinda la oportunidad de elegir entre diferentes cortes del mismo tejido la mejor muestra. Estos cortes se realizan en la parafina y varían en un grosor de 8 a 12 micrometros.
- Por último se realiza la coloración en la que se procede a una desparafinación con xiloles crecientes y una hidratación ulterior con alcoholes decrecientes y el uso de la tinción Hematoxilina y Eosina.
- Una vez obteniendo las laminillas para el estudio se procedió a estudiar mediante microscopía óptica los cortes correspondientes evaluando lo siguiente:



- Hueso nuevo
- Hueso neoformado
- Bcaterias
- Necrosis ósea
- Lo anterior correlacionándolo con valores clínicamente visibles como escaso, moderado, abundante o normal.

## **TÉCNICA PARA EL ESTUDIO IMAGENOLÓGICO EN 3D CBCT.**

**Hablar con raul perales.**

## **TÉCNICA PARA OBTENER LOS LABORATORIALES.**

Para poder obtener contenido hematólogico de los modelos murinicos a estudiar se emplearon dos métodos para obtener el contenido y analizar posteriormente los valores que buscamos investigar así como los cambios presentes posterior al uso de bifosfonatos y los diferentes tratamientos a estudiar.

- Uno de los métodos fue el de la punción cardíaca directa en la rata Wistar. En este método para obtener sangre se realizó de la siguiente manera: Una vez que el animal se encontraba anestesiado y comprobando que se encontraba en plano profundo anestésico, como comprobando la falta de reflejos en la digitopresión de la almohadilla plantar, se coloca a la rata Wistar en posición decúbito supino, se utilizó una jeringa de 5ml/ aguja 23G y se localizó la apófisis xifoides del esternón. Posterior a esto se puncionó lateralmente a esta en dirección cráneo-vertebral en ángulo de treinta grados haciendo presión negativa hasta obtener el contenido hemático deseado. Por último, se le realizaba la eutanasia a la rata.
- El otro método empleado fue por medio de la sección de cola en el cual se anestesia al modelo murinico en cuestión se coloca a la especie en un dispositivo de inmovilización. Se le aplica calor en la cola por 10 minutos y se desinfecta de heces u orina que pudiera estar presente con alcohol al 70% hasta que este se

evapore. Con un bisturí #15 se realiza un corte perpendicular a este 2mm desde el extremo de la cola. Después de aplicar una presión proximal al corte y se recoge el contenido hemático en los tubos. Se realiza al último la hemostasia mediante presión con gasa estéril por cerca de 1 minuto.

- Después de la toma de muestras sanguíneas y con la eutanasia de los modelos murínicos se procedió a realizar las pruebas sanguíneas de biometría hemática completa, bioquímica sanguínea y enzimas de metabolismo óseo.

## RESULTADOS.

Dentro de los resultados obtenidos posterior a la eutanasia de los modelos murínicos se obtuvo la siguiente información relevante para el estudio:

### Resultados Histopatológicos clínicos.

1	Laminilla	HNv (+,1)	HNv (-,0)	HNF (E,1)	HNF (M,2)	HNF (A,3)	B (E,1)	B (M,2)	B (A,3)	NOs(Nml,1)	NOs (Ab, 2)
2	R1 CTX	1					3	1			2
3	R2 CTX	1					3	1			1
4	R3 CTX	1					3	1			1
5	R4 CTX	1					3	1			1
6	R5 CTX	1					3	1			1
7	R6 CTX	1					3	1			1
8	Ctri 25 +	1					3	1			1
9	Ctri 26 +	1					3	1			2
10	Ctri 27 +	1					3	1			1
11	Ctri 28 +	1					3	1			1
12	Ctri 29 +	1			2			1			1
13	Ctri 35 +	1					3	1			1
14	Ctri 31 C-P	1					3	1			1
15	Ctri 28 C+P	1			2			1			1
16	R 32 C-	1			2				2		2
17	R 33 C-	1			2				2		2
18	R34 C-	1			1				2		2
19	R 36 C-	1			1				2		2
20	R20 AB	1			1				2		2
21	R22 AB	1			1				2		2
22	R23 AB	1			1				2		2
23	R9-FOT	1				2		1			1
24	R9-FOT	1					3	1			2
25	R14-FT	1			1			1			2
26	R15-FT	1					3	1			1
27	R16-FT	1				2		1			2
28	R17-FT	1					3		2		1
29	R2 FC			0			3	1			1
30	R31 C-P			0		1		1			2

De la tabla anteriormente expuesta se obtiene la siguiente información relevante.

- En 28 de 30 laminillas estudiadas pudimos observar hueso nuevo estable de manera escasa pero constante. En las únicas dos laminillas que no se obtuvo este resultado fueron en una que fue tratada con fotocoagulación y un control negativo (-) las cuales demostraron la ausencia de hueso nuevo estable.

- Dentro del estudio de hueso neoformado (células osteoblástica presentes en mayor cantidad que células del tipo osteocito) encontramos una escasa neoformación en 6 laminillas de las cuales fueron 2 de control negativo, 3 de antibiótico y 1 de fototerapia.
- En las laminillas que observamos hueso neoformado de manera moderada fueron en 7, siendo estas 2 controles positivos, 3 controles negativos, y 2 de fototerapia.
- En las laminillas que observamos hueso neoformado de forma abundante fueron todos los grupos totales de en los que se utilizó el compuesto CATDEX, en 5 laminillas de control positivo, en un control negativo, en 3 laminillas de fototerapia y en una de fotocoagulación.
- En cuanto a la cantidad clínica de bacterias por campo presentes en las laminillas pudimos encontrar que, en todos los grupos en los cuales se utilizó CATDEX tuvimos una escasa nula concentración bacteriana, además se suma a esto los controles positivos, 2 laminillas de control negativo, el grupo de fototerapia completo y una laminilla de fotocoagulación.
- En las laminillas que encontramos cantidades de bacterias de manera moderada fueron en 4 laminillas de control negativo, 2 laminillas en las que se utilizó el antibiótico clindamicina y 1 laminilla que se utilizó la terapia de láser de fototerapia.
- No se encontraron en ninguno de los casos abundantes bacterias.
- En cuanto a la valoración clínica microscópica de la necrosis ósea presente encontramos presencia de necrosis del hueso normal en 5 laminillas a las que se les administró CATDEX, en 6 laminillas de controles positivos, en 3 laminillas de terapia con fototerapia en 1 de fotocoagulación.
- En cuanto a la valoración de la necrosis ósea que se considero anormal o abundante como característica clínica, se presentó en 1 laminilla en la que se utilizó el CATDEX, 1 laminilla de control positivo, 5 laminillas de control negativo, 3 laminillas del antibiótico clindamicina y en 3 laminillas en las cuales se empleó la terapia de fototerapia.

## Resultados de CBCT 3D (unidades Hounsfield para la valoración de densidad ósea).

1	CATDEX2	Mean	SD	HU min	HU max	Area
2	1	1352	314.1	522	1656	5.8
3	2	853	438.7	20	1387	5.6
4	3	387	475.2	114	1326	5.8
5	4	1345	83.6	1229	1501	5.6
6						
7	CATDEX3	Mean	SD	HU min	HU max	Area
8	1	1243	160.7	569	1405	5.6
9	2	882	426.7	7	1408	5.8
10	3	143	378.6	484	840	5.8
11	4	1414	91.1	1247	1604	5.8
12						
13	CATDEX4	Mean	SD	HU min	HU max	Area
14	1	1303	127	1034	1452	5.8
15	2	925	421.2	139	1434	5.8
16	3	497	432	184	1215	5.8
17	4	1923	94.6	1155	1483	5.8
18						
19	CATDEX5	Mean	SD	HU min	HU max	Area
20	1	1230	39.5	1066	1292	5.8
21	2	1030	87	811	1141	5.8
22	3	602	365.1	227	1045	5.8
23	4	1367	50	1235	1444	5.8
24						
25	CATDEX6	Mean	SD	HU min	HU max	Area
26	1	1377	57	1220	1466	5.6
27	2	781	436.3	31	1360	5.6
28	3	422	446	124	1125	5.8
29	4	1296	65.9	1185	1401	5.8
30						
31	ANTIBIOT2	Mean	SD	HU min	HU max	Area
32	1	1438	154.5	1147	1679	5.6
33	2	854	600.7	52	1615	5.6
34	3	394	483.4	55	1322	5.6
35	4	1547	56.5	1456	1681	5.6
36						
37	CTRL +25	Mean	SD	HU min	HU max	Area
38	1	1238	249.4	349	1407	5.6
39	2	928	348.3	77	1304	5.8
40	3	547	494.2	157	5.8	
41	4	1302	59.3	1193	1434	5.8
42						
43	CTRL +26	Mean	SD	HU min	HU max	Area
44	1	1162	81	1024	1343	5.8
45	2	745	405.6	50	1246	5.8
46	3	83	275.8	240	746	5.6
47	4	1295	77.3	1192	1471	5.8
48						
49	CTRL +27	Mean	SD	HU min	HU max	Area
50	1	1174	155.4	644	1337	5.6
51	2	767	408.4	41	1235	5.8
52	3	427	355.4	112	1034	5.6
53	4	1343	39.9	1282	1428	5.6
54						
55	CTRL +28	Mean	SD	HU min	HU max	Area
56	1	1367	45.5	1270	1443	5.8
57	2	1158	102.2	847	1332	5.8
58	3	966	290.6	410	1342	5.8
59	4	1386	75.6	1263	1545	5.6
60						
61	CTRL +29	Mean	SD	HU min	HU max	Area
62	1	1373	112.7	1077	1544	5.8
63	2	816	327.5	398	1414	5.8
64	3	711	350.7	251	1257	5.6
65	4	1586	64.9	1500	1761	5.8
66						
67	CTRL +35	Mean	SD	HU min	HU max	Area
68	1	1426	107.3	1292	1649	5.8
69	2	991	408.4	152	1435	5.8
70	3	250	418.7	130	1123	5.8
71	4	1480	41	1395	1585	5.6
72						
73	CTRL -31	Mean	SD	HU min	HU max	Area
74	1	1430	44.3	1338	1525	5.8
75	2	1286	84.9	1134	1485	5.8
76	3	1080	262.7	176	1342	5.6
77	4	1300	191.4	618	1520	5.8
78						
79	CTRL -32	Mean	SD	HU min	HU max	Area
80	1	1309	127.8	839	1426	5.6
81	2	1046	407.3	235	1461	5.6
82	3	458	434.2	178	1239	5.8
83	4	1451	69	12996	1576	5.8
84						
85	CTRL -33	Mean	SD	HU min	HU max	Area
86	1	1427	83.7	1238	1568	5.8
87	2	1171	283.8	405	1486	5.8
88	3	404	484.2	78	1390	5.8
89	4	1331	55	1232	1459	5.8
90						
91	CTRL -34	Mean	SD	HU min	HU max	Area
92	1	1341	112.6	925	1527	5.8
93	2	1058	275	385	1435	5.6
94	3	797	498.1	111	1467	5.8
95	4	1349	43.9	1262	1433	5.8
96						
97	CTRL -36	Mean	SD	HU min	HU max	Area
98	1	1392	80.7	1196	1561	5.8
99	2	1121	221	544	1396	5.8
100	3	780	337.9	384	1430	5.6
101	4	1460	32.6	1377	1522	5.8
102						

De las tablas expuestas anteriormente se puede expresar la siguiente información de relevancia para nuestro estudio.

- En 5 tomografías en las cuáles se estudiaron las densidades óseas posterior al uso de CATDEX por medio de unidades Hounsfield tomadas perimetralmente en cuatro puntos de 5.8 milímetros cuadrados para determinar y estandarizar las densidades de manera más efectiva y uniforme podemos determinar que en el

área ostoetomizada donde fue la medición encontramos que en 2 casos encontramos tres unidades inferiores a los valores normales hueso en unidades Hounsfield, en otros 2 casos encontramos dos valores inferiores a los normales y en 1 caso encontramos un valor únicamente inferior a la norma.

- En la tomografía que se estudio la densidad ósea posterior al uso del antibiótico clindamicina por medio de unidades Hounsfield tomadas perimetralmente en cuatro puntos de 5.8 milímetros cuadrados para determinar y estandarizar las densidades de manera más y uniforme podemos determinar que en el área ostoetomizada donde fue la medición encontramos que existieron 2 valores inferiores a la norma.
- En 6 tomografías en las cuáles se estudiaron las densidades óseas posterior a la eutanasia de los modelos murínicos a los cuales no se les aplicó ningún tratamiento posterior a la inducción de necrosis ósea por bifosfonatos(grupo control positivo) por medio de unidades Hounsfield tomadas perimetralmente en cuatro puntos de 5.8 milímetros cuadrados para determinar y estandarizar las densidades de manera más efectiva y uniforme podemos determinar que en el área ostoetomizada donde fue la medición encontramos que en 2 casos encontramos tres unidades inferiores a los valores normales hueso en unidades Hounsfield, en otros 2 casos encontramos dos valores inferiores a los normales y en 1 caso encontramos un valor únicamente inferior a la norma.
- En 5 tomografías en las cuáles se estudiaron las densidades óseas del grupo de control negativo por medio de unidades Hounsfield tomadas perimetralmente en cuatro puntos de 5.8 milímetros cuadrados para determinar y estandarizar las densidades de manera más efectiva y uniforme podemos determinar que en el área ostoetomizada donde fue la medición encontramos que en 4 casos encontramos dos unidades inferiores a los valores normales hueso en unidades Hounsfield, en 1 caso encontramos tres valores inferiores a los normales.
- Nackaerts O, Maes F, Yan H, Couto Souza P, Pauwels R, Jacobs R. Analysis of intensity variability in multislice and cone beam computed tomography. Clin Oral Implants Res.2011;22(8):873-9.
- Reeves TE, Mah P, McDavid WD. Deriving Hounsfield units using grey levels in cone beam CT: a clinical application. Dentomaxillofacial Radiology 2012 41, 500–8.

- Silva IMCC, de Freitas DQ, Ambrosano GMB, Bóscilo FN, Almeida SM. Bone density: comparative evaluation of Hounsfield units in multislice and cone-beam computed tomography. Braz Oral Res 2012 ;26(6):550-6.
- White SC, Pharoah MJ. Oral radiology. Principles and interpretation. 4th edition, 2000. Mosby, Saint Louis, Missouri, USA

## Resultados laboratoriales.

Para los resultados laboratoriales posterior a la toma de contenido hemático ya descrito anteriormente se realizó el estudio de la bioquímica sanguínea, incluyendo las enzimas responsables del metabolismo óseo y se tomó un hemograma o biometría hemática completa de igual manera. Lo anterior para evaluar los cambios significativos para nuestro estudio en cuanto a los valores de las células responsables del control de infecciones bacterianas, así como aquellas enzimas que se modifican en sus valores cuando hay recambios óseos y su metabolismo en cuestión.

1	ANIMAL	PROTEINA UJ	ALBUMINA	GLUCOSA	UREA	CREATININA	AST	ASG	ALCALO	FOSF	UREA	COLESTE	K	BILIRUBIN	AMILASA
2	RATA	MG/DL	MG/DL	MG/DL	MG/DL	U/L	U/L	U/L	MG/DL	MG/DL	MG/DL	MG/DL	MEQ/DL	MG/DL	U/L
3	VALOR REFEREN	5.6-7.6	3.8-4.8	50-135	15-21	0.2-0.8	17.5-30.2	45.7-80.8	56.8-128	7.2-13	3.11-11	40-130	143-156	5.4-7	0.2-0.55
4	GRUPO 1 CATDEX														
5	1	7.7	4.5	80	18	0.4	22.4	78.4	90.6	10	7.6	90	120	6	0.42
6	2	6.8	3.9	78	16	0.6	26	56	122	9.8	6.4	78	130	5.8	0.3
7	3	6.5	3.7	72	19	0.7	20	48	110	10.9	7.1	94	122	5.7	0.32
8	4	7.1	4	94	18	0.3	22	71	114	11.1	7.3	88	124	6	0.33
9	5	6.9	4.2	98	20	0.5	27	73	116	11.3	7.5	85	121	5.9	0.28
10	GRUPO 2 TX LASER														
11	6	7.8	3.9	93	17	0.5	23	79	124	12.1	4.2	65	134	5.9	0.26
12	7	7.6	3.4	101	18	0.4	18	77	127	11.9	4.1	79	124	6.3	0.28
13	8	6.9	4.1	78	20	0.6	26	69	129	12.4	3.6	60	130	6.4	0.32
14	9	6.4	3.6	84	19	0.3	29	68	120	11.7	4.3	75	133	6.1	0.27
15	10	7.1	3.9	105	22	0.4	24	77	124	11.5	4.6	68	140	5.8	0.28
16	GRUPO 3 TX FOTOTERMIA														
17	11	7.4	4.7	98	16	0.3	22	80	126	10.9	6.8	66	139	6.6	0.3
18	12	6.9	4.9	108	19	0.3	27	79	129	11.3	5.9	80	141	5.9	0.2
19	13	7.1	4.3	105	20	0.2	19	76	115	10.1	6.1	81	138	5.6	0.35
20	14	6.8	4.8	99	17	0.3	18	78	119	10.7	5.8	69	145	6.2	0.25
21	15	7.1	4.4	98	19	0.2	19	82	124	10.9	5.7	72	144	5.9	0.3
22	GRUPO 4 ANTIBIOTICO														
23	16	7.8	3.9	105	18	0.4	19	50	65	9.8	5.6	80	149	6.3	0.3
24	17	7.1	4.1	98	16	0.3	25	64	72	10.2	5.1	70	144	6.1	0.4
25	18	6.8	4.6	108	19	0.4	30	78	60	10.9	4.9	88	153	5.9	0.2
26	19	7.7	4.2	110	16	0.2	26	72	68	9.9	5.6	98	135	6.2	0.4
27	20	7.6	4.3	96	17	0.3	27	78	85	10.2	5.2	89	132	5.8	0.3
28	GRUPO 5 CONTROL +														
29	21	7.6	4.2	110	19	0.5	28	79	130	6.9	10.3	76	138	6	0.2
30	22	6.9	5	113	18	0.3	30	78	124	7.3	9.9	63	134	5.8	0.3
31	23	7.4	5.4	98	17	0.2	29	77	122	7.8	9.6	72	141	6.1	0.3
32	24	7.5	4.3	115	19	0.3	33	79	126	6.8	10.7	76	144	5.9	0.3
33	25	7.1	4.9	105	16	0.4	32	77	129	6.2	10.8	73	133	6.2	0.2
34	GRUPO 6 CONTROL -														
35	26	6.7	4.1	96	17	0.2	18	65	65	8.5	5.9	85	146	6.1	0.3
36	27	6.9	4.6	95	18	0.2	22	72	68	7.8	6.3	89	147	6.3	0.2
37	28	7.1	4	101	19	0.3	24	68	79	8.4	5.6	92	136	5.9	0.2
38	29	7	4.1	104	18	0.2	26	69	72	8.2	5.3	102	138	6.2	0.2
39	30	6.8	4.6	98	18	0.3	27	73	79	7.9	5.1	98	134	5.6	0.3

1	ANIMAL	GLÓBULOS ROJOS	HT	HG	LEUCOCITOS TOT/ GRANULOCIT	LINFOCITOS	EOSINOFIL	MONOCITOS	PLAQUETAS	
2	RATA	X10 <sup>6</sup> MM <sup>3</sup>	%	G/DL	X10 <sup>3</sup> MM <sup>3</sup>	X10 <sup>3</sup> MM <sup>3</sup>	X10 <sup>3</sup> MM <sup>3</sup>	X10 <sup>3</sup> MM <sup>3</sup>	X10 <sup>3</sup> MM <sup>3</sup>	
3	VALOR REFERENCIA	6.76-9.75	37.6-50.6	11.5-16.1	6.6-12.6	1.77-3.38	4.78-9.12	0.03-0.08	0.01-0.04	150-460
4	GRUPO 1 CATDEX									
5	1	9.8	81.5	27.2	10.2	2.2	8.9	0	1	280
6	2	8.9	65.2	24.1	12.4	2.6	9.1	1	1	302
7	3	9.3	74.6	25.3	11.3	2.95	8.2	0	0	260
8	4	7.4	62.8	20	11.6	3.02	8.8	0	1	340
9	5	6.5	39.8	12.8	7.8	2.8	9.6	1	2	206
10	GRUPO 2 TX LASER									
11	6	8.1	45.2	14.6	11.6	5.9	6.3	0	2	380
12	7	5.9	37.8	11.8	3.4	1.7	3.9	0	0	290
13	8	NO SALIÓ LA MUESTRA SE TERMINÓ								
14	9	6.8	42.2	13.6	8.9	2.7	7.9	0	1	420
15	10	NO SE ENCONTRÓ EL RESULTADO								
16	GRUPO 3 TX FOTOTERMIA									
17	11	7.9	48.8	14.3	10.8	5.8	9.1	1	0	360
18	12	8.2	43.8	13.2	10.9	5.4	8.7	1	0	320
19	13	NO SE OBTUVO RESULTADO								
20	14	8.9	44.8	11.8	6.7	2.4	7.9	0	0	402
21	15	7.6	40.3	11.5	4.2	1.8	9.3	1	0	220
22	GRUPO 4 ANTIBIOTICO									
23	16	8.2	42.8	12.5	5.9	4.9	8.6	0	1	270
24	17	7.3	44.1	14.4	6.4	3.1	8.5	1	2	310
25	18	7.6	48.8	15.7	5	2.3	8.8	1	1	380
26	19	7.8	49.3	15.9	7.6	2.01	8.4	2	1	210
27	20	7.3	46.4	14.6	7.9	2.4	8.8	1	0	360
28	GRUPO 5 CONTROL +									
29	21	8.2	43.6	14.4	6.4	3.2	8.4	1	1	320
30	22	8.9	64.3	19.4	6.8	2.7	9.3	1	3	480
31	23	NO SALIÓ RESULTADO								
32	24	NO SALIÓ RESULTADO								
33	25	9.2	61.2	16.8	8.1	3.2	8.9	1	2	420
34	GRUPO 6 CONTROL -									
35	26	9.9	57	18.6	9.6	4.9	7.1	1	0	630
36	27	7.8	49.2	16.6	6.1	5	8.7	1	0	224
37	28	8.2	50	14.3	6.6	1.24	7.9	1	0	724
38	29	8.6	52	15.8	7.2	2.6	8.2	2	0	480
39	20	8.8	48	15.9	7.6	2.8	8.4	1	1	390

De los resultados obtenidos podemos identificar lo siguiente (casillas marcadas en amarillo resaltan los valores fuera de la norma):

### Bioquímica sanguínea.

#### - Proteínas en sangre.

- En el grupo CATDEX identificamos un valor ligeramente mayor posiblemente por la deshidratación del ayuno.
- En el grupo de terapia con laser un solo valor ligeramente mayor posiblemente por la deshidratación del ayuno.
- En el grupo antibiótico encontramos 2 valores ligeramente mayores posiblemente por la deshidratación del ayuno.
- En los grupos de fototerapia, control positivo y control negativo los valores se encontraban dentro de los parámetros normales.

#### - Albúmina.

- En el grupo de CATDEX encontramos un solo valor ligeramente debajo de el rango de los valores normales posiblemente secundario al uso de medicamentos o a un estado nutricional deficiente.

- En el grupo de terapia con laser encontramos 2 valores ligeramente inferiores al rango de los valores normales posiblemente secundario al uso de medicamentos o a un estado nutricional deficiente.
- En el grupo de fototermia encontramos un solo valor con valor superior ligeramente comparado con el rango de los valores normales posiblemente por deshidratación durante el ayuno.
- En el grupo de antibiótico y control negativo no existieron valores fuera de la norma.
- En el grupo control positivo se encontró que hubo 3 casos de valores superiores ligeramente a la norma establecida posiblemente secundario al uso de medicamentos o a un estado nutricional deficiente.
- Glucosa.
  - En ningún grupo se encontraron valores alterados.
- Nitrógeno ureico en sangre.
  - En el grupo de terapia con láser se encontró un valor ligeramente superior a la norma posiblemente por la deshidratación del ayuno.
  - Los demás grupos sin alteraciones en los valores
- Creatinina.
  - En ningún grupo se identificaron valores alterados.
- Alanina aminotransferasa.
  - En el grupo de control positivo se encontraron dos valores ligeramente mayores a la norma posiblemente por el uso de medicamentos y su metabolismo hepático.
  - En los demás grupos no se presentaron alteraciones en los valores.
- Aspartato aminotransferasa.
  - En el grupo de fototermia se encontró un solo valor ligeramente mayor a la norma establecida posiblemente el uso de medicamentos y su metabolismo hepático.
  - En todos los demás grupos no se encontraron alteraciones de los valores.
- Fosfatasa alcalina.



- En el grupo de terapia con laser encontramos un solo valor ligeramente aumentado de sus valores normales por el posible metabolismo óseo alterado y la funcionalidad de las células del hueso en actividad.
- En el grupo de fototermia encontramos un solo valor ligeramente aumentado de sus valores normales por el posible metabolismo óseo alterado y la funcionalidad de las células del hueso en actividad.
- En el grupo de control positivo encontramos 2 valores ligeramente aumentados de sus valores normales por el posible metabolismo óseo alterado y la funcionalidad de las células del hueso en actividad.
- Los demás grupos no presentaron alteraciones en sus valores.
- Calcio sérico.
  - En el grupo control positivo encontramos que existieron 3 modelos murinicos que presentaron valores inferiores a la norma establecida por el laboratorio esto debido posiblemente a la pérdida ósea por la necrosis inducida por los bifosfonatos y la falta de tratamiento.
  - Los demás grupos se encontraron valores dentro de los parámetros normales.
- Fósforo sérico.
  - En ningún grupo se detectaron valores alterados a los establecidos.
- Colesterol.
  - En ningún grupo se detectaron valores alterados a los establecidos.
- Sodio.
  - En todo el grupo CATDEX y terapia con laser encontramos que los valores de sodio eran inferiores a la norma establecida posiblemente por el metabolismo hepático o por la falta de reemplazo electrolítico en la reposición de líquidos en la dieta.
  - En tres modelos murinicos encontramos valores inferiores a la norma en cuenta a los valores establecidos posiblemente por el metabolismo hepático o por la falta de reemplazo electrolítico en la reposición de líquidos en la dieta.

- En dos modelos de ratas Wistar encontramos valores disminuidos a la norma establecida posiblemente por el metabolismo hepático o por la falta de reemplazo electrolítico en la reposición de líquidos en la dieta.
- En el grupo control positivo encontramos 5 valores inferiores a la norma establecida por el laboratorio posiblemente por el metabolismo hepático o por la falta de reemplazo electrolítico en la reposición de líquidos en la dieta.
- En el grupo control negativo encontramos 3 valores inferiores a la norma establecida por el laboratorio posiblemente por la falta de reemplazo electrolítico en la reposición de líquidos en la dieta.
- Potasio.
  - En ningún grupo se encontraron alteraciones en los valores establecidos por el laboratorio.
- Bilirrubina.
  - En ningún grupo se encontraron alteraciones en los valores establecidos por el laboratorio.
- Amilasa.
  - En un caso del grupo donde se utilizó el antibiótico clindamicina encontramos los valores de la amilasa ligeramente aumentados considerando la norma establecida por el laboratorio posiblemente por afectación en páncreas fluctuaciones normales por la dieta ya que es ligero el aumento.
  - En todo el grupo de control positivo encontramos valores aumentados considerando la norma establecida por el laboratorio posiblemente por afectación en páncreas fluctuaciones normales por la dieta ya que es ligero el aumento.
  - En grupos restantes no encontramos alteración en los valores establecidos por el laboratorio.

## Hemograma

- Glóbulos rojos.

- Dentro del grupo CATDEX se encontró un valor mayor de los establecidos por el laboratorio posiblemente por unas fluctuaciones normales ya que estaba solo ligeramente elevado el valor.
- Dentro del grupo de control negativo se encontró un valor mayor de los establecidos por el laboratorio posiblemente por unas fluctuaciones normales ya que estaba solo ligeramente elevado el valor.
- Hematocrito.
  - Dentro del grupo CATDEX se encontraron 4 valores mayores a los establecidos por la norma laboratorial posiblemente por unas fluctuaciones normales ya que estaba solo ligeramente elevado el valor.
  - En el grupo control positivo se encontraron 2 valores mayores a los establecidos por la norma laboratorial posiblemente por unas fluctuaciones normales ya que estaba solo ligeramente elevado el valor.
  - En el grupo control negativo se encontró que había 2 valores mayores a los establecidos por la norma laboratorial posiblemente por unas fluctuaciones normales ya que estaba solo ligeramente elevado el valor.
- Hemoglobina.
  - Dentro del grupo CATDEX se encontraron 4 valores mayores a los establecidos por la norma laboratorial posiblemente por unas fluctuaciones normales ya que estaba solo ligeramente elevado el valor.
  - En el grupo control positivo se encontraron 2 valores mayores a los establecidos por la norma laboratorial posiblemente por unas fluctuaciones normales ya que estaba solo ligeramente elevado el valor.
  - En el grupo control negativo se encontró que había 2 valores mayores a los establecidos por la norma laboratorial posiblemente por unas fluctuaciones normales ya que estaba solo ligeramente elevado el valor.
- Leucocitos.
  - El grupo CATDEX no se encontró con valores que se salieran de la norma laboratorial.

- En el grupo de terapia laser se encontró un valor por debajo de la norma establecida por el laboratorio posiblemente por una infección secundaria del microorganismo inoculado.
- En el grupo tratado con fototermia se encontró un valor por debajo de la norma establecida por el laboratorio por una infección secundaria del microorganismo inoculado.
- En el grupo del antibiótico clindamicina se encontraron 3 valores debajo de la norma establecida por el laboratorio por una infección secundaria del microorganismo inoculado o por el mismo antibiótico administrado.
- En ambos grupos de controles positivo tanto negativo se encontró un valor debajo de la norma respectivamente por una infección secundaria del microorganismo inoculado el caso positivo y el caso negativo por alguna infección que posiblemente el modelo murinico haya adquirido del mismo ambiente.
- Granulocitos.
  - El grupo CATDEX y el de antibiótico de clindamicina no se encontró con valores que se salieran de la norma laboratorial.
  - En el grupo que fue tratado con terapia de laser se encontró un valor sobre la norma y otro debajo de la norma establecida por el laboratorio; en el que se encontró disminución sería a causa del uso del mismo bifosonato, el aumentado es significativamente ligero el aumento por lo que puede ser una fluctuación en los valores sin significancia clinica.
  - En el grupo tratado con fototermia se encontraron 2 valores por encima de la norma establecida por el laboratorio; ligero el aumento por lo que puede ser una fluctuación en los valores sin significancia clinica.
  - En el grupo control negativo se encontraron 2 valores sobre la norma establecida por el laboratorio; ligero el aumento por lo que puede ser una fluctuación en los valores sin significancia clinica.
- Linfocitos.

- En el grupo CATDEX se encontró un valor sobre la norma establecida por el laboratorio posiblemente por una infección del microorganismo inoculado pero el valor es significativamente bajo en cuanto a su aumento.
  - En el grupo de tratamiento laser se encontró un valor debajo de la norma establecida por el laboratorio por una posible fluctuación en la norma laboratorial ya que es insignificante.
  - En el grupo de fototerapia se encontró un valor por encima de la norma establecida por el laboratorio posiblemente por una infección del microorganismo inoculado pero el valor es significativamente bajo en cuanto a su aumento.
  - El grupo de antibiótico de clindamicina no presentó alteraciones en sus valores.
  - El grupo control positivo se encontró que hubo un valor por encima de la norma establecida por el laboratorio posiblemente por una infección del microorganismo inoculado pero el valor es significativamente bajo en cuanto a su aumento.
  - El grupo control negativo no presentó alteraciones en los valores laboratoriales.
- Eosinófilos.
- Se encontró eosinofilia en el grupo CATDEX en 2 muestras de modelo murínico de causa idiopática.
  - Se encontró eosinofilia en el grupo tratado con fototerapia en 2 muestras de modelo murínico de causa idiopática.
  - Se encontró eosinofilia en el grupo tratado con antibiótico en 4 muestras de modelo murínico de causa idiopática.
  - Se encontró eosinofilia en el grupo de control positivo en 3 muestras de modelo murínico de causa idiopática.
  - Se encontró eosinofilia en el grupo de control negativo en 5 muestras de modelo murínico de causa idiopática.
- Monocitos.

- En el grupo CATDEX se encontró alteración elevada de los monocitos en 4 modelos murínicos de causa idiopática.
  - En el grupo de terapia laser se encontrpo alteración elevada de los monocitos en 2 modeos murinicos de causa idiopática.
  - En el grupo de fototermia no hubo alteraciones en este valor laboratorial.
  - En el grupo de antibiótico se encontró elevación de los monocitos en 4 modelos murinicos de causa idiopática.
  - En el grupo de control positivo se encontró elevación de los valores de los monocitos en 3 modelos murinicos de causa idiopática.
  - En el grupo de control negativo se encontró un solo valor con aumento de los monocitos en sus valores laboratoriales de causa idiopática.
- Plaquetas.
- El grupo CATDEX no sufrió modificaciones en los valores plaquetarios.
  - Hubo trombocitosis en un modelo murínico del grupo de control negativo de causa idiopática o por fluctuaciones normales en valores establecidos por el laboratorio.
  - Los demás grupos no sufrieron alteraciones en estos valores.

En el grupo de terapia con láser en un modelo murinico no se pudo obtener la muestra y en otro modelo no se encontró el resultado, en el grupo tratado con fototermia no se obtuvo el resultado de un modelo murínico, y en dos modelos murínicos no se pudo obtener resultados dentro del grupo de control positivo.

## **RESULTADOS ESTADÍSTICOS**

## DISCUSIÓN

El estudio de la osteonecrosis mandibular inducida por medicamentos como se le conoce actualmente es un padecimiento que se viene estudiando a profundidad desde que Marx (2003) identificó que los pacientes que utilizaban estos fármacos para tratar principalmente la osteoporosis llegaban a padecer esta enfermedad con morbilidad alta posterior a eventos traumáticos intencionales, como los procedimientos odontológicos comunes que involucran cirugía y manipulación de tejidos blandos como duros así como aquellos que son de origen accidental o por agresión que afectan a la estructura ósea mandibular.

Mucho se ha estudiado posterior al descubrimiento y a la interrelación que presenta el uso del medicamento en cuestión y la necrosis del hueso mandibular y se han llegado a determinar distintos tratamientos que puedan favorecer el pronóstico y/o el desarrollo que genere menor morbilidad una vez que se identifica. Los tratamientos que se conocen actualmente varían dependiendo el grado en el que se presente la *MRONJ*, que va desde la simple observación y mantenimiento de la zona afectada hasta la debridación, resección extensa y posterior reconstrucción con materiales biocompatibles o autólogos microvascularizados. Cuando se llega a esta última instancia la tasa de morbilidad aumenta considerablemente y la calidad de vida del paciente disminuye igualmente.

A causa de lo mencionado anteriormente se ha determinado que uno de los factores principales que interviene en el avance de la enfermedad necrótica ósea es la infección que en conjunto con la disminución en la vascularidad hacen que el proceso patológico progrese significativamente. Por lo que la prevención es uno de los pasos críticos que se deben tener en cuenta para poder evitar las altas tasas de morbilidad y los procedimientos extensos y complejos quirúrgicos. Entre las medidas de prevención se han estudiado múltiples terapias con variabilidad en sus efectividades, entre ellas destacan el uso de clorhexidina (un antiséptico oral), el uso de terapia laser con ondas de alta y baja frecuencia, el uso de antibióticos de manera sistémica entre otros.

Uno de los nuevos medicamentos que actualmente están en estudios es el uso de la poliguanadina conjugada (CATDEX), la cual funciona anulando las cargas iónicas de ciertas células y como tal revirtiendo en cierta medida el avance de la necrosis ósea hablando específicamente en el padecimiento que en esta investigación se menciona. Además de funcionar como antiséptico si se utiliza por vía tópica como la clorhexidina pero sin alterar negativamente la estructura celular de las membranas y de los tejidos óseos por lo que se sugiere que tiene una efectividad mayor por su protección en estas estructuras y su mecanismo neoformador (Márquez. M et. Al , 2017).

El uso de este ha demostrado al menos en los estudios histopatológicos que existe una disminución en el contenido bacteriano que lo vuelve muy positivo y se encuentran en ciertas zonas hueso neoformado, además de que no se encontraron alteraciones en las unidades Hounsfield en el hueso por lo que se mantuvo la arquitectura ósea mandibular y no disminuyó como se esperaría posterior al uso de bifosfonatos y la inducción de osteonecrosis mandibular.

### **CONCLUSIONES**

- Al estudiar los diferentes grupos que padecieron de *MRONJ* y el tratamiento empleado en cada uno de ellos se pudo identificar que en cuanto al estudio histopatológico el grupo que se le administró el CATDEX fue superior a los demás elementos usados terapéuticamente en cuanto a la escasa presencia de bacterias y en cuando al hueso estable y neoformado presente en la valoración clínica.
- En cuanto a la valoración de la densidad ósea medida a través de un análisis en cuatro puntos perimetales en el área mandibular a la que se le realizó la osteotomía y la posterior inducción de osteonecrosis pudimos valorar que en el grupo que se utilizó CATDEX se encontraron valores inferiores a la norma establecida para una densidad ósea normal, comparable con el uso de antibiótico



clindamicina, pero se encontró que su uso fue ms positivo que en los grupos control y de terapia con laser.

- En cuanto a la valoración de laboratorios al grupo que se le administró CATDEX sufrió, al igual que los demás grupos diferencias en los valores de ciertas líneas celulares y compuestos de la química sanguínea pero ninguno de gran relevancia, si a caso la capacidad de no aumentar ni disminuir sino mantener la cantidad normal de leucocitos lo que nos pudiera indicar que mantiene una estabilidad en cuanto la infección se refiere.
- El CATDEX es un compuesto que histológicamente demuestra que es efectivo en cuanto a la disminución de bacterias y en cuanto a la neoformación de hueso y mantenimiento de hueso estable. Se debe estudiar mas a fondo su función a largo plazo y determinar nuevos valores prospectivamente para hacer comparaciones y valorar su efectividad.

### **RECOMENDACIONES**

Como única sugerencia se recomienda lo siguiente para proseguir a realizar en modelo humano la prueba de efectividad del CATDEX.

- Realización de pruebas de laboratorio en más de una ocasión para determinar el grado en el que afectan las demás líneas celular y componentes de la bioquímica sanguínea.
- Dejar progresar el proceso patológico un mayor tiempo al establecido en la primera fase para observar a detalle como funciona el medicamento CATDEX en procesos más avanzados de la enfermedad y su efectividad a largo plazo.

### **BIBLIOGRAFÍA**