



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA

***“APLICACIÓN TÓPICA DE ALENDRONATO AL 1% MÁS QUITOSÁNO EN GEL
EN EL PRIMER MOLAR MAXILAR, COMO ALTERNATIVA DE ANCLAJE
ORTODÓNCICO EN UN MODELO MURINO”***

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN ESTOMATOLOGÍA CON TERMINAL EN ORTODONCIA**

**PRESENTA:
L.E. MARÍA LETONA ROJAS**

**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. EN C. JULIA FLORES TOCHIHUITL**

**DIRECTOR DISCIPLINARIO:
M. O. VÍCTOR HERNÁNDEZ VIDAL**

**DIRECTOR METODOLOGICO:
DR. EN C. ALBERTO VINICIO JEREZANO DOMÍNGUEZ**

Fecha: JUNIO DE 2018

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	4
2. ANTECEDENTES	5
2.1 ANTECEDENTES GENERALES:	5
2.1.1 FISIOLÓGÍA DEL HUESO	5
2.1.2 REMODELADO ÓSEO	5
2.1.3 MOVIMIENTO DENTAL:	6
2.1.4 ANCLAJE DENTAL	7
2.1.5 BIFOSFONATOS.....	8
2.1.6 ALENDRONATO.....	13
2.1.7 QUITOSANO.....	16
2.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	17
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
4. JUSTIFICACIÓN	20
5. HIPÓTESIS	21
6. OBJETIVOS	22
6.1 OBJETIVO GENERAL.....	22
6.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	22
7. MATERIAL Y MÉTODO	23
7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.....	23
7.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	23
7.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN	23
7.3.1 Inclusión.....	23
7.3.2 Exclusión.....	23
7.3.3 Eliminación.....	23
7.4 VARIABLES E INSTRUMENTOS	24
7.5 CONCORDANCIA FIABILIDAD:	24
7.6 FUENTES DE INFORMACIÓN Y RECOLECCIÓN.....	25
7.7 FUENTES PRIMARIAS.....	25
7.8 FUENTES SECUNDARIAS	25
7.9 DIAGRAMA DE FLUJO.....	26
7.10 PROCEDIMIENTOS.....	27
7.10.1 Colocación del resorte:.....	28
7.10.2 Aplicación farmacológica:.....	29
7.10.3 Medición de los resultados:.....	30
7.12 LOGÍSTICA	30
7.12.1 Recursos humanos	30
7.12.2 Recursos materiales	30
7.12.3 Recursos financieros	31
7.13 APEGO A LA BIOÉTICA	31
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
9. RESULTADOS	33

10. DISCUSIÓN	35
11. CONCLUSIONES	37
12. BIBLIOGRAFÍA.....	38

APLICACIÓN TÓPICA DE ALENDRONATO MÁS QUITOSÁN EN GEL EN EL PRIMER MOLAR MAXILAR COMO ALTERNATIVA DE ANCLAJE ORTODÓNCICO EN RATA

1. INTRODUCCIÓN

El anclaje dental en la ortodoncia es muy importante, se define como la resistencia al movimiento que presentan los dientes ante la aplicación de una fuerza. Esta fuerza puede generar movimientos no deseados, que se acompañan de la remodelación del hueso alveolar, los cuales pudieran prevenirse, por ejemplo, con bloqueadores de la resorción ósea, y que requeriría de un sistema de fuerzas de ortodoncia menos complejo y extenso.¹

El control del anclaje durante el tratamiento con ortodoncia es un factor muy importante que interfiere en el resultado final. En todo sistema de movimiento dental ortodóncico hay un área de acción, el cual involucra el movimiento dental a elaborar, y un área de reacción o anclaje, el cual es utilizado para apoyar y permitir la ejecución del movimiento dental del área de acción.^{1,2}

Los bifosfonatos (BP) afectan el metabolismo óseo e influyen en el tratamiento de ortodoncia y el movimiento dental, ya que inhiben la calcificación y la resorción ósea.³

Los BP, son ampliamente utilizados en el tratamiento de trastornos óseos caracterizados por una excesiva resorción ósea tales como osteoporosis, enfermedad de Paget, y ciertas enfermedades metastásicas, sin embargo también se han sugerido como posibles medios para controlar la recidiva e incluso para generar anclaje farmacológico.^{4,5} Estudios relacionados con la estructura de los componentes indican que su potencia y su modo de acción varían dependiendo de su estructura química.⁵

El Alendronato (AL) es un bifosfonato de tercera generación, que contiene nitrógeno heterocíclico, en diversos estudios se ha encontrado que al aplicarlo de manera local o sistémica se crea un efecto de anclaje en las piezas dentarias.

La biodisponibilidad del alendronato por vía oral es muy baja ya que usualmente es del 1 al 10%, mientras que la de las dosis intravenosa es del 100%, en este estudio se decidió utilizar de manera tópica utilizando un hidrogel de quitosano, ya que no es necesario que existan niveles circulantes uniformes para que exista activación continua.³

2. ANTECEDENTES

2.1 ANTECEDENTES GENERALES:

2.1.1 FISIOLÓGÍA DEL HUESO

Macroscópicamente, el tejido óseo se organiza de dos formas distintas en los huesos:

- 1) Tejido óseo compacto: Compuesto fundamentalmente por matriz ósea que forma láminas de un grosor aproximado de 5 nm, entre estas láminas se encuentran las lagunas, estas contienen a los osteocitos los cuales intercambian sustancias con el torrente sanguíneo por medio de canalículos. En este tipo de hueso las láminas están dispuestas fundamentalmente en forma concéntrica rodeando canales longitudinales del hueso llamados conductos de Havers, estos se comunican entre sí y con las superficies externa e interna del hueso por medio de los conductos de Volkman. También se observan láminas intersticiales y debajo del periostio y endostio respectivamente se encuentran las láminas basales externa e interna.
- 2) Tejido óseo esponjoso: Compuesto por trabéculas, las cuales se entrecruzan en distintas direcciones formando un retículo esponjoso, cuyos espacios huecos intercomunicantes están ocupados por la médula ósea. También está compuesto por láminas, pero sin sistema de Havers, solo se observan zonas de láminas paralelas, a menudo en dirección longitudinal con una trabécula.

La matriz ósea intracelular está compuesta por una matriz orgánica (formada a su vez por fibras de colágeno y sustancia fundamental) y componentes inorgánicos, estos representan aproximadamente el 75% del peso seco en los adultos y están compuestos por depósitos de fosfato de calcio cristalino, los cristales distribuidos regularmente, son idénticos a los del mineral hidroxapatita. El mineral de los huesos contiene magnesio, potasio, sodio, carbonato y citrato.⁶

2.1.2 REMODELADO ÓSEO

El esqueleto es un sistema de órganos metabólicamente activo, compuesto de tejido específico y una matriz extracelular que se somete a una extracción y reemplazo continuos durante toda la vida. Esto se lleva a cabo por la interacción entre solo dos tipos de células; el osteoclasto que se encarga de la resorción ósea y el osteoblasto que forma hueso. Esta interacción debe estar finamente equilibrada, ya que pequeñas perturbaciones en esta actividad pueden conducir a patologías estructurales y metabólicas.

La unidad multicelular básica (UMB) o también llamada unidad de remodelación ósea (BRU), describe las actividades secuenciales de los osteoclastos y osteoblastos, también asegura que la masa ósea de un organismo permanezca en equilibrio constante.

La actividad de la UMB se divide en 4 etapas:

1 Activación: Empieza con la interacción de las células precursoras de osteoclastos y osteoblastos. Conduce a la diferenciación, migración y fusión de los osteoclastos multinucleados, estas células se unen a la superficie del hueso mineralizado e inician la reabsorción.

2 Reabsorción: Se da mediante la secreción de iones de hidrógeno y enzimas lisosómicas, particularmente catépsina K, que puede degradar a pH bajo todos los componentes de la matriz ósea, incluido el colágeno. La unión de los osteoclastos al

hueso puede requerir cambios específicos en las llamadas "células de revestimiento" en la superficie del hueso, que pueden contraerse y liberar enzimas proteolíticas para descubrir una superficie mineralizada. La resorción osteoclástica produce cavidades festoneadas irregulares en la superficie del hueso trabecular, llamadas lagunas de Howship, o canales Haversianos cilíndricos en hueso cortical.

3 Reversión: En esta fase se observan células mononucleares en la superficie del hueso, que pueden ser del linaje de macrófagos, en la superficie del hueso. Los eventos durante esta etapa no se comprenden bien, pero pueden implicar una mayor degradación del colágeno, la deposición de proteoglicanos para formar la llamada línea de cemento y la liberación de factores de crecimiento para iniciar la fase de formación

4 Formación: La cavidad creada por la reabsorción puede rellenarse completamente mediante capas sucesivas de osteoblastos, que se diferencian de sus precursores mesenquimatosos y depositan una matriz mineralizable.³

2.1.2.1 Células osteoprogenitoras:

Son células relativamente indiferenciadas tras el nacimiento. Presentan núcleos ovales claros y un citoplasma claro irregular. Durante la formación de los huesos estas células sufren división y transformación a células formadoras de hueso u osteoblastos. Las células osteoprogenitoras con carácter de fibroblastos, o "preosteoblastos" dan como origen a los osteoblastos, mientras que los monocitos y macrófagos o "preosteoclastos" dan origen a los osteoclastos.⁶

- 1) Osteoblastos: Células formadoras de hueso, sintetizan y secretan la matriz ósea.
- 2) Osteocitos: Se originan de los osteoblastos que durante la formación del hueso son atrapados en la matriz ósea.
- 3) Osteoclastos: Células que degradan el hueso.⁶

2.1.3 MOVIMIENTO DENTAL:

A lo largo de nuestra vida los dientes se mueven de forma natural. Antes de la erupción en la cavidad oral, hay cambios en la posición del brote dental, debido al crecimiento de las estructuras dentales y la remodelación de los tejidos vecinos como el hueso alveolar, el ligamento periodontal, la encía y el folículo dental. Después de erupcionar, los dientes llegan a su posición en el arco dental debido a la fuerza de los músculos de la lengua, mejillas y labios, así como el contacto con los dientes del maxilar contrario.

La posición de los dientes puede ser indeseable debido a consideraciones funcionales y/o estéticas, lo que lleva a los pacientes a buscar atención ortodóncica.⁷

El movimiento dental ortodóncico se basa en el principio de que si se aplica una presión prolongada sobre un diente, se producirá una movilización del mismo.⁸ y se caracteriza por cambios en la remodelación de los tejidos dentales y paradentales, que incluyen la pulpa dental, el ligamento periodontal, el hueso alveolar y la encía. Estos tejidos, cuando se exponen a grados variables de magnitud, frecuencia y duración de la carga mecánica, expresan grandes cambios macroscópicos y microscópicos.⁹

Para que el movimiento dental se lleve a cabo, se necesita la intervención de mensajeros químicos los cuales actúan debido a la teoría presión – tensión. Esta teoría del movimiento dental dice que al ejercer una presión mantenida sobre un diente este

cambia de posición dentro del espacio del ligamento periodontal, comprimiendo el ligamento en algunas zonas y distendiéndolo en otras, esto altera el flujo sanguíneo resultando en una síntesis local y liberación de varias moléculas clave, como neurotransmisores, citosinas, factores de crecimiento, factores estimulantes de colonias y metabolitos del ácido araquidónico, produciendo múltiples respuestas celulares por varios tipos de células en y alrededor del diente, brindando un microambiente favorable para deposición y resorción tisular.^{7,8}

2.1.4 ANCLAJE DENTAL

El movimiento ortodóncico de los dientes como el movimiento de otros cuerpos es regulado y controlado por ciertos principios generales o leyes, el entendimiento apropiado de tales son importantes para nosotros en nuestro trabajo y es necesario para que la operación requerida pueda ser realizada inteligentemente y de una manera científica, cuando los dientes están en una mal posición uno de los factores más importantes a tomar en cuenta es el anclaje, ya que este previene movimientos indeseados que cuesten energía y tiempo de tratamiento¹⁰, por lo que hay que tomar en cuenta que en todo sistema de movimiento dental ortodóncico hay un área de acción, el cual involucra el movimiento dental a elaborar, y un área de reacción o anclaje, el cual es utilizado para apoyar y permitir la ejecución del movimiento dental del área de acción.¹¹

Podemos definir al anclaje dental como la resistencia al movimiento que presentan los dientes ante la aplicación de una fuerza.¹⁰ Proffit lo define como la resistencia a las fuerzas de reacción que se obtiene (habitualmente) de otros dientes, o (en ocasiones) del paladar.⁸

Éste se ha clasificado en varios grupos:

1.- En base al sitio de resistencia seleccionado

1.1 Anclaje intra oral: Resistencia seleccionada desde un punto dentro de la cavidad oral.

1.1.2 Anclaje intra maxilar: Resistencia se encuentra en el mismo arco que el diente a tratar.

1.1.2 Anclaje intermaxilar: Resistencia se encuentra en el arco opuesto al diente a tratar.

1.2 Anclaje extra oral: Resistencia seleccionada desde un punto fuera de la cavidad oral.

2.- De acuerdo a la construcción mecánica

2.1 Anclaje simple: Es aquella forma en la que la resistencia se obtiene a partir de condiciones puramente anatómicas, tales como el tamaño y la ubicación favorable del diente de anclaje al que está conectado el aparato.

2.2 Anclaje estacionario: El anclaje estacionario es la forma en que se obtiene la resistencia necesaria para superar la fuerza ejercida sobre el diente (es) a tratar construyendo y uniendo al aparato ortodóncico para que el diente no se mueva. En el anclaje estacionario el aparato debe poseer dos cosas que no son necesarias en el anclaje simple; debe estar construido y adherido al diente de anclaje, más los factores anatómicos que se obtienen en el anclaje simple.¹¹

3.- Por su condición:

3.1 Movimiento dental recíproco: En una situación recíproca, las fuerzas aplicadas a los dientes y a los segmentos de arcada son iguales, y también lo es la distribución de las fuerzas por el ligamento periodontal.

3.2 Anclaje reforzado: Hay una mayor presión del ligamento periodontal en el área con mayor cociente de superficie radicular que en el otro segmento.

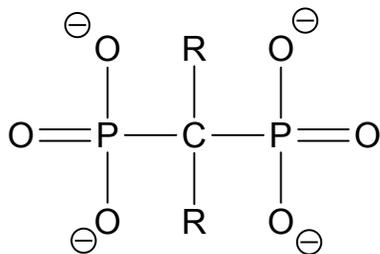
4.- En base al punto de aplicación:

4.1 Anclaje cortical: El hueso cortical es más resistente a la reabsorción, y el movimiento dental es más lento cuando una raíz contacta con el mismo. Este anclaje consiste en torcer las raíces de los dientes posteriores hacia el exterior, contra la placa cortical, para inhibir su movimiento mesial en algunos movimientos ortodóncicos.

4.2 Anclaje esquelético: Para este tipo de anclaje se utilizan tornillos o placas para anclaje esquelético, las cuales nos ayudan a producir movimientos dentales o realizar modificaciones del crecimiento sin efectos secundarios indeseables.⁸

2.1.5 BIFOSFONATOS

Los BP son fármacos análogos estructurales no hidrolizables de pirofosfatos inorgánicos, en los cuales el puente de oxígeno ha sido reemplazado por un carbono con varias cadenas laterales (P-C-P). La estructura P-C-P (Figura 1) permite un gran número de variaciones posibles, ya sea cambiando las dos cadenas laterales en el carbono o esterificando los grupos fosfato.^{3,12}



Bifosfonato

Figura 1. Estructura general (P-C-P) de los bifosfonatos²⁸

Los BP orales se han utilizado ampliamente en el tratamiento y prevención de la osteoporosis. Su baja biodisponibilidad por vía oral y sus efectos adversos sobre el tracto digestivo, lleva a que su utilidad por esa vía sea escasa en el campo de la oncología. Los endovenosos se emplean en el tratamiento de la enfermedad de Paget óseo, y en otras situaciones como en la prevención de la enfermedad ósea tras el trasplante de órganos, osteogénesis imperfecta y enfermedad de McCune-Albright. En el campo de la oncología los bifosfonatos se emplean en el tratamiento de la hipercalcemia tumoral, en la

prevención y tratamiento de los eventos óseos asociados a la metástasis óseas y en la prevención de la osteoporosis asociada al cáncer de mama.

Ésta amplia indicación de uso y el hecho de que la mayoría de los tratamientos sean prolongados, ha favorecido la aparición de nuevos efectos adversos asociados a su uso, como ulcera gástrica, esofagitis, dolor músculo-esquelético, alteraciones renales, entre otros.¹³

2.1.5.1 Clasificación de los bifosfonatos:

-No nitrogenados o no aminados (Etidronato, clodronato, tiludronato)

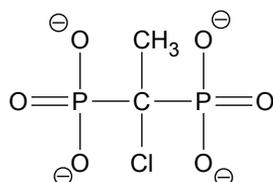
-Nitrogenados o aminados (Alendronato, risedronato, ibandronato, pamidronato, ácido zolendrónico)

Primero se utilizaron los BP no nitrogenados, actualmente, se utilizan en la práctica clínica los nitrogenados, ya que son mucho más potentes que los anteriores (Tabla 1), también se clasifican según el procedimiento de síntesis y sus propiedades en BP de primera, segunda y tercera generación (Tabla 2).^{14,15}

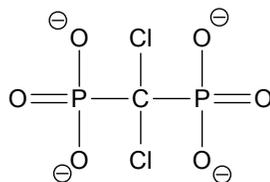
Tabla 1. Clasificación de los bifosfonatos: nitrogenados y no nitrogenados.

	BIFOSFONATO	CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS
No nitrogenados	-Etidronato -Clodronato -Tiludronato	-No contienen un grupo N en su cadena lateral R2 -Pueden ser metabolizados en el interior del osteoclasto e incorporados a análogos no hidrolizables de ATP -La acumulación de estos metabolitos frenaría la función osteoclástica y podría ocasionar la muerte celular. -Enzimas responsables de la incorporación de estos BP = aminacil RNAt sintetasas.
Nitrogenados	-Pamidronato -Alendronato -Risedronato -Zoledronato	-Contienen un grupo nitrógeno en su cadena lateral R2. -No son metabolizados y son más potentes inhibidores de la resorción ósea. -Mecanismo de acción a través de interferir con la vía del mevalonato.

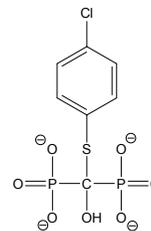
Imágenes BF's no nitrogenados (Fig. 2, 3, 4)



Etidronato

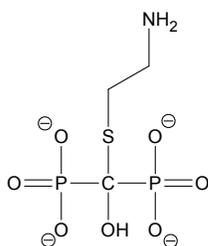


Clodronato

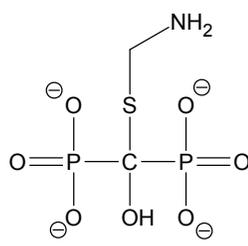


Tiludronato

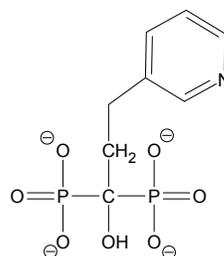
Imágenes BF's nitrogenados (Fig. 5, 6, 7, 8)



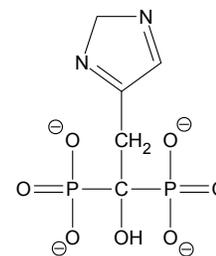
Alendronato



Pamidronato



Risedronato



Zoledronato

Tabla 2. Clasificación según su generación

GENERACIÓN	BIFOSFONATO
Primera generación	-Etidronato -Clodronato
Segunda generación	-Tiludronato -Pamidronato -Alendronato
Tercera generación	-Risedronato -Ibandronato -Zoledronato

2.1.5.2 Mecanismo de acción de los bifosfonatos

Tienen dos efectos biológicos fundamentales: la inhibición de la calcificación y la inhibición de la resorción ósea.

Calcificación:

El primer efecto biológico se debe a la inhibición de la mineralización, el cual es un mecanismo fisicoquímico, en el que el BP inhibe la formación y agregación de cristales de fosfato de calcio, bloquea la transformación del fosfato de calcio amorfo en hidroxiapatita, retrasa la agregación de cristales de apatita, retrasa la disolución de los cristales de fosfato de calcio e inhibe la formación y agregación de cristales de oxalato de calcio.

Esto se debe a la afinidad de los compuestos de los BP con la superficie del fosfato de calcio en fase sólida, los cuales se unen por quimiosorción convirtiendo a los cristales en cristales envenenados en la fase de crecimiento y disolución. Existen dos tipos de uniones:

1.- Bidentada: Cuando 1 átomo de oxígeno de cada grupo fosfato se une a un calcio de la hidroxiapatita.

2.- Tridentada: Cuando 1 átomo de oxígeno de un grupo hidroxilo se une al carbono central. Esta tiene una mejor fuerza de unión.

Resorción ósea:

Este efecto puede darse directo sobre los osteoclastos o mediado parcialmente por otras células de linaje osteoblástico y macrófagos. Se da por mecanismos celulares, los cuales se dividen en 3 niveles, tisular, celular y molecular.

1.- *Nivel tisular:* Este nivel habla de la reducción del recambio óseo, el cual se da tanto por disminución en la resorción ósea como por la disminución en la formación ósea. En condiciones normales el hueso destruido se reemplaza por la formación de hueso. La unidad dinámica morfológica de la renovación (UMB por sus siglas en inglés) empieza con la erosión de una cantidad de hueso a través de osteoclastos en la superficie de las trabéculas así como en la superficie e interior de la corteza, la resorción sigue una ruta lineal formando un canal dentro de la corteza y una zanja en la superficie, la destrucción es seguida del rellenado de la excavación por los osteoblastos dentro de una secuencia temporal.

La unidad estructural ósea (BSU por sus siglas en inglés) es la entidad morfológica final en la que puede estar una osteóna dentro de la corteza o un hemiosteón en la superficie del hueso.

La resorción y formación ósea total dependerá de la cantidad de UMB presente en cada momento, lo cual depende a su vez tanto del número de BSU formadas, como del periodo de tiempo que estén activas.

Los BP actúan a nivel de la UMB individual al disminuir la profundidad del sitio de resorción. La cantidad de hueso nuevo formado en la UMB no disminuye, posiblemente aumenta lo cual da como resultado un menor adelgazamiento trabecular, la disminución en el número de perforaciones trabeculares y menor erosión de la corteza. Esto hace más lenta la disminución de la resistencia ósea y la aparición de fracturas, por lo que los bifosfonatos crean un equilibrio positivo de calcio y hueso en humanos y animales.

Una disminución en la resorción ósea no es seguida inmediatamente por la disminución de la formación por lo que hay un aumento temporal en el equilibrio por una reducción en el llamado espacio de remodelación.

Después de la disminución en el volumen de renovación, la nueva BSU formada se remodelará más tarde de lo normal, esto conducirá a un mayor contenido de calcio, y por lo tanto, a una mayor densidad y contenido mineral óseo, pero no a un aumento en la masa ósea real.^{3, 16}

2.- *Nivel celular:* El objetivo final de la acción de los BP's es el osteoclasto y hay 4 mecanismos que parecen estar involucrados:

- 1) Inhibición del reclutamiento de osteoclastos
- 2) Disminución de la adhesión osteoclástica a la matriz mineralizada
- 3) Acortamiento de la vida útil del osteoclasto
- 4) Inhibición de la actividad de los osteoclastos después de que los mismos hayan absorbido el BP. Después de la administración, el número de osteoclastos multinucleado en la superficie del hueso a menudo aumenta, a pesar de una resorción

ósea reducida, sin embargo las células parecen inactivas. Con la aplicación crónica el número de osteoclastos disminuye.

Bajo el efecto de los BP, los osteoclastos muestran cambios en su morfología tanto *in vitro* como *in vivo*. Experimentan cambios en el citoesqueleto, principalmente en la actina y vinculina y en el borde ondulado de la célula.

3.- *Nivel molecular*: Los niveles circulantes de BP farmacológicamente activos son extremadamente bajos, esto implica que los niveles circulantes uniformes no son necesarios para la actividad continua. Esto sugiere que algunas células se ven afectadas durante un tiempo prolongado o, más probablemente, que el BP absorbido por el hueso se libera en cantidades muy bajas con el tiempo en áreas de alto recambio, lo que afecta la resorción localmente. Esto explicaría la alta eficacia de estos compuestos en enfermedades de resorción focal.

4.- *Efecto a través de otras células*: Es muy probable que los efectos inhibitorios de los BP sea mediado parcialmente por otras células, estas pueden ser:

A) Células de linaje osteoblástico: Estas controlan el reclutamiento y la actividad de los osteoclastos en condiciones fisiológicas y patológicas. Se ha encontrado que las mejores condiciones no son cuando los BP están en el mineral, como implicaría un efecto directo sobre los osteoclastos, sino cuando están en contacto con las células.

B) Células del fagocito mononuclear y el sistema inmune: Estas producen una variedad de citosinas que reabsorben los huesos, por lo que podrían desempeñar un papel en la cascada implicada en la inhibición de la resorción ósea inducida por un BP.

C) Células tumorales: Los BP inhiben la resorción ósea inducida por diversos tumores tanto en animales como en humanos. Esto se explica por la inhibición de la resorción ósea. La inhibición en la evolución de la metástasis puede ser por la menor cantidad de hueso destruido, lo cual hace que el lugar de expansión tumoral sea limitado, otra explicación es que, como consecuencia de una disminución de la resorción ósea, la liberación de citosinas osteoclástica que estimularían la multiplicación de células tumorales puede disminuir.^{3,16}

2.1.5.3 Farmacocinética

Los BP tienen una biodisponibilidad muy baja, por debajo del 1%, esto se debe a su baja lipofilicidad y a su alta carga negativa, las cuales dificultan el transporte transcelular.

Su absorción en el intestino sigue una ruta paracelular y probablemente se encuentre en él en forma insoluble debido a la quelación con calcio.

Son solo parcialmente filtrables en soluciones acuosas y en plasma en el cual están unidos a proteínas.

Desaparecen rápidamente en sangre, principalmente en hueso ya que hay una rápida y fuerte unión a los cristales de hidroxapatita, aunque esto depende de la afinidad de cada BP con la superficie de la hidroxapatita. Su tasa de entrada al hueso es muy rápida, similar a la del calcio y el fosfato, la captación esquelética se determina sobre todo mediante la vascularización del hueso. Los tejidos blandos están expuestos a los BP durante periodos cortos.

Pueden depositarse ya sea debajo de los osteoclastos o dentro del hueso donde se forma hueso nuevo, esto depende de la cantidad administrada, cuando la administración es pequeña se depositan debajo del osteoclasto y cuando la administración es mayor se depositan en sitios de formación y resorción ósea. Una vez presentes en el esqueleto, se

liberan solo cuando el hueso se destruye en el transcurso de la renovación, en humanos puede ser hasta 10 años.

No se metabolizan *in vivo* con el calor y la mayoría de los reactivos químicos debido a la estabilidad de su enlace P-C-P y a la resistencia a la hidrólisis por las enzimas que se encuentran en el cuerpo. Se excretan sin modificaciones.³

2.1.5.4 Efectos adversos

Tabla 3. Principales efectos adversos que puede provocar el alendronato dependiendo de la vía de administración.^{13,27}

VIA DE ADMINISTRACIÓN	EFEECTO ADVERSO
ORAL	<ul style="list-style-type: none"> -Erosiones -Úlcera gástrica -Esofagitis -Estenosis esofágicas A largo plazo pueden provocar: -Osteonecrosis de los maxilares -Fracturas atípicas -Dolor músculo-esquelético -Fibrilación auricular
INTRAVENOSA	<ul style="list-style-type: none"> -Fiebre -Síntomas pseudogripales -Reacciones en la zona de administración -Alteraciones renales

2.1.6 ALENDRONATO

El alendronato (AL), es un BP que contiene nitrógeno, es un fármaco común antirresortivo usado para la prevención y tratamiento de la osteoporosis y se ha demostrado que reduce significativamente la incidencia de nuevas fracturas de fragilidad en mujeres osteoporóticas.¹⁷

2.1.6.1 Mecanismo de acción

Para explicar el mecanismo de acción del alendronato, primero explicaremos la función y síntesis del colesterol.

El colesterol realiza funciones estructurales y metabólicas. Se encuentra anclado en las membranas celulares donde modula la fluidez, permeabilidad y función de las mismas. La cantidad de colesterol presente en dichas membranas modifica la actividad de las enzimas ancladas a ellas, la actividad de las proteínas transportadoras y la actividad de los receptores de membrana. Los humanos obtenemos el colesterol por medio de la dieta (exógeno) o sintetizado por otras células (endógeno), principalmente los hepatocitos. Es precursor de biomoléculas como hormonas esteroideas (andrógenos, estrógenos, progestágenos, glucocorticoides, mineralcorticoides), ácidos biliares y vitamina D.

La tasa de síntesis del colesterol es regulada por la enzima HMG-CoAR, la cual es controlada por el flujo de colesterol intestinal hacia el hígado y por la acetil-CoA que proporciona todos los átomos de carbono para la síntesis del colesterol.

La síntesis se da en 5 etapas:

- 1) Síntesis de mevalonato, un compuesto de 6 carbonos, a partir de acetil-CoA
- 2) Formación de unidades isoprenoides por pérdida de CO_2 del mevalonato
- 3) Condensación de seis unidades isoprenoides para formar el intermediario, escualeno.
- 4) Cierre del escualeno para la formación cíclica del esteroide precursor, conocido como lanosterol.
- 5) El colesterol se forma del lanosterol después de varios pasos posteriores que incluyen la pérdida de tres grupos metilo.¹⁸

De esta parte nos interesa la vía del mevalonato la cual produce en su metabolismo intermedio 2 compuestos el farnesildifosfato y el geranilgeranildifosfato, los cuales a su vez son necesarios para la prenilación de pequeñas moléculas GTPasas del tipo Ras, Rho y Rac.

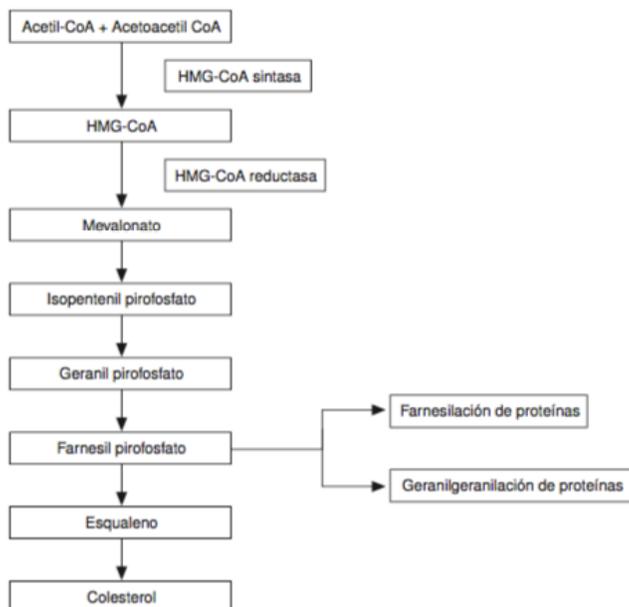


Fig. 9. Esquema simplificado de la vía metabólica del mevalonato. Los bifosfonatos con grupo nitrógeno actúan sobre la vía biosintética del mevalonato, inhibiendo la síntesis de farnesil difosfato y su derivado el geranil geranil difosfato, que son intermediarios esenciales, puesto que los grupos lipídicos isoprenoides de estos compuestos son transferidos al extremo carboxilado de proteínas ligantes GTP (Ras, Rho y Rac) necesarios para la función osteoclástica.¹⁸

El mecanismo de acción del alendronato consiste en frenar la resorción ósea a través de inhibir la vía del mevalonato, posiblemente disminuyendo la síntesis de geranilgeranildifosfato y de fanesildifosfato y por tanto inhibiendo la prenilación de las proteínas Ras, Rho y Rac las cuales están involucradas en la biología osteoclástica, esto altera la función del citoesqueleto y la señalización intracelular, lo que conduce a una actividad osteolítica alterada y, finalmente, a la apoptosis de los osteoclastos.^{14, 19, 20}

En total se han propuesto tres mecanismos celulares:

- 1) Disminución en la actividad osteoclástica: El alendronato se une preferentemente a sitios de resorción ósea activa, es decir, debajo de los osteoclastos. Cuando los osteoclastos acidifican la interfase ósea al comienzo de la resorción, el alendronato es liberado en el espacio de resorción e interfiere con la formación del borde rugoso debajo de los osteoclastos.
- 2) Disminuye la formación de osteoclastos.
- 3) Disminución del ciclo de vida de los osteoclastos como resultado de la apoptosis. La capacidad del alendronato de interrumpir la formación del borde rugoso osteoclástico puede deberse a la inhibición de un paso en la vía metabólica del colesterol, que es esencial para la función y supervivencia de los osteoclastos.²⁰

2.1.6.2 Farmacocinética

Es poco absorbido por vía oral, cerca del 1% de la dosis, este porcentaje disminuye en la medida en que se ingiere con alimentos o calcio. Alrededor del 50% del alendronato reabsorbido se elimina por orina, el cual no se metaboliza, el resto se incorpora al esqueleto, el cual queda retenido por largo tiempo, alrededor de diez años. Es poco probable que todo ese alendronato actúe en los osteoclastos ya que la mayor parte quedara sepultada bajo capas de hueso nuevo y sólo actuara cuando el hueso sea reabsorbido.

2.1.6.3 Efectos adversos

Dolor abdominal, dispepsia, estreñimiento, diarrea, flatulencia, úlcera esofágica, distensión abdominal, regurgitación ácida, dolor músculo esquelético y cefalea.²¹

2.1.6.4 Formulación en gel tópica de Alendronato

Todos los procesos farmacocinéticos de absorción, distribución y eliminación requieren el paso de las moléculas del fármaco a través de membranas biológicas formadas por una doble capa de lípidos en la que se intercalan proteínas. Aunque las proteínas son las responsables de la mayor parte de las funciones de la membrana, incluyendo algunos procesos de transporte de fármacos, los lípidos condicionan en mayor grado el paso de los fármacos.

Las moléculas de pequeño tamaño atraviesan las membranas por difusión pasiva, por difusión facilitada o por transporte activo. Las de gran tamaño lo hacen por

procesos de pinocitosis y exocitosis. La velocidad de difusión a través de la bicapa lipídica depende del tamaño de la molécula, de su liposolubilidad y de su grado de ionización,

cuando este transporte es a favor del gradiente electroquímico, no requiere energía y se denomina difusión facilitada; cuando se realiza contra un gradiente electroquímico, consume energía y se denomina transporte activo.

El proceso de absorción comprende los procesos de liberación del fármaco de su forma farmacéutica, su disolución, y la llegada del fármaco al sitio de acción.

La absorción del fármaco depende de las siguientes características:

a) *Características fisicoquímicas del fármaco.* Comprenden el peso molecular que condiciona el tamaño de la molecular, la liposolubilidad y su carácter ácido o alcalino, que junto con su pKa, condicionan la ionización.

b) *Características de la preparación farmacéutica.* Para que el fármaco se absorba, debe estar disuelto.

c) *Características del lugar de absorción.* Dependen de la vía de administración (oral, intramuscular o subcutánea). En general, la absorción será tanto más rápida cuanto mayor y más prolongado sea el contacto con la superficie de absorción. Algunas de estas características son: la superficie y el espesor de la membrana.

- a. *Vía dérmica:* se utiliza en forma de cremas y pomadas para el tratamiento local de afecciones de la piel. Los fármacos liposolubles difunden bien, pero si el fármaco es hidrosoluble y la afección está en las capas profundas de la piel llegará mejor por otras vías. También se emplea para la administración sistémica mantenida de fármacos de forma aguda o crónica. La administración cutánea evita el primer paso hepático y las fluctuaciones de las concentraciones plasmáticas, permite terminar rápidamente la absorción del fármaco, reduce la variabilidad interindividual en la absorción, prolonga la duración de la acción y mejora el cumplimiento terapéutico.²²

2.1.7 QUITOSANO

2.1.7.1 Uso de quitosano en las formulaciones de geles e hidrogeles

Se han descubierto una gran cantidad de compuestos activos que afirman ser terapéuticos pero muestran pocas características médicas, esto se debe a su baja disponibilidad, la velocidad y medida en que el fármaco alcanza el sitio diana, la respuesta de los receptores en el tejido diana al fármaco, etc.

En los últimos años se han estudiado los polisacáridos, o biopolímeros como el quitosano, almidón, dextrano y galactano, son redes macromoleculares reticuladas, hinchados en agua o fluidos biológicos, el agua penetra en estas redes causando hinchazón, dando al hidrogel su forma, se obtienen de fuentes animales y vegetales.

Tienen una gran capacidad de retener una cantidad sustancial de disolvente en su estructura sin sufrir disolución, esta capacidad es proporcionada por ciertos grupos funcionales hidrófilos (-OH, -COOH, -CONH₂, -SO₃H) en las cadenas de polímeros, por la presencia de estos grupos funcionales los hidrogeles se consideran sensibles a las

condiciones del entorno circundante, como la temperatura, el pH, la fuerza iónica de las soluciones de la inflamación, la presencia de un campo magnético o la presencia de luz ultravioleta.

Cuando se unen a polímeros sintéticos como poli (alcohol vinílico) (PVA) o poli (ácido acrílico) (PAA) aumentan las propiedades mecánicas de los materiales resultantes.

Algunas de sus aplicaciones clínicas son en lentes de contacto, vendaje de heridas, catéteres, recubrimiento para suturas, córneas artificiales y sensores de electrodos.^{23, 24}

El quitosano es un heteropolímero de residuos de glucosamina y N-acetilglucosamina, (Figura 10) y se obtiene por desacetilación de quitina. Es una base débil, soluble en solución ácida (pH 6,5) e insoluble en agua y disolventes orgánicos. *Forma un hidrogel en presencia de aniones multivalentes, tales como aniones de tripolifosfato (TPP) por interacción iónica entre los grupos amino cargados positivamente de quitosano y el contra ión ióno de carga negativa de TPP.* Debido a su naturaleza hidrofílica y a su mayor solubilidad en medio ácido, los hidrogeles de quitosano exhiben resistencia mecánica relativamente baja y capacidad limitada para controlar la liberación de los compuestos encapsulados, requiriendo así una modificación química facilitada por sus grupos hidroxilo y amino.

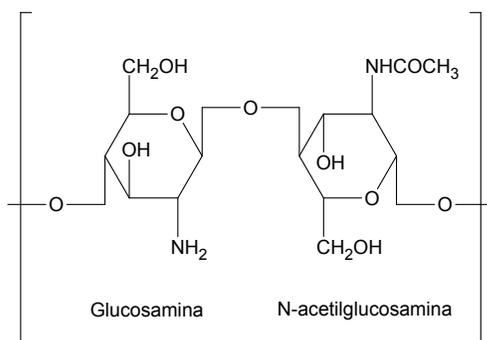


Figura 10. Estructura del polímero de quitosano.

Se ha demostrado que los hidrogeles de quitosano modificados son un portador potencial para el suministro de diferentes tipos y tamaños de moléculas de fármaco.²⁵

El hidrogel con quitosano por su biocompatibilidad, baja toxicidad, degradabilidad por enzimas humanas, hidrofilia, grupos amino funcionales y una carga catiónica neta es un polímero adecuado para la administración inteligente de compuestos macromoleculares, tales como péptidos, proteínas, antígenos, oligonucleótidos y genes.²⁴

La liberación local de medicamentos en la cavidad oral puede ser utilizada para tratar varias enfermedades como enfermedad periodontal, estomatitis por hongos e infecciones de origen viral, así como lesiones cancerosas orales. Debido a su propiedad mucoadhesiva los hidrogeles de quitosán han demostrado el aumento de la penetración de fármacos en la cavidad oral, mejorando así la eficacia terapéutica.²⁴

2.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Kaipatur *et al.* realizaron un estudio en el cual se incluyó inicialmente 34 ratas Sprague-Dawley hembra (12 semanas de edad) y asignadas al azar a 4 grupos de cohortes. Dos grupos fueron pre tratados durante 12 semanas con Alendronato sódico (0,015 mg / kg subcutáneamente) (grupo BP + TM (n = 7) y BP + TM + SADcgroup (n = 8)) y los otros grupos fueron pre tratados con solución salina (grupo TM n = 7) y el grupo TM + SADc (n = 8). Después de 12 semanas de administración de fármaco BP / salina, todos los grupos tenían el aparato ortodóncico insertado para facilitar el movimiento del diente. Se realizó cirugía de decorticación alveolar selectiva (SADc) a dos grupos; se realizó el procedimiento quirúrgico el día de la inserción del aparato ortodóncico (micro implante y un resorte de NiTi que iba de la zona anterior a el primer molar superior derecho). Se usaron hemi-maxilares izquierdos como un control negativo intra-animal tanto en ratas controladas como en ratas con carga de BP. Este estudio concluyó que el movimiento dental fue mayor al realizar la decorticación alveolar en ratas tratadas con alendronato que con el grupo sin decorticación, esto se debió a una severa pérdida de hueso alveolar interproximal y bucal, infiltración bacteriana, infiltrado inflamatorio, bordes irregulares y zonas necróticas.¹⁷

Karras *et al.* utilizaron dos grupos de ratas Sprague-Dawley. Las ratas del grupo de tratamiento recibieron 7 mg por kilogramo de peso corporal por semana de alendronato sódico el cual se administró directamente en el estomago del animal y las del grupo de control no recibieron fármacos, se cementó un resorte helicoidal (fuerza constante de 50 g) se activó a través del tramo desde los incisivos centrales hasta el primer molar. Como el primer molar se movió mesialmente, se creó un diastema entre el primer y segundo molares. Se tomaron impresiones, y el diastema se midió indirectamente con una cámara. Obtuvieron que hubo menor movimiento dentario ortodóncico en el grupo alendronato en comparación con el grupo control (0,06 frente a 0,24 mm a las 2 semanas y 0,45 vs 1,06 mm a las 4 semanas, P 5 0,0004 para el alendronato vs efecto principal de control). Por lo que se concluyó que hay un efecto inhibitorio en el movimiento dentario ortodóncico en un modelo de rata por la administración de alendronato.²⁰

En un estudio piloto Kaipatur *et al.* Investigaron el efecto del uso prolongado de bifosfonatos en el movimiento dental ortodóncico en un modelo murino, en el cual utilizaron 20 ratas Sprague Dawley y realizaron la pro tracción ortodóncica de los primeros molares superiores con resortes NiTi y micro implantes. Las ratas se dividieron en 4 grupos de 5 ratas cada uno, a los dos primeros grupos se les aplicó alendronato o excipiente durante el movimiento de ortodoncia. El tercer y cuarto grupo se pre trato durante 3 meses con alendronato o excipiente el cual se interrumpió antes del movimiento dental ortodóncico. Las mediciones se obtuvieron a las 0, 4 y 8 semanas usando tomografía *in vivo* de alta resolución, los tejidos se analizaron con histología y marcaje dinámico de la rotación ósea. Este estudio concluyó que el uso de bifosfonato previo al tratamiento de ortodoncia redujo significativamente el movimiento dentario ortodóncico.²⁶

En un estudio realizado por el Dr. Aristizabal *et al.* se evaluó el efecto de BP aplicado localmente y sistémicamente, sobre el hueso alveolar de ratas Sprague Dawley, sometidas a fuerzas ortodóncicas. Se utilizaron 6 ratas prototipo y 4 ratas machos para el estudio, una vez estandarizado el proceso, se tomó un espécimen control, un espécimen blanco y dos experimentales (administración local y sistémica). Se realizó un movimiento ortodóncico con un dispositivo calibrado a una fuerza de 30 g/mm² durante un periodo de 21 días, en los primeros molares superiores. Posteriormente se administró el bifosfonato, de forma local a una dosis de 0.08 mg/ml aplicados cada 3 días; y de forma sistémica a una dosis 0.2 mg/ml aplicados cada día; durante un periodo de 21 días. Se

realizaron análisis histológicos y microscópicos de las muestras. Se observó un cambio inhibitorio en la actividad osteoclástica, principalmente en la rata sometida a tratamiento sistémico.²⁹

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los mayores retos al que se enfrentan los ortodontistas hoy en día es el mover los órganos dentarios de tal forma que se consiga una correcta oclusión, sin realizar movimientos indeseados. Para poder lograr esto es necesario controlar el anclaje durante el tratamiento.

En la actualidad existen diferentes aditamentos para conseguirlo, pero cada uno tiene sus desventajas, algunos son muy voluminosos, otros interfieren con la conformación transversal de las arcadas y otros presentan diferentes molestias para el paciente.

Lo anterior nos lleva a preguntar lo siguiente:

¿La formulación en gel de alendronato al 1% más quitosano aplicado tópicamente a los molares superiores de ratas de la cepa Sprague Dawley, en dosis semanales, durante 6 semanas promueve el anclaje farmacológico?

4. JUSTIFICACIÓN

El anclaje dental en ortodoncia es una parte muy importante del tratamiento, ya que nos permite tener un control sobre los movimientos que deseamos realizar, el mayor inconveniente de esto es el uso de aparatos y aditamentos incómodos que pueden llegar a interferir con otras áreas del tratamiento como la expresión transversal del arco, por lo que un anclaje farmacológico con alendronato podría hacer más eficiente el tratamiento ortodóncico.

El propósito de esta investigación es mostrar si la aplicación tópica del gel de alendronato al 1% con quitosano en la mucosa del primer molar superior derecho en un modelo murino funciona como anclaje dental local debido a la inhibición de la resorción ósea del área en la que se aplica el gel.

Se decidió utilizar AL debido a su alta afinidad por el hueso mineral y capacidad de inhibir la resorción ósea mediada por osteoclastos, además se eligió una vía de administración tópica para evitar la posibilidad de la aparición de reacciones adversas, como la esofagitis, la cual es una de las más comunes al administrarse de manera oral; Añadiendo quitosano al gel para promover la lenta y continua liberación del medicamento.

Debido a la poca literatura científica que habla sobre el tema, esta investigación tiene gran relevancia, ya que aportara un conocimiento más amplio al campo de la ortodoncia.

5. HIPÓTESIS

HIPÓTESIS CIENTIFICA.- El alendronato en gel al 1% más quitosano aplicado tópicamente en dosis repetidas en molares superiores de ratas Sprague Dawley es eficaz como anclaje farmacológico .

HIPÓTESIS NULA: El alendronato en gel al 1% más quitosano aplicado tópicamente en dosis repetidas en molares superiores de ratas Sprague Dawley no es eficaz como anclaje farmacológico.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar la eficacia del uso de gel de alendronato al 1% más quitosano en la mucosa oral como alternativa de anclaje ortodóncico en rata de la cepa Sprague Dawley.

6.2 Objetivos particulares

Cuantificar el anclaje a través de la medición radiográfica milimétrica de la mesialización obtenida en el primer molar superior en el modelo murino de la cepa Sprague Dawley, al que se le aplicará alendronato más quitosano en gel en dosis semanales durante 6 semanas en comparación con el grupo control.

7. MATERIAL Y MÉTODO

7.1 Diseño del estudio

a) De acuerdo a la intervención del investigador:

- Cuasi-experimental.

b) De acuerdo con la evolución del fenómeno en el tiempo:

- Prospectivo.

c) De acuerdo al número de mediciones:

- Longitudinal.

d) De acuerdo al número de variables:

- Analítico.

7.2 Población y muestra

Definición de la población de estudio

- 16 ratas machos sanos de la cepa Sprague Dawley de 8 a 12 semanas de edad con un peso entre 150-300 gramos

Definición de la población de muestra

- Muestreo no probabilístico por conveniencia que cumplan los criterios de inclusión. El cálculo de la 'n' no se hizo en base a fórmulas sino considerando el apartado de la NOM-062-ZOO-1999 donde se sugiere reducir al máximo el número de animales en investigación.

7.3 Criterios de selección

7.3.1 Inclusión

-Ratas machos de la cepa Sprague Dawley de 150 - 300 gramos de peso

-De 8 a 12 semanas

-Ratas sanas

7.3.2 Exclusión

-Ratas con enfermedades que afecten la investigación

-Ratas que no estén entre los 200-300 gramos de peso

7.3.3 Eliminación

-Ratas que disminuyan su peso por debajo del 30 % durante el periodo experimental

-Ratas que hayan perdido y/o dañado el resorte

-Ratas que durante el experimento contraigan alguna enfermedad

7.4 Variables e instrumentos

Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Nivel de dependencia	Escala y categorías
Movimiento dental (mesialización)	Es el movimiento realizado en el diente por fuerzas que pasan por su centro de resistencia	Medir el movimiento dental con una regla vernier milimétrica	Dependiente	Cuantitativa continua (milímetros)
Tratamiento farmacológico	Aplicación de un fármaco para generar resistencia al movimiento ante la aplicación de una fuerza.	-Aplicación de alendronato al 1% mas quitosano al 1% en gel, en la mucosa alveolar del primer molar superior. una vez a la semana por 6 semanas	Independiente	Cualitativa Nominal Dicotómica (Con/Sin)
Fuerza ortodóncica	Capacidad física para realizar un trabajo o un movimiento dental	Coil Spring de 6 mm con 50 gr de fuerza constante.	Independiente	Cualitativa Nominal Dicotómica (Con/Sin)

7.5 Concordancia fiabilidad:

- Para medir las variables se utilizará calibradores digitales para mediciones milimétricas, la evaluación de la aplicación de la fuerza ortodóncica se realizará con un dinamómetro.
- Para establecer la concordancia de calibración se llevará a cabo una medición intraindividuo de la distancia entre el molar maxilar y el incisivo superior derecho con un calibrador digital por dos observadores quienes estarán encargados del desarrollo de la investigación.

7.6 Fuentes de información y recolección

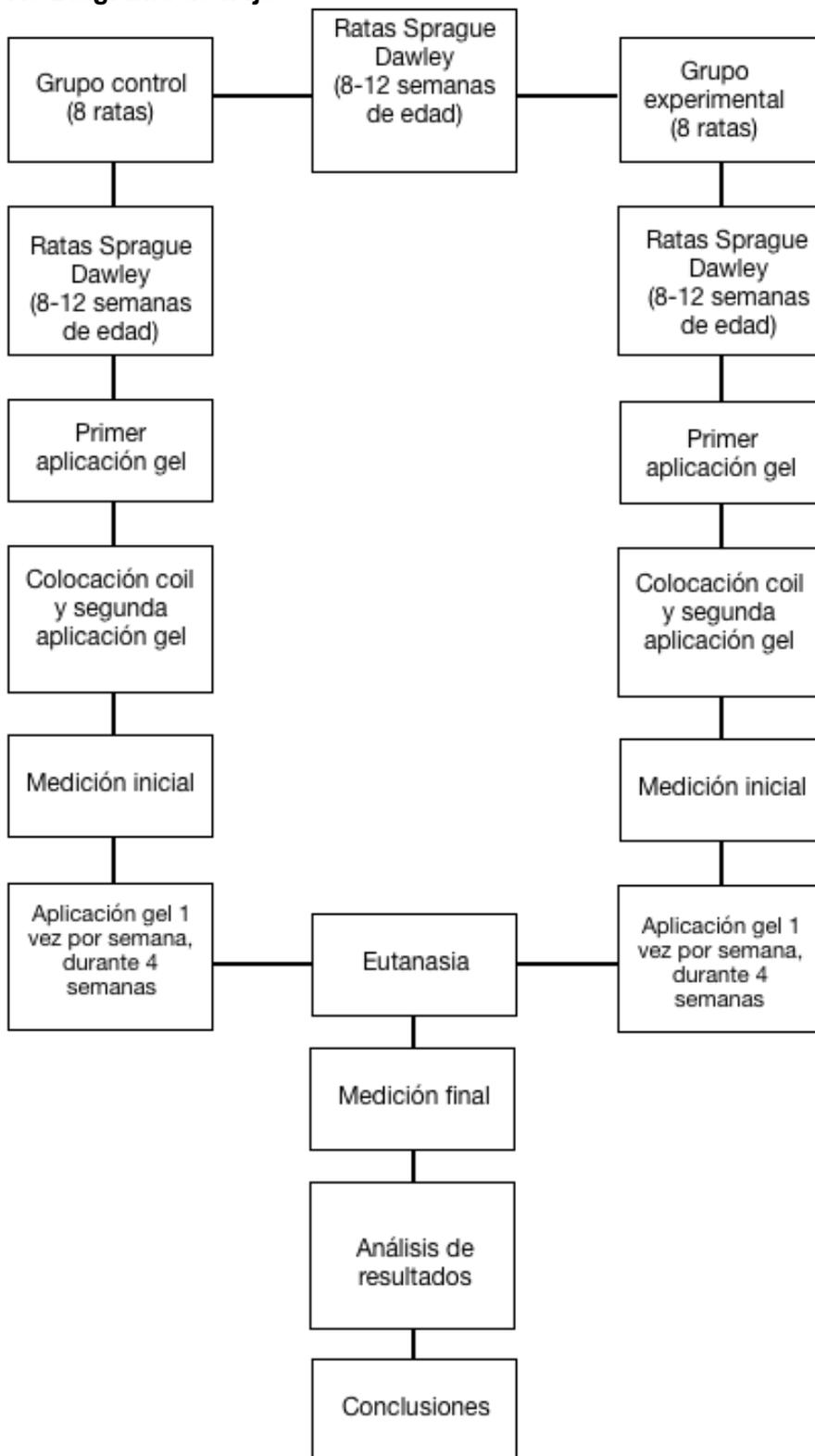
7.7 Fuentes primarias

- i. Observación
- ii. Exploración clínica

7.8 Fuentes secundarias

- i. Radiografías: evaluar y medir los movimientos del molar maxilar, con una secuencia de una radiografía al inicio y una al final del período experimental

7.9 Diagrama de flujo



7.10 Procedimientos

Se realizará un estudio Quasi-experimental, con 16 ratas machos de la cepa Sprague Dawley, mantenidas bajo todas las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio según la NOM 062-ZOO-1999. Se desarrollará en un ambiente controlado, dentro del Bioterio Claude Bernard, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. El Bioterio cuenta con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas cada uno y ventilación con extractor, a una temperatura de 18° a 26°C, una humedad de 40-70%, aire de 15 a 20 cambios por hora, con un ruido a no más de 85 decibeles, las ratas se mantendrán en un espacio de 150 cm² por cada 200 gramos de peso y serán alimentadas con libre acceso a comida y agua, en jaulas diferenciadas.

Los alumnos participantes en el proyecto tomarán el curso de manejo de animales y previamente serán entrenados y calibrados usando ratas de prueba para realizar el procedimiento quirúrgico y de aplicación tópica del gel.

La muestra de 16 ratas, será dividida en dos grupos, asignandose el número de ratas de manera aleatoria, usando un dado en donde si el número del dado cae en par, las ratas sera designada al grupo espermental y si cae impar, seran asignadas al grupo control.

8 ratas tratadas con aplicación de gel con alendronato más quitosán al 1% en la mucosa alveolar del primer molar maxilar derecho.

8 ratas control con una aplicación de gel con solo los excipientes en la mucosa alveolar del primer molar maxilar derecho.

Las ratas serán seleccionadas con una edad de 6 semanas, con un peso entre 150-210 gramos.

El marcaje de cada uno de los grupos se realizará por espécimen, al cual se le asignará un número romano y se marcará con tinta permanente en la base de la cola.

Grupos	Tratamiento	Fuerza	No. de ratas
Grupo experimental	-Aplicación de gel con Alendronato al 1% y quitosano al 1% -Dosis: 1 vez a la semana -2 semanas antes de la colocación del resorte y 4 después de la colocación del resorte	Coil spring cerrado NiTi de 8mm con 50gr de fuerza constante	8 ratas Sprague Dawley
Grupo control	-Aplicación de gel con excipiente -Dosis: 1 vez a la semana -2 semanas antes de la colocación del resorte y 4 después de la colocación del resorte	Coil spring cerrado NiTi de 8mm con 50gr de fuerza constante	8 ratas Sprague Dawley

7.10.1 Colocación del resorte:

La colocación del resorte se realizará en el laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Serán anestesiadas con la mezcla de ketamina/ xilasina (0.20 mg/kg de peso) con una técnica parenteral, específicamente intraperitoneal.

Antes de colocar el resorte se tomará una radiografía periapical tomada con el equipo de rayos X Corix plus con radiovisiografo Kodak, Carestream, modelo RVG 5200, tamaño de sensor 1.

Se utilizará un dispositivo previamente seleccionado para mantener la apertura bucal de la rata y retraer los tejidos blandos.

Posteriormente se cementará el resorte NiTi de 8mm de la marca GAC, de acuerdo al protocolo de adhesión el cual consta de la desmineralización del esmalte con ácido Etching Solution ORMCO durante 15 segundos, posteriormente la colocación por medio de un microbrush del adhesivo Ortho Solo ORMCO, después se colocará un extremo del resorte en la primera molar superior con resina Enlight ORMCO la cual se fotocurará por 15 segundos y el otro extremo se ligará a los dos incisivos superiores por medio de ligadura metálica de 8mm, reforzada con resina alrededor de la misma.

Dependiendo la longitud entre el primer molar y los incisivos de cada rata la ligadura se estirará hasta que el resorte ejerza una fuerza de 50gr.

Una vez pasado el efecto del anestésico se le dosificará a las ratas paracetamol (200mg/kg de peso) como analgésico.

Las ratas se regresaran al bioterio Claude Bernard para su alojamiento y posterior aplicación del gel.



Fig. 11 y 12 Activación del resorte mediante el uso de ligadura metálica colocada en ambos incisivos superiores



Fig. 13 Fotografía final de la colocación del resorte

7.10.2 Aplicación farmacológica:

La técnica de aplicación se realizara, primero con un hisopo se limpiará la encía del primer molar superior derecho, posteriormente secar la zona y con un microbrush aplicar el gel 1 vez a la semana, durante 6 semanas, al grupo experimental se le colocará gel con alendronato más quitosano y al grupo control gel con excipiente en una cantidad de 20 microlitros por aplicación.

Se monitorizarán los cambios físicos (peso, comportamiento, dolor) y se anotarán en la bitácora.



Fig. 14 Aplicación del fármaco en gel (20 μ l aproximadamente) mediante el uso de un microbrush

Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
1era aplicación de gel de alendronato más quitosán	-Colocación de la aparatología ortodóncica. -2da aplicación de del gel con alendronato más quitosán	3era aplicación de gel de alendronato más quitosán	4ta aplicación de gel de alendronato más quitosán	5ta aplicación de gel de alendronato más quitosán	6ta aplicación de gel de alendronato más quitosán

7.10.3 Medición de los resultados:

Los animales serán sacrificados después de finalizar el período de manejo farmacológico (6 semanas) mediante inyección letal de ketamina/xilasina

Se realizarán evaluaciones en el grupo experimental y control el día 0 y a las 6 semanas, en las que se medirá el desplazamiento dental generado por el resorte de NiTi.

7.11 Análisis estadístico

Para variables numéricas se utilizarán medidas de tendencia central y de dispersión, y para determinar la diferencia entre los grupos se utilizará la prueba *t student* con su respectiva significancia estadística del valor $p \leq 0.05$.

7.12 Logística

7.12.1 Recursos humanos

- Directora de tesis
- Alumna de segundo año de la Maestría en Estomatología, con terminal en Ortodoncia

7.12.2 Recursos materiales

- Materiales necesarios:
 - Resortes de NiTi GAC de 8mm
 - Resina ORMCO
 - Ácido fosfórico
 - Ortho solo
 - Microbrush
 - Hisopos
 - Ligadura de 9 mm
 - Jeringas 1ml
 - Alendronato
 - Carbopol
 - Lámpara de fotocurado
 - Plumón permanente
 - Jaulas
 - Guantes
 - Cubre bocas

- Alimento Ladrina de Purina
- Dinamómetro
- Radiovisiógrafo
- Calibrador
- Cámara fotográfica
- Paracetamol

7.12.3 Recursos financieros

- Resortes, calibrador digital y cámara fotográfica: Beca CONACYT
- Gel, quitosano, alendronato, plumón permanente, guantes, cubre bocas, campos, instrumental de trabajo, radiografías, paracetamol, jeringas de 1ml, paracetamol: Directora de la tesis y laboratorio multidisciplinario.
- Dinamómetro: Dr. Víctor Hernández Vidal
- Radiovisiógrafo: Clínica de endodoncia de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

7.13 Apego a la bioética

Esta investigación se realizará conforme a las consideraciones éticas mantenidas bajo todas las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio según la NOM 062-ZOO-1999.

Dictamen y aprobación por parte del comité de investigación de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Los fármacos que se utilizarán no representan riesgo para el personal.

El manejo de RPBI del proyecto se realizará conforme a la norma NOM-087-ECOL-SSA1-200

El manejo de los animales de laboratorio de este proyecto será supervisado por el médico veterinario Dr. Francisco Collazo director del Bioterio Claude Bernard de nuestra institución.

Los alumnos participantes en el proyecto tomarán el curso de manejo de animales en el bioterio Claude Bernard de la BUAP y previamente fueron entrenados y calibrados usando ratas de prueba para realizar el procedimiento quirúrgico y de aplicación tópica del gel.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron vaciados en la hoja de cálculo Excel Microsoft 2013, posteriormente fueron procesados en los paquetes estadísticos SPSS versión 22 y Statgraphics *Centurion*. Se utilizó estadística descriptiva, para variables numéricas se utilizaron medidas de tendencia central y de dispersión, medidas de posición y de forma; para variables cualitativas se utilizaron porcentajes y gráficos correspondientes, para determinar diferencias entre los grupos se utilizaron las pruebas T de Student para grupos independientes y T de Student pareada, ambas, con su respectiva significancia estadística $p \leq 0.05$.

9. RESULTADOS

En el comparativo descriptivo de la mesialización clínica de antes/después en el grupo control, se puede apreciar un aumento del valor inicial $11.64 \pm 0.97\text{mm}$ versus valor final $12.4 \pm 0.79\text{mm}$. Donde se observó una diferencia de 0.79 mm la cual no fue estadísticamente significativa ($p = .0105$) Dado que los datos presentaron una distribución normal, la prueba estadística fue T de Student pareada (Tabla 1).

Tabla 1. Mesialización Clínica Grupo Control

Mesialización Clínica Grupo Control			
	Control Inicial	Control final	Diferencia
Recuento	8	8	8
Promedio	11.64	12.4	0.79
Desviación estándar	0.97	0.79	1.18
Error estándar	0.34	0.28	0.42
Coefficiente de variación	0.08	0.06	1.49
Mínimo	9.36	10.9	-0.5
Máximo	12.23	13.4	3.4
Rango	2.87	2.5	3.9
Sesgo estandarizado	-2.64	-1.13	-1.51
Curtosis estandarizada	5.5	0.86	3.99
T = -1.858			
Valor P = .105			

Estadística descriptiva de la mesialización clínica en el grupo experimental donde se aplicó un gel de Quitosano al 1% con Alendronato al 1%, se puede apreciar una aumento del valor inicial $11.39 \pm 0.78\text{mm}$ versus valor final $12.4 \pm 0.88\text{ mm}$. Con una diferencia de 1.01 mm la cual no fue estadísticamente significativa ($p = 0.085$) Dado que los datos presentaron una distribución normal, la prueba estadística fue T de Student pareada (Tabla 2).

Tabla 2. Mesialización Clínica Grupo Alendronato

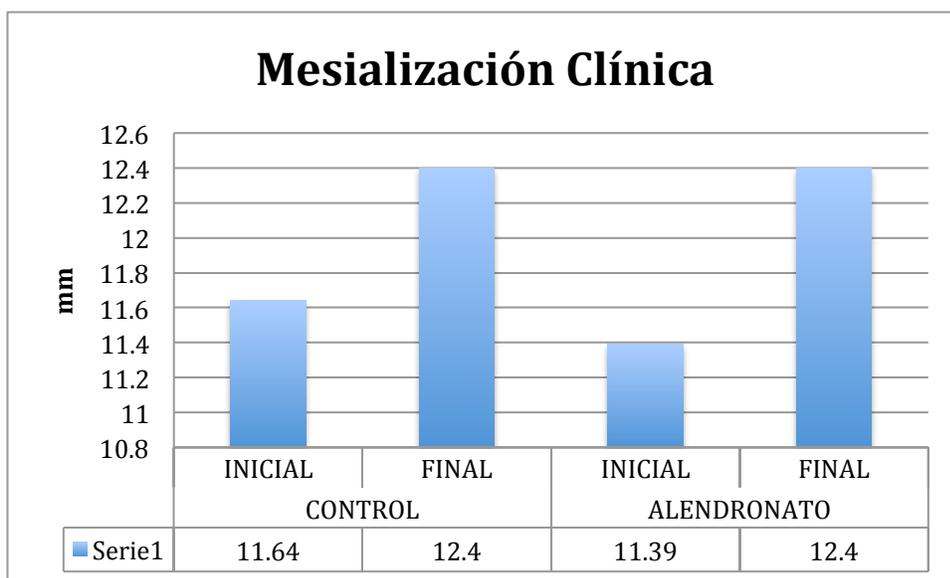
Mesialización Clínica Grupo Alendronato			
	Experimental Inicial	Experimental final	Diferencia
Recuento	8	8	8
Promedio	11.39	12.4	1.01
Desviación estándar	0.78	0.88	1.43
Error estándar	0.28	0.31	0.5
Coefficiente de variación	0.06	0.07	1.41
Mínimo	10.1	10.8	-1.2
Máximo	12.1	13.6	3.5
Rango	2	2.8	4.7
Sesgo estandarizado	-1.15	-0.56	-0.59
Curtosis estandarizada	1.48	1.48	1.48
T = -2.04			
Valor P= .085			

En la tabla 3 y gráfico 1 se observa la estadística descriptiva del grupo control y el grupo experimental con un gel de Quitosano al 1% más Alendronato al 1 %, donde el primero presentó un valor promedio mayor 1.01 ± 1.43 mm, siendo las diferencias entre ambos grupos no significativas estadísticamente ($p= 0.736$), la prueba estadística fue T de Student para grupos independientes (Tabla 3, Gráfico 1).

Tabla 3. Comparativa Datos Finales

Comparativa Datos Finales		
	Control	Experimental
Recuento	8	8
Promedio	1.01	0.79
Desviación estándar	1.43	1.18
Error estándar	0.5	0.42
Coefficiente de variación	1.41	1.49
Mínimo	-1.2	-0.5
Máximo	3.5	3.4
Rango	4.7	3.9
Sesgo estandarizado	0.34	1.76
Curtosis estandarizada	0.532	3.99
T = -.344		
Valor P=.736		

Gráfico 1. Mesialización clínica



10. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó un gel de quitosano con alendronato al 1%, con el fin de saber si influyó en la mesialización del primer molar superior en un modelo murino, el gel se aplicó tópicamente en la mucosa del primer molar superior derecho 1 vez por semana durante 6 semanas en un grupo experimental de 8 ratas comparadas contra un grupo control, al cual se le aplicó un gel con excipiente. A ambos grupos se les colocó un resorte en el primer molar superior derecho sujetado a los incisivos, generando una fuerza inicial de 50 gr. Al final de estas 6 semanas se sacrificaron las ratas y se realizó la comparación radiográfica de la mesialización final de los dos grupos.

Observamos que no hubo un cambio estadísticamente significativo en la mesialización al final del tratamiento entre el grupo experimental comparado contra el control, esto es contrario a lo reportado por investigaciones previas³⁰ y comparado con un estudio paralelo realizado por nuestro grupo de investigación, en donde a ratas con las mismas condiciones de nuestros grupos, se les administró tópicamente un gel de Alendronato al 1%, con una frecuencia de aplicación de cada tercer día, en ese estudio se encontró que el Alendronato inhibió la mesialización después del tratamiento farmacológico.

En nuestro estudio se hizo énfasis en utilizar un sistema de liberación prolongada del Alendronato, gracias al quitosano añadido a la formulación, el cual se ha demostrado en estudios que posee características mucoadhesivas y bioadhesivas cuando se agrega a geles utilizados en la cavidad oral²⁴, es por eso que se decidió

utilizar una frecuencia de administración de 1 vez por semana, al contrastar esto con un estudio realizado por Aristizabal y cols. (2003) en donde se comparó la aplicación de alendronato por vía sistémica y tópica, encontraron que aunque hay una menor resorción ósea debido a la inhibición de los osteoclastos en la rata con aplicación sistémica, la rata con aplicación tópica también presentó una reducción de la resorción ósea, con una aplicación del gel cada tercer día. Con estos resultados podemos inferir que la frecuencia de aplicación influye sobre los resultados obtenidos.²⁹

La vía de administración tópica resalta diferentes ventajas como evitar el primer paso hepático metabólico y la actividad proteolítica y acidez del tracto digestivo.²⁴ Esta vía de administración supone una mayor comodidad, debido a su fácil administración y disminución de los efectos secundarios que pudieran presentarse, en un experimento realizado por Thirumal y cols (2005) se aplicó un gel con la misma formulación para tratar defectos óseos en pacientes con enfermedad periodontal, como resultado obtuvieron una mejora significativa en la resorción ósea, debido a la inhibición de osteoclastos y un aumento en la formación ósea comparando el grupo experimental contra grupo control. La diferencia con este estudio fue el tipo de aplicación, ya que aunque en los dos experimentos el gel se aplicó por vía tópica, en el estudio de Thirumal se aplicó directamente sobre el defecto óseo, por debajo del colgajo. Esto podría indicar que al aplicar el gel sobre la mucosa oral, este pierde efectividad para actuar a nivel óseo.^{22, 31}

En nuestro experimento utilizamos resortes de NiTi y ligadura para aplicar la fuerza ortodóncica sobre el primer molar superior de las ratas, la calibración de la misma se realizó evidenciando con un dinamómetro la cantidad de fuerza que liberan por cada milímetro de estiramiento, posteriormente se midió clínicamente la distancia entre el molar y el incisivo del mismo lado para conocer cuantos milímetros debíamos estirar el resorte para llegar a los 50 gr de fuerza. Este método resulta muy efectivo para evaluar la fuerza inicial del tratamiento, aunque para futuras investigaciones recomendaríamos la calibración al inicio y durante el tratamiento, de tal forma que el resorte ejerza la misma cantidad de fuerza durante todo el experimento.

El resultado de este trabajo comparado con los diferentes experimentos previamente mencionados nos muestra la importancia de la vía de administración, la frecuencia de aplicación del gel y la calibración de la fuerza ejercida. Para futuras investigaciones valdría al pena considerar una mayor frecuencia de aplicación, corroborar si la fuerza es la adecuada para el movimiento dental en ratas y tomar en cuenta el grosor de la mucosa oral. Es necesario llevar a cabo más estudios que demuestren histológicamente el efecto de la aplicación tópica del Alendronato con un sistema prolongado de liberación del mismo.

11. CONCLUSIONES

El gel de Alendronato al 1% más Quitosano aplicado una vez por semana durante seis semanas en la mucosa del primer molar superior de ratas Sprague Dawley, no interfiere con la mesialización dental por lo tanto no se observa anclaje dental.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Jimenez I, Roberto R. Biomecánica de la ortodoncia para el odontólogo general. *Revces Odontol.* 1989; 2(1): 51–9.
2. Yao CCJ, Lai EHH, Chang JZC, Chen I, Chen YJ. Comparison of treatment outcomes between skeletal anchorage and extraoral anchorage in adults with maxillary dentoalveolar protrusion. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2008;134(5):615–24.
3. Fleisch H. Bisphosphonates: Mechanisms of Action. *Endocrine Reviews.* 2014; 19 (1), 80-100.
4. Karras JC, Miller JR, Hodges JS, Beyer JP, Larson BE. Effect of alendronate on orthodontic tooth movement in rats. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2009; 136(6): 843–7.
5. Ortega AJ a J, Campbell PM, Hinton R, Naidu A, Buschang PH. Local application of zoledronate for maximum anchorage during space closure. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2012; 142(6): 780–91.
6. Geneser Fin. Tejido esquelético. En: Geneser Fin. *Histología.* Segunda edición. Munksgaard, Copenhagen: Editorial Panamericana; 1990. 206-227.
7. Davidovitch Z. Tooth Movement. *Critical Reviews in Oral Biology and Medecine.* 1991; 2 (4): 411-450.
8. Proffit W., Fields H., Sarver D. Bases biológicas del tratamiento ortodóncico. En: Proffit W. *Ortodoncia contemporanea.* Quinta edición. Editorial Elsevier; 278-304
9. Krishnan V., Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue – level reactions to orthodontic force. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* (internet). 2006; 129 (4): 468.e1 – 469.e29.
10. Dewey M. Anchorage and attachment. *The International Journal of Orthodontia and Oral Surgery.* 1919; 5 (12), 694-696.
11. Jiménez I., *Biomecánica de la ortodoncia para el odontólogo.* CES Odontología. 1989; 2 (1), 51-59.
12. Kiapatur N., Impact of selective alveolar decortication on bisphosphonate burdened alveolar bone during orthodontic tooth movement. *Archives of Oral Biology.* 2015; 60 ,1681-1689.
13. Vidal M. Seguridad de los bifosfonatos. *Revista de la Sociedad Española del Dolor.* 2011; 18 (1).
14. Carranza F., Jódar E., Martínez G. Bases moleculares del mecanismo de acción de los bifosfonatos. *REEMO.* 2000; 9 (5), 169-171.
15. Giribone J., Catagnetto P. Osteonecrosis de los maxilares inducida por bifosfonatos; lo que el odontólogo debe saber hoy: pautas y protocolos. *Odontoestomatología.* 2013; 15 (21), 45-58.
16. Sahni M., Guenther H., Fleisch H., Collin P., Martin J. Biphosphonates Act on Rat Bone Resorption through the Mediation of Osteoblast. *The American Society for Clinical Investigation.* 1993; 9 (5), 2004-2011.
17. Kiaptur N. 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.* 2013; 144 (4), 557-567.
18. Maldonado O., Ramírez I., García J., Ceballos G., Méndez E. Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas.* 2012; 43 (2), 7-22.

19. Fisher J., Rogers M., Halasy J., Luckman S., Hughes D., Masarachia P., Wesolwski G., Russell R., Rodan G., Rezka A. Alendronate mechanism of action: geranylgeraniol, an intermediate in the mevalonate pathway, prevents inhibition of osteoclast formation, bone resorption, and kinase activation *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999; 96, 133-138.
20. Ministerio de Salud Purú (internet). Alendronato sódico. Centro de atención farmacéutica (CAF DIGEMID).
21. Heredia C. Alendronato semanal. Hoja de Evaluación de Medicamentos de Castilla La Mancha. 2002; 3 (9), 1-2.
22. Flores J., Farmacología humana. Tercera edición. Barcelona: Editorial Masson, 1997
23. Mohammad N., Khan S. Chitosan / Poly (vinyl alcohol) Based Hydrogels for Biomedical Applications: A Review. *Journal of Pharmacy and Alternative Medicine.* 2013; 2(1), 30-41.
24. Bhattarai N. Chitosan based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Advances Drug Delivery Reviews.* 2010; 62, 83-99.
25. Kumar T. Modified chitosan hydrogels as drug delivery and tissue engineering systems: present status and applications. *Acta Pharmaceutica Sinica.* 2012; 2(5), 439-449
26. Kiapatur N., Wu Y., Adeeb S., Stevenson T., Major P., Doschak M. Impact of bisphosphonate drug burden in alveolar bone during orthodontic tooth movement in a rat model: A pilor study. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.* 2013; 144 (4), 557-567.
27. De Groen P., Lubbe D., Hirsch L., Diafotis A., Stephenson W., Freedholm D., Pryor-Tillotson S., Seleznick M., Pinkas H., Wang K. Esophagitis Associated with the use of Alendronate. *The New England Journal of Medecine.* 1996; 335 (14), 1016 – 1021.
28. Zahrowski J. Optimizing orthodontic treatment in patients taking bisphosphonates for osteoporosis. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.* 2009; 135 (3), 361-374.
29. Aristizabal F., Cruz M., León P. Validación de un modelo de estudio microscópico, para evaluar el efecto de bifosfonatos sobre hueso alveolar de ratas sometidas a fuerzas ortodóncicas. *Revista Iberoamericana de Ortodoncia.* 2003; 22(1), 27-38.
30. Anchorage and retentive effects of a bisphosphonate (AHBuBP) on tooth movements in rats, *Am J Orthod Dentofacial oRTHOP.* 1994 sEP; 106 (3):279-89.
31. Thirumal Reddy G., Pramod Kumar T.M., Veena. Formulation and evaluation of Alendronate Sodium gel for the treatment of bone resrptive lesions in Periodontitis. *Drug Delivery,* 12:217-222, 2005, Taylor & Francis Inc., ISSN: 1071-7544