



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

ADMINISTRACIÓN DE OMEGA 3 Y ASPIRINA POST- EXTRACCIÓN, EN UN MODELO
DE OSTEONECROSIS MAXILAR ASOCIADA A BIFOSFONATOS.

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A

Cassandra Alí Ríos García

Director: Dr. José Francisco Gómez Clavel

Dictaminadores: Dra. Cynthia Georgina Trejo Iriarte

Dr. Alejandro García Muñoz



Los Reyes Iztacala, Edo. De México, Febrero 2020.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

Agradecimientos	3
Resumen	4
Abreviaturas	5
I. Introducción	
1. Tejido óseo	6
2. Bifosfonatos	8
3. Osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos	10
4. Modelos animales de osteonecrosis maxilar	14
5. Respuesta inflamatoria al daño tisular	17
6. Mediadores lipídicos de la inflamación	18
7. Síntesis lipoxinas y resolvinas	21
8. Resolución inflamatoria y restitución de los tejidos	24
II. Planteamiento del problema	25
III. Justificación	26
IV. Objetivos	26
V. Hipótesis	27
VI. Metodología	27
VII. Resultados	34
VIII. Discusión	43
IX. Conclusiones	45
XI. Referencias bibliográficas	46

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Francisco Gómez Clavel, por brindarme los recursos y la oportunidad de realizar este proyecto bajo su dirección.

A mi madre, por creer en mí e impulsarme a lograr mis objetivos, por ser la persona más exigente, incondicional y mi mayor ejemplo.

A mi padre, por su apoyo, su cariño y su paciencia durante mi formación universitaria.

A mis compañeros y amigos, Francisco Vite Fonseca y Luis Fernando Tobías por su apoyo, su tiempo y las trascendentales charlas durante nuestra estancia en el LIEO.

RESUMEN

Los bifosfonatos son un grupo de fármacos utilizados en la prevención y tratamiento de enfermedades que afectan o aceleran el proceso de resorción en el tejido óseo. Desde hace más de una década surgieron los primeros reportes acerca del desarrollo de una patología asociada a la administración de estos medicamentos. La osteonecrosis maxilar, es uno de los efectos secundarios de una terapia antirresortiva en la que se emplean bifosfonatos; se caracteriza por la exposición de un área de hueso en la región maxilar o mandibular, que persiste por más de dos meses.

El objetivo de este proyecto fue evaluar el efecto de la administración de omega 3 y aspirina sobre el proceso de cicatrización alveolar, en un modelo animal de osteonecrosis maxilar asociado al empleo de ácido zoledrónico y la realización de una extracción dental.

A través de un análisis macroscópico y microscópico se identificaron las diferencias y similitudes derivadas de las distintas combinaciones de fármacos empleadas en cada grupo, así mismo se describieron las características del área donde se realizó la extracción.

En el análisis estadístico de los datos, el test de Kruskal-Wallis mostró que a nivel clínico no hubo diferencias significativas entre los diferentes grupos ($p=.169$), sin embargo en el 60% del grupo al que se administró la terapia conjunta de omega 3 con aspirina, hubo un cierre total del alveolo, demostrando la eficacia de dicha combinación para favorecer el proceso de cicatrización.

ABREVIATURAS

AA: Ácido araquidónico.

ATP: Adenosín trifosfato.

BMPs: Proteínas morfogénicas óseas.

BMU: Unidades básicas multicelulares.

BRONJ: Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw / Osteonecrosis maxilar asociada con bifosfonatos.

COX-2: Ciclooxygenasa 2.

DC-STAMP: Proteína transmembrana específica de las células dendríticas.

DHA: Ácido docosahexaenoico.

EPA: Ácido eicosapentaenoico.

FPP: Pirofosfato de farnesilo.

GGPP: Geranil geranil pirofosfato.

IL-6: Interleucina 6.

5-LOX: 5 lipooxygenasa.

MMP-8: Metaloproteinasa de matriz 8.

MRONJ: Medication-related osteonecrosis of the jaw / Osteonecrosis maxilar relacionada con medicamentos.

NFATc1: Factor nuclear de las células T activadas.

NF-KB: Factor nuclear potenciador de las cadenas kappa de las células B activadas.

ON: Osteonecrosis.

ONMAB: Osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos.

PGG2: Prostaglandina G2.

PGH2: Prostaglandina H2.

PMN: Polimorfonucleares.

RANKL: Receptor activador del ligando NF-KB.

RvE1: Resolvina E1.

TGF-B: Factor de crecimiento transformante B.

TNF- α : Factor de necrosis tumoral α .

TRAP: Fosfatasa ácida resistente al tartrato.

μ CT: Micro tomografía computarizada.

I. Marco teórico

1. TEJIDO ÓSEO

El esqueleto humano está constituido por tejido conectivo especializado que se compone de células y una matriz extracelular, una característica importante es su capacidad para mineralizarse fisiológicamente. El hueso es un tejido dinámico que se encuentra en un constante proceso de formación y reabsorción, el remodelado óseo es regulado por factores sistémicos y locales que le permiten al tejido óseo cumplir con funciones de mecánica y locomoción, protección de órganos y cavidades, y mantenimiento de la homeostasis del metabolismo fosfocálcico¹.

Se le llama sustancia osteoide al componente orgánico de la matriz celular, mismo que se compone por: proteoglicanos, glicoproteínas, proteínas del plasma, factores de crecimiento, y en un 90% por fibras de colágena tipo I, ordenadas en haces paralelos para formar una estructura laminar.

El componente no orgánico o mineral, está formado por calcio, fosfato y carbonato que se organizan en forma de cristales de hidroxapatita, en menor proporción se encuentran magnesio, sodio, potasio, manganeso y flúor.

La organización estructural del tejido óseo nos permite hacer una distinción entre hueso cortical o compacto y hueso esponjoso o trabecular. Se le llama compacto debido a su densidad, compone el 80% del esqueleto y constituye la parte externa de todos los huesos, se organiza en sistemas Haversianos, es decir laminillas con disposición concéntrica o paralela a un conducto de Havers. El hueso trabecular consta de delgadas laminillas que forman una red y en cuyas cavidades se localiza médula ósea, compone el 20% del esqueleto y se considera metabólicamente más activo que el hueso cortical².

Los osteoblastos, osteocitos y osteoclastos son las células principales del tejido óseo, sin embargo podemos encontrar células de la médula hematopoyética y de los vasos sanguíneos que lo nutren.

Los osteoblastos proceden de células mesenquimales pluripotenciales presentes en la médula ósea, se localizan en contacto directo con las superficies óseas y forman grupos compactos de una sola capa de espesor. De acuerdo al estímulo que reciben, son capaces de sintetizar proteínas colágenas y no colágenas de la matriz ósea, dirigir la disposición de las fibrillas de la matriz extracelular, contribuir a la mineralización de la sustancia osteoide, sintetizar de factores de crecimiento y mediar la reabsorción (realizada por los osteoclastos) a través de la síntesis de mediadores específicos^{1,3}.

Los osteocitos son osteoblastos que quedan inmersos en la matriz durante el proceso de síntesis y mineralización, son las células más abundantes en el hueso, poseen una forma estrellada debido a las prolongaciones de su citoplasma que les permiten establecer una red de conexiones con los osteocitos contiguos. Se les atribuye como función principal la detección de variaciones en las

cargas mecánicas que se ejercen sobre el hueso, un fenómeno conocido como mecanotransducción⁴.

Los osteoclastos son células “gigantes” multinucleadas procedentes del linaje monocito- macrófago, se localizan principalmente la superficie endóstica, los conductos de Havers, la superficie de las trabéculas óseas y en menor parte en la superficie perióstica (mayormente en los sitios de recambio). Estas células altamente especializadas se encargan de la resorción del hueso a través de la degradación de la matriz extracelular. Para llevar a cabo la resorción, los osteoclastos cuentan con enzimas lisosómicas, fosfatasa ácida tartrato resistente, anhidrasa carbónica tipo II, una bomba de protones – ATPasa y enzimas proteolíticas como catepsina K y cinasas, que contribuyen a la generación de un ambiente ácido que resulta en la degradación de la matriz, además de contar con dos especializaciones en su membrana que favorecen dicho proceso; una zona de múltiples invaginaciones denominada borde en forma de ribete o “cepillo” y una zona rica en microfilamentos con integrinas que sirven de anclaje hacia la matriz⁵.

El remodelado óseo es un proceso que comprende la resorción del hueso presente para dar origen a la formación de hueso nuevo. Este proceso se activa ante diversas necesidades del organismo, por ejemplo: mantenimiento de la homeostasis mineral, etapas fisiológicas de desarrollo, trauma o daño a los componentes de este tejido e incluso ante la presencia de fuerzas mecánicas. Se lleva a cabo en pequeñas áreas de la cortical o de las trabéculas, a estas estructuras ocupadas por osteoclastos y osteoblastos que actúan coordinadamente se les conoce como “unidades básicas multicelulares” o BMU (por sus siglas en inglés)⁶.

Independientemente de cuál sea el estímulo, el remodelado óseo se lleva a cabo en las siguientes fases: quiescente, activación, reabsorción, formación y mineralización.

Durante la activación la detección de un estímulo por parte de los osteocitos es clave para iniciar el proceso de remodelado, los osteoblastos se encargan de producir mediadores necesarios para la diferenciación y maduración de los osteoclastos (RANKL), en la fase de resorción los osteoclastos son atraídos a las superficies por reabsorber y forman una “zona de sellado” en donde secretan enzimas necesarias para la degradación de la matriz mineralizada y de la sustancia osteoide generando un área conocida como laguna de Howship. La liberación de factores de crecimiento contenidos en la matriz contribuye al agrupamiento de pre-osteoblastos que sintetizarán una sustancia cementante para la adhesión del nuevo tejido, además de expresar BMPs (proteínas morfogenéticas óseas) que permitirán la diferenciación y maduración de los osteoblastos, mismos que sintetizaran la sustancia osteoide y posteriormente contribuirán a su mineralización^{7,8}.

Factores genéticos, hormonales, vasculares, nutricionales y locales influyen directamente sobre el proceso de remodelado. Dentro de los locales podemos destacar citoquinas y factores de

crecimiento además de las proteínas de la matriz que también influyen directamente sobre algunos de los factores locales⁹.

	Estimulan formación	Estimulan reabsorción	Inhiben reabsorción
Factores de crecimiento	BMP-2 (Proteína morfogenética ósea-2) BMP-4 (Proteína morfogenética ósea-4) BMP-6 (Proteína morfogenética ósea-6) BMP-7 (Proteína morfogenética ósea-7) IGF-I (factor análogo a la insulina I) IGF-II (Factor análogo a la insulina II) TGF-β (Factor transformante del crecimiento β) FGF (Factor de crecimiento fibroblástico) PDGF (Factor de crecimiento derivado de las plaquetas) VEGF (Factor de crecimiento vascular endotelial)	TNF (Factor de necrosis tumoral) EGF (Factor de crecimiento epidérmico) PDGF (Factor de crecimiento derivado de las plaquetas) FGF (Factor de crecimiento fibroblástico) M-CSF (Factor estimulante de colonias de macrófagos) GM-CSF (Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos)	
Citoquinas		IL-1 (Interleuquina -1) IL-6 (Interleuquina -6) IL-8 (Interleuquina -8) IL-11 (Interleuquina -11) PGE ₂ (Prostaglandina E-2) PGE ₁ (Prostaglandina E-1) PGG ₂ (Prostaglandina G-2) PGI ₂ (Prostaglandina I-2) PGH ₂ (Prostaglandina H-2)	IFN-γ (Interferón γ) IL-4 (Interleuquina-4)

Figura 1.1 Factores locales reguladores del remodelado óseo. (Fernández-Hernández, 2006)

2. BIFOSFONATOS

Los bifosfonatos son compuestos sintéticos análogos de los pirofosfatos (PPi), poseen una estructura compuesta por un átomo central de carbono, unido a dos grupos fosfato. Su síntesis surgió ante la búsqueda de compuestos que al igual que los pirofosfatos, inhibieran la precipitación del fosfato cálcico, la disolución de cristales de hidroxapatita y la calcificación de los tejidos blandos ,pero que a diferencia de los pirofosfatos, no fuesen hidrolizados e inactivados por las fosfatasas del tracto digestivo¹⁰.

Actualmente constituyen un grupo de fármacos antirresorptivos, empleados en la prevención y desarrollo de enfermedades que afectan el metabolismo óseo, como: osteoporosis, hipercalcemia maligna, mieloma múltiple, enfermedad de Paget, osteogénesis imperfecta y metástasis óseas¹¹.

Su mecanismo de acción se centra en la inhibición del proceso de resorción ósea, esto se debe a que una vez que son administrados su afinidad por el calcio los atrae hacia las superficies de recambio óseo y les permite incorporarse a la matriz ósea, donde permanecen inmersos hasta que

los osteoclastos los internalizan. Esta internalización es responsable de los efectos sobre el reclutamiento, supervivencia y capacidad resortiva de dichas células ¹².

Son compuestos que han sido clasificados de acuerdo a su vía de administración, potencia y su blanco terapéutico. A pesar de ser fármacos con una vida plasmática muy corta (de 20 minutos a 2-3 horas) y una tasa de absorción intestinal baja (1%- 10% de la dosis), son rápidamente captados por el hueso, principalmente en las zonas activas de remodelación, donde pueden permanecer presentes desde meses hasta años¹³.

Las variaciones en su estructura química, específicamente en sus cadenas R1 y R2 son las responsables de la potencia de estos fármacos y el mecanismo por el cual detienen el proceso de resorción ósea. Las sustituciones realizadas en la cadena R1 actúan sobre la prevención del crecimiento y disolución de los cristales de hidroxiapatita, mientras que las modificaciones en la cadena R2 determinan su potencia como fármaco antiresortivo¹⁰.

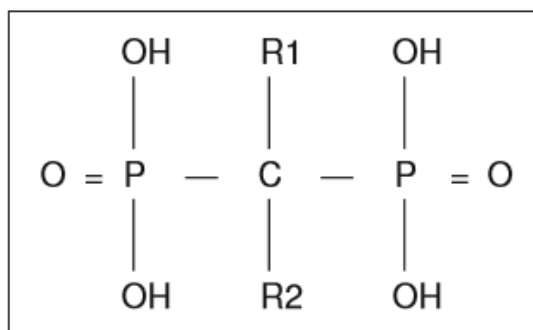


Figura 2.1 Estructura química genérica de los bifosfonatos. (Hawkins, et.al, 2000)

De acuerdo con su vía de administración se dividen en dos grupos; la vía intravenosa (IV) que es utilizada para administrar bifosfonatos que previenen metástasis óseas, y la vía oral que se emplea para bifosfonatos usados en patologías como osteoporosis¹³.

Nombre genérico	Nombre comercial	Indicación	Vía de administración	Potencia relativa ^a
Etidronato*	Osteum, Difosfén, Difos*, Ditronel*	Osteoporosis, enfermedad de Paget	Oral	1
Clodronato*	Mebonat, Bonefos*, Ostac*	Hipercalcemia y osteólisis en neoplasias malignas	Oral e IV	10
Tiludronato	Skelid	Enfermedad de Paget	Oral	10
Alendronato*	Fosamax*, Fosavance	Osteoporosis	Oral	1000
Pamidronato*	Aredia*	Hipercalcemia maligna, metástasis óseas, enfermedad de Paget	IV	100
Risedronato	Actonel	Osteoporosis, enfermedad de Paget	Oral	5000
Ibandronato*	Bonviva, Bondronat*	Osteoporosis, hipercalcemia maligna y metástasis óseas	Oral e IV	10 000
Zoledronato	Aclasta (5 mg)	Osteoporosis, enfermedad de Paget	IV	100 000
	Zometa (4 mg)	Hipercalcemia maligna, enfermedad metastásica	IV	

Figura 2.2 Bifosfonatos de uso clínico. Potencia relativa con respecto a etidronato. (Arbildo, et.al., 2014)

La inhibición del proceso de resorción surge a través de dos vías. En la primera, los bifosfonatos no nitrogenados se metabolizan en análogos no solubles de ATP que son absorbidos por los osteoclastos, lo que conlleva a la disminución de su función mitocondrial y posteriormente a su apoptosis. En la segunda, los bifosfonatos nitrogenados actúan inhibiendo dos enzimas indispensables en la vía del mevalonato; farnesil pirofosfato sintasa (FPP) y geranil geranil pirofosfato (GGPP), que son esenciales para la prenilación de proteínas, un proceso que permite la unión de pequeñas proteínas a la membrana celular. Al perder la señalización y su regulación celular, los osteoclastos sufren apoptosis y con ello se ve detenido el proceso de resorción^{14, 15}.

3. OSTEONECROSIS MAXILAR ASOCIADA BIFOSFONATOS.

La osteonecrosis o necrosis avascular es una enfermedad en la cual se produce una reducción temporal o permanente del flujo sanguíneo en el hueso, debido a diversas causas. La oclusión vascular y la isquemia del tejido óseo generan la “muerte” o necrosis de sus células, es un proceso progresivo que puede conducir al hundimiento de la estructura ósea en un breve lapso de tiempo, lo que significa un problema para la salud de los individuos que la desarrollan¹⁶.

La osteonecrosis (ON) puede asociarse a condiciones traumáticas y no traumáticas, la primera suele ser el resultado de una lesión que produce la interrupción mecánica de la circulación, por ejemplo: fracturas, luxaciones de cadera, fracturas del cuello femoral, etc. La ON no traumática ha sido asociada al uso de fármacos como corticoesteroides, bifosfonatos, consumo de alcohol, hemoglobinopatías, etc¹⁷.

La osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos (ONMAB, BRONJ por sus siglas en inglés), es una afección descrita como un área de hueso expuesta en la región maxilar o mandibular con una duración mayor a dos meses, se presenta en individuos que han recibido bifosfonatos para el tratamiento de patologías relacionadas con el metabolismo óseo y que no cuentan con antecedentes de radioterapia. A pesar de estar considerada dentro de las osteonecrosis de la mandíbula asociadas a medicación (MRONJ por sus siglas en inglés), se considera adecuado mantener el término ONMAB o BRONJ, pues es indicativo del fármaco específico que la desencadena ^{18,19}.

La ONMAB ocurre cuando la capacidad de remodelación ósea se ve inhibida debido a la acción de los bifosfonatos sobre las células encargadas de reabsorber el hueso, lo que conlleva a una disminución en la vascularización del mismo, muerte celular y con ello la incapacidad de responder ante algún trauma o reparar un sitio de lesión²⁰.

Los huesos que conforman al maxilar y la mandíbula se distinguen de otros tejidos óseos en el organismo por su constante actividad, su velocidad de recambio y el gran aporte sanguíneo que los nutre. Los estímulos mecánicos que reciben (masticación), el soporte que brindan a las estructuras dentarias y la exposición a un microambiente a través del surco gingival, generan una demanda continua de remodelación en estos huesos, lo que los convierte en un sitio de unión ideal para los bifosfonatos ^{13,14,21}.

Desde el primer reporte de ONMAB en 2003 hasta la actualidad, se han realizado numerosos estudios para comprender el mecanismo de acción de esta patología, los factores que predisponen su desarrollo y los eventos que la desencadenan. Se han obtenido avances en la comprensión del mecanismo mediante el cual los bifosfonatos alteran el eje osteoclasto- osteoblasto, lo que finaliza en la falta de equilibrio entre el proceso de resorción y síntesis^{22, 23}.

Una de las propuestas con mayor aceptación es que el punto de partida para la ONMAB es la exposición del hueso al medio bucal, la colonización de bacterias en el sitio expuesto, y el sometimiento a fuerzas externas o cualquier otro estímulo que active la fase de reabsorción. Posteriormente, moléculas del bifosfonato son liberadas de la matriz extracelular, una vez que los osteoclastos comienzan con la degradación de la misma, inevitablemente estas células “engullen” esas moléculas y ya sea por la inhibición de la síntesis de mevalonato o por la generación de subproductos tóxicos para la célula, el resultado es la apoptosis del osteoclasto ^{11, 13,24}.

Extracciones, cirugías, tratamientos de conductos, colocación de implantes, curetajes, tratamientos de ortodoncia e incluso el inadecuado ajuste de prótesis, son sólo algunos de los procedimientos o

condiciones que se llevan a cabo en la cavidad bucal y que podrían desencadenar ese deficiente ciclo de remodelado¹⁹.

Aunado a lo anterior, en 2006 la American Dental Association Council on Scientific enlistó algunos de los diversos factores que se consideran de riesgo para el desarrollo de ONMAB.

Factores relacionados con el desarrollo de osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos	
Factores relacionados con el fármaco	Potencia de bifosfonato Vía de administración Dosis acumulada Duración de la terapia
Factores de riesgo locales	Cirugía dentoalveolar, exodoncias, colocación de implantes, cirugía periodontal. Anatomía local, torus palatino, torus lingual, línea milohioidea. Enfermedad oral concomitante.
Factores demográficos y sistémicos	Edad avanzada, raza caucásica, diagnóstico de cáncer, diagnóstico concomitante de osteopenia/osteoporosis. Otros posibles factores : Corticoterapia, diabetes, tabaquismo, alcoholismo, quimioterapia, higiene oral deficiente, anemia y talasemia, malnutrición, dislipidemia, obesidad, enfermedades del tejido conjuntivo, coagulopatías, inmunodeficiencias hipotiroidismo, Enfermedad de Gaucher, lupus eritematoso sistémico, terapia con estrógenos .
Factores genéticos	Gen del citocromo P450-2C

Cuadro 1.1 Factores relacionados con el desarrollo de osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos. (Arbildo, Chumpitaz 2014)

La prevalencia de ONMAB guarda una relación hombre-mujer de 2:2, 6, e incluso 2:2,3, una edad media de 65, 5 años, y un porcentaje de desarrollo mayor en la mandíbula (68%) que en el maxilar (28%). En pacientes oncológicos que reciben bifosfonatos intravenosos la incidencia oscila entre 0,8 y el 12% y 0,01-0,04% en el caso de bifosfonatos orales¹³.

Además de los criterios que van dirigidos a diferenciar la ONMAB de otras enfermedades relacionadas con la exposición del tejido óseo, el año 2014, la Asociación Americana de cirujanos orales y maxilofaciales, actualizó la clasificación de los estadios por los que cursa la ONMAB, acompañados de las estrategias de tratamiento para cada uno de ellos¹⁹.

ESTADIOS	DESCRIPCIÓN	ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO
“ En peligro”	No hay evidencia de hueso necrótico en pacientes tratados con bifosfonatos administrados por la vía oral o intravenosa.	No hay tratamiento indicado Educación del paciente
Etapa 0	No hay evidencia clínica de hueso necrótico, no existen hallazgos clínicos específicos ni síntomas.	Manejo sistémico, incluyendo el uso de analgésicos y antibióticos.
Etapa 1	Hueso expuesto y necrótico, los pacientes son asintomáticos y no hay evidencia de infección.	Empleo de colutorios antibacterianos. Seguimiento clínico trimestral. Educación del paciente y revisión de las indicaciones para continuar el tratamiento con bifosfonatos.
Etapa 2	Hueso expuesto y necrótico, los pacientes presentan dolor y existe evidencia clínica de infección.	Tratamiento sintomático con antibióticos orales. Empleo de colutorios antibacterianos. Control del dolor. Desbridamiento para aliviar la irritación de los tejidos blandos y el control de infecciones.

Etapa 3	<p>Hueso expuesto y necrótico, los pacientes presentan dolor, infección y uno o más de los siguientes:</p> <p>El hueso expuesto y necrótico se extiende más allá de la región de hueso alveolar (es decir, borde inferior y rama de la mandíbula, seno maxilar y hueso malar en el maxilar superior), resultando en una fractura patológica, fístula extraoral, comunicación oral-nasal y osteólisis que se extiende hasta el borde inferior de la mandíbula o el piso del seno.</p>	<p>Tratamiento con antibióticos y control del dolor.</p> <p>Empleo de colutorios antibacterianos.</p> <p>Desbridamiento o resección quirúrgica para el alivio del dolor y la infección.</p>
----------------	--	---

Cuadro 1.2 Estadios y estrategias de tratamiento para la Osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos. (Ruggiero, et.al., 2014)

Las propuestas para el manejo de la ONMAB van desde medicamentos hasta el desbridamiento de la zona afectada o la resección quirúrgica, y tienen como objetivo la eliminación del dolor, el control de la infección en tejidos blandos y duros además de minimizar la progresión de necrosis en el hueso. De manera paralela se han propuesto otras modalidades terapéuticas como: oxígeno hiperbárico, plasma rico en plaquetas con factores de crecimiento, proteína morfogenética ósea, hormona paratiroidea, terapia láser, etc. ^{23,25}.

4. MODELOS DE OSTEONECROSIS MAXILAR ASOCIADA A LA ADMINISTRACIÓN DE ÁCIDO ZOLEDRÓNICO

Para comprender un poco más acerca de la osteonecrosis maxilar y su relación con el uso de bifosfonatos, además de la necesidad de plantear el mejor abordaje terapéutico para los pacientes, se han desarrollado diversos modelos de estudio con animales²⁶.

El objetivo principal de estos estudios se ha centrado en esclarecer el mecanismo por el cual se ve detenido el proceso de resorción ósea, establecer medidas que resultarían preventivas ante el desarrollo de ONMAB, e identificar los factores o situaciones que se consideran de riesgo.

Las variaciones en el diseño, procedimiento de exposición del hueso, elección del fármaco, dosis, período y vía de administración, han contribuido a generar nuevos conocimientos y propuestas para el manejo de la ONMAB.

A pesar del éxito obtenido en los modelos para el establecimiento de dicha patología, las variaciones en el metabolismo del fármaco en cada especie, han hecho imposible trasladar el curso de la ONMAB en animales al curso que sigue en los humanos, puesto que factores como la alimentación, hábitos higiénicos, enfermedades sistémicas, condiciones generales de la cavidad bucal y los tratamientos realizados, etc., no siempre han sido considerados.

En la siguiente tabla se enlistan algunos modelos que se han desarrollado y las dosis empleadas:

Autor	Año	Características de los animales	Dosis ponderal y vía de administración	Esquema de administración	Dosis total estimada a una rata de 250 g
AGHALOO ²⁷	2011	Ratas SD 3 meses (380 g) Machos	66 µg/ kg Intraperitoneal	Tres veces por semana durante 3 semanas. Colocación de ligadura en molar, 12 semanas más de administración. 15 semanas en total	.742 mg 742 µg
VIDAL ²⁸		Ratas Wistar Machos 200-250 g	66 µg /kg Intraperitoneal	Una vez por semana durante 2 semanas antes de la extracción del primer molar maxilar.	.033 mg 33 µg
ERSAN ²⁹	2014	Ratas SD Hembras 164-196 g	.02mg/ kg Intraperitoneal	Tres veces por semana durante 6 semanas ,una semana después se realizó la extracción del primer molar Mandibular, después de 4 semanas se administró teriparatide durante 28 días.	.09 mg 90 µg

YANG ³⁰	2015	Ratas SD Machos 250 g	80 µg/kg Intravenosa	Una vez por semana, durante 3 semanas, se realizó extracción del primer molar maxilar, se sacrificaron 1,4 y 12 semanas después.	.06 mg 60 µg
KALIBUCHI ³¹	2016	Ratas SD Hembras semanas 4	66 µg/kg Subcutánea	Tres veces por semana durante 4 semanas, en la semana 2 se realizó la extracción del primer molar maxilar. Se administró simultáneamente dexametasona.	.198 mg 198 µg
TAKAOKA ³²	2015	Ratas SD Machos	35 µg/kg Intravenosa	Cada dos semanas durante 21 semanas previas a la extracción del primer molar maxilar.	.0962 mg 96.2 µg
JANG ³³	2015	Ratas SD Hembras 250-300 g	.2mg/kg Intraperitoneal	Una administración por semana durante 12 semanas, en la semana 4 se realizó la extracción de 1° y 2° molar maxilar y mandibular. Se sacrificaron a diferentes tiempos. Se empleó dexametasona	.6 mg 600 µg
HOWIE ³⁴	2015	Ratas SD Hembras 10-12 meses	80 µg/kg Intravenosa	Una vez por semanas durante 13 semanas, extracción de primero y segundo molar mandibular.	.26 mg 260 µg
BARBA ³⁵	2014	Ratas Wistar Machos	0.1 mg/kg Intraperitoneal	Grupo 1 y 2 : 3 veces por semana Grupo 3: una vez por semana Para los 3 grupos se administró durante 8 semanas. Posteriormente se realizó extracción de 3er molar superior.	1, 2= .6 mg 600 µg 3= .2 mg 200 µg
SILVA ³⁶	2015	Ratas Wistar Machos	.04 mg/kg .20 mg/kg 1 mg/kg Intravenoso	Tres dosis por semana durante 4 semanas, posteriormente se realizó extracción de primer molar inferior y una dosis adicional 7 días después.	.04= .13 mg 130 µg .20=.65 mg 650 µg 1= 3.25 mg 325 µg
MARINO ³⁷	2012	Ratas SD Hembras 300 g	20 µg/ kg Intravenoso	Una administración ,3 semanas después se realizó la extracción del primer molar mandibular, y recibieron una segunda dosis de ac. Zoledrónico.	.01 mg 10 µg
ZANDI ³⁸	2016	Ratas Wistar 300-350 g	.06 mg/ kg Intraperitoneal	Una dosis semanal hasta el sacrificio	-
OGATA ³⁹	2015		35µg/kg/ semana Subcutánea	Una vez por semana durante dos semanas , realización de extracción molares maxilares También se administró dexametasona	.0175 mg 17.5 µg
AGACAYAK ⁴⁰	2014	Ratas wistar Machos 200-220 g	0.3 mg / kg / semana Subcutánea	1 vez por semana durante 60 días, después se realizaron extracciones del primer molar inferior atraumáticas y traumáticas, se continuó con la dosis por 32 días más.	.9 mg 900 µg

5. RESPUESTA INFLAMATORIA AL DAÑO TISULAR

La inflamación es una respuesta inespecífica del organismo, ante cualquier estímulo (físico, químico o biológico) causante de una lesión tisular o de alguno de sus componentes.

Es un proceso fisiológico que tiene por objetivo combatir agentes patógenos y sus productos, limitar el sitio dañado y reparar los tejidos afectados, a través de una serie de interacciones a nivel molecular, celular y sistémico, que surgen dentro del lumen vascular ⁴¹.

De manera general, se caracteriza por un incremento en la permeabilidad vascular que provoca la extravasación de líquido y proteínas plasmáticas, la migración de células pertenecientes al sistema inmune y el aumento del flujo sanguíneo en el sitio infectado o lesionado. Dichos eventos han sido interpretados como los signos cardinales de la inflamación; tumor, calor, rubor, dolor y ocasionalmente pérdida de la función⁴².

Por su duración, se considera aguda cuando los mecanismos de respuesta se activan en un período de horas o días, y crónica; cuando su persistencia supera las semanas, meses o años, caracterizándose por presentar formas distintas de reparación en los tejidos, como fibrosis, proliferación de vasos sanguíneos, disfunción endotelial y necrosis de los mismos⁴³.

Moléculas provenientes del plasma o de las mismas células activadas, actúan como mediadores (de forma aislada, secuencial o en combinación), regulando algunos de los elementos celulares y vasculares implicados en la respuesta inflamatoria, por ejemplo: citocinas, sustancias vaso activas, quimiocinas, metabolitos lipídicos, inmunoglobulinas, neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, mastocitos, fibroblastos, macrófagos, constituyentes de la matriz extracelular (colágeno, elastina, glicoproteínas de adhesión, preoglicanos), cinasas, los sistemas de coagulación y complemento, entre otros⁴⁴.

Mediador químico	Acción
Histamina y serotonina (aminas vasoactivas)	Incremento de la permeabilidad
Bradicinina	Incremento de la permeabilidad y dolor
C3a (producto del complemento, anafilotoxinas)	Incremento de la permeabilidad opsonina
C5a (producto del complemento, anafilotoxinas)	Incremento de la permeabilidad, quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Prostaglandinas (metabolitos del ácido araquidónico)	Vasodilatación, dolor, fiebre, activa a otros mediadores
Leucotrieno B ₄ (metabolito del ácido araquidónico)	Quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Leucotrieno C ₄ , D ₄ , E ₄ (metabolitos del ácido araquidónico)	Incremento de la permeabilidad, broncoconstricción, vasoconstricción
Metabolitos del oxígeno (radicales libres)	Incremento de la permeabilidad, lesión endotelial y tisular
Factor activador de plaquetas (PAF)	Incremento de la permeabilidad, broncoconstricción, cebado de leucocitos
Interleucina-1 (IL-1) y Factor de necrosis tumoral (TNF) (citocinas)	Reacciones de fase aguda, activación endotelial, quimiotaxis
Óxido nítrico	Incremento de la permeabilidad, vasodilatación, citotoxicidad

Figura 5.1 Mediadores químicos de la respuesta inflamatoria aguda.

(León 2015)

A pesar de ser una secuencia de acontecimientos con fines de reparación, el desequilibrio entre los mediadores químicos que promueven la respuesta inflamatoria, las moléculas antiinflamatorias y las células del sistema inmune, ocasiona la cronicidad del estado inflamatorio y con ello la destrucción progresiva de tejido circundante. Debido a lo perjudicial que resulta una respuesta exacerbada, es indispensable mantener un equilibrio entre el estímulo que activa el proceso inflamatorio y la intensidad de la respuesta.

6. MEDIADORES LIPÍDICOS DE LA INFLAMACIÓN

Dentro de los mediadores químicos de la respuesta inflamatoria, existen diversos grupos de moléculas capaces de regular la actividad de las células inmunológicas, a través de la activación de distintos receptores y vías metabólicas biosintéticas. Las citocinas, quimiocinas, eicosanoides, inmunoglobulinas, moléculas de adhesión celular y cininas, son sólo algunas de los principales compuestos que se producen ante determinados estímulos y que dan origen a una cascada de respuestas dentro del lumen vascular ⁴⁵.

Los eicosanoides son una serie de compuestos derivados de la oxidación de ácidos grasos esenciales, que participan en la fase de activación y resolución inflamatoria⁴¹.

Los ácidos grasos son biomoléculas de origen lipídico, que constan de una cadena de átomos de carbono unida a un grupo carboxilo en uno de sus extremos. Se clasifican como ácidos de cadena

corta o larga, de acuerdo al número de carbonos que componen su estructura, y monoinsaturados o poliinsaturados, según el número y la posición de sus dobles enlaces. Se encuentran presentes en nuestro organismo y entre sus funciones destacan: regulación, aporte energético y composición estructural de la membrana celular en forma de fosfolípidos o esfingolípidos⁴⁶.

Se consideran esenciales aquellos ácidos grasos poliinsaturados (más de un doble enlace) que no pueden ser sintetizados por los seres humanos, y que por lo tanto deben ser obtenidos a partir de la ingesta de alimentos ricos en ellos⁴⁷.

Los ácidos linoleico y alfa linolénico son los ácidos grasos esenciales precursores del ácido araquidónico (AA), ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA). Dentro de nuestro organismo, la estructura de los ácidos grasos esenciales se modifica con la adición de átomos de carbono y la introducción de dobles enlaces en su cadena, todo esto mediante la acción de enzimas llamadas elongasas y desaturasas^{47, 48}.

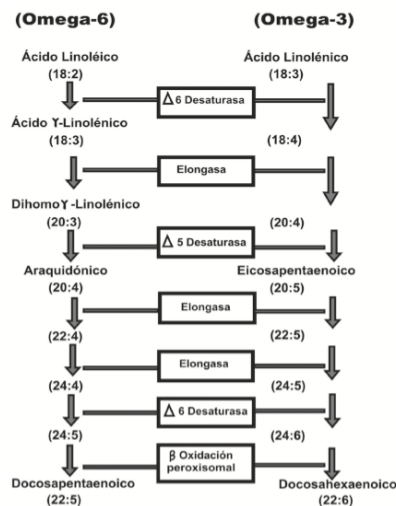


Figura 6.1 Etapas metabólicas de la biosíntesis de ácidos grasos omega-6 y Omega-3 a partir de sus precursores (Valenzuela 2011)

El ácido araquidónico es uno de los componentes estructurales de la membrana celular, se encuentra almacenado en forma de un fosfolípido y su liberación durante la primera fase del proceso inflamatorio, depende de la activación de la enzima fosfolipasa A₂ y el incremento de la concentración citosólica de calcio. La oxidación del ácido araquidónico a partir de dos vías enzimáticas (ciclooxigenasa y lipooxigenasa), resulta en la síntesis de eicosanoides (moléculas de

20 o más átomos de carbono), compuestos que son fundamentales para la señalización durante una respuesta inflamatoria⁴⁹.

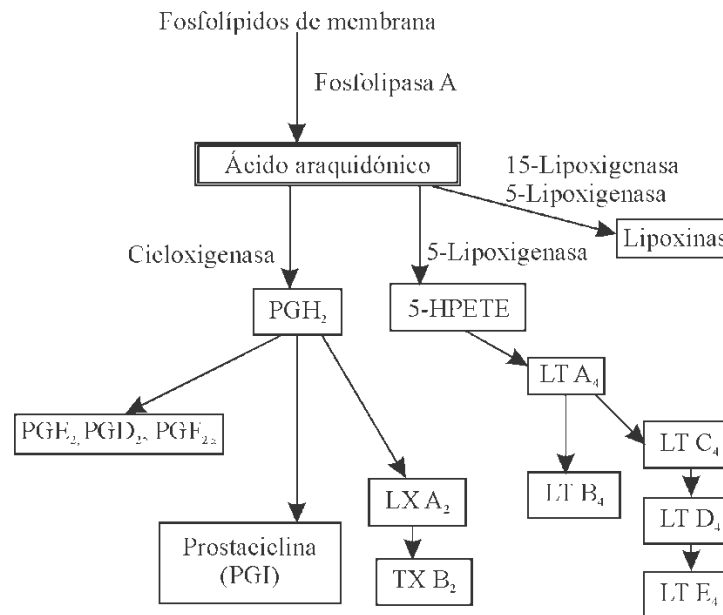


Figura 6.2 Derivados del ácido araquidónico

La liberación de AA de los fosfolípidos de la membrana y la oxigenación de su cadena, resulta en dos endoperóxidos conocidos como PGG₂ y PGH₂, estas moléculas se consideran químicamente inestables, por lo tanto vuelven a sufrir modificaciones en sus estructuras, para dar origen a nuevos compuestos funcionales⁴⁷.

Las prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos, son el resultado final de la oxidación del AA a través de la cicloxigenasa, mientras que los leucotrienos y las lipoxinas, son resultado de la acción de las lipoxigenasas. En conjunto, constituyen el grupo de los eicosanoides y participan como mediadores químicos en la regulación de: la agregación plaquetaria, vasoconstricción, vasodilatación, transporte de agua y iones, respuestas neuronales, del sistema digestivo y tejido adiposo, entre otros⁵⁰.

De acuerdo a su vía de síntesis y a la serie que pertenecen, los eicosanoides pueden actuar como moléculas con actividad pro inflamatoria o antiinflamatoria, lo que hace indispensable mantener un

equilibrio entre la síntesis de estos compuestos y los sucesos que determinan el cese de su producción.

7. SÍNTESIS DE LIPOOXINAS Y RESOLVINAS

Las resolvinas y las lipoxinas son moléculas que resultan de la oxidación del AA, EPA y DHA. Desde su descubrimiento han sido objeto de diversas investigaciones, a causa de su potente acción antiinflamatoria y su participación en la etapa de resolución⁴¹.

Las lipoxinas son un tipo de eicosanoide, que surgen mediante la acción de 3 enzimas citosólicas que oxidan al AA en los carbonos 5 (5-lipoxigenasa), 12 (12-lipoxigenasa) y 15 (15-lipoxigenasa), y a través de 3 vías distintas de síntesis⁵¹.

En la primera vía el AA sirve como sustrato para la 5-LOX en los neutrófilos, resultando en la síntesis del leucotrieno LTA₄, compuesto que posteriormente es recapturado por las plaquetas y transformado en lipoxinas mediante la acción de la 12-LOX.

En la segunda vía la acción de la 15-LOX de monocitos y células epiteliales, sobre el AA, produce dos moléculas intermedias conocidas como 15S-HETE (Ácido 15S hidroxieicosatetraénoico) y 15R-HETE (Ácido 15r hidroxieicosatetraénoico). Una vez que estas moléculas son liberadas, se transforman en lipoxinas mediante la acción de los neutrófilos.

Existe una vía en la que se ve envuelto el ácido acetil salicílico. Este compuesto acetila de forma irreversible el sitio activo de la ciclooxigenasa e hidroxila el AA para formar 15R-HETE, un compuesto intermediario que es transformado en 15-epi-lipoxina A₄ por acción de la 5-LOX de los leucocitos ^{41,52,53}.

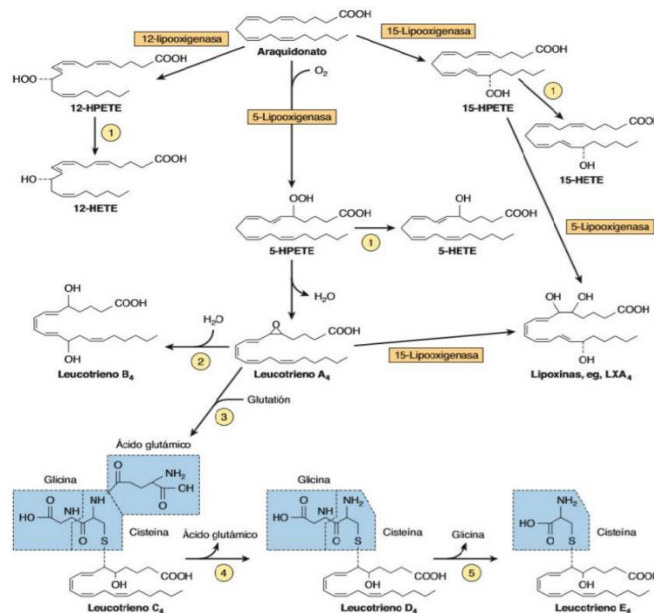


FIGURA 23-14 Conversión del ácido araquidónico en leucotrienos e lipoxinas de la serie 4 mediante la vía de la lipooxigenasa. Ocurren algunas conversiones similares en leucotrienos de las series 3 y 5. HPETE, hidroperoxidicosatetraenoato; HETE, hidroxidicosatetraenoato; ①, peroxidasa; ②, leucotrieno A₄ epóxido hidrolasa; ③, glutatión S-transferasa; ④, γ-glutamiltanspeptidasa; ⑤, cisteinil-glicina dipeptidasa.)

Figura. 7.1 Síntesis de lipoxinas a través de las distintas vías de la lipooxigenasa. (Harpers 2016)

El formyl peptide receptor- like (FPRL1), también conocido como ALXR, es un receptor acoplado a proteínas G, que ha sido identificado como el receptor capaz de interactuar con las lipoxinas⁵⁴.

Al igual que las lipoxinas, las resolvinas son moléculas con un efecto antiinflamatorio, que se producen localmente. La diferencia entre ambos compuestos, radica en el sustrato y las enzimas involucradas en su síntesis además de las acciones que producen en diferentes células.

Diversos estudios in vitro e in vivo, han demostrado que dentro de los efectos antiinflamatorios de las lipoxinas y las resolvinas, se encuentran: inhibición de la activación y el reclutamiento de neutrófilos y eosinófilos, estimulación de macrófagos para el “aclaramiento” o fagocitosis de neutrófilos apoptóticos y regulación de la activación del factor de transcripción NF-KB, entre otros^{53, 54,55}.

Se les llama “resolvinas” por ser los productos finales de la oxidación de los ácidos EPA y DHA, y por participar de forma activa en la resolución del estado inflamatorio y la restitución de los tejidos afectados. Su síntesis ocurre por una vía dependiente de la enzima Cox-2 y su acetilación por parte de la aspirina, además de la acciones de la 5-LOX. En la actualidad se conocen dos series de estos compuestos, la serie E consta de 3 moléculas derivadas del EPA, la serie D se compone de 6 moléculas procedentes del DHA^{51,56}.

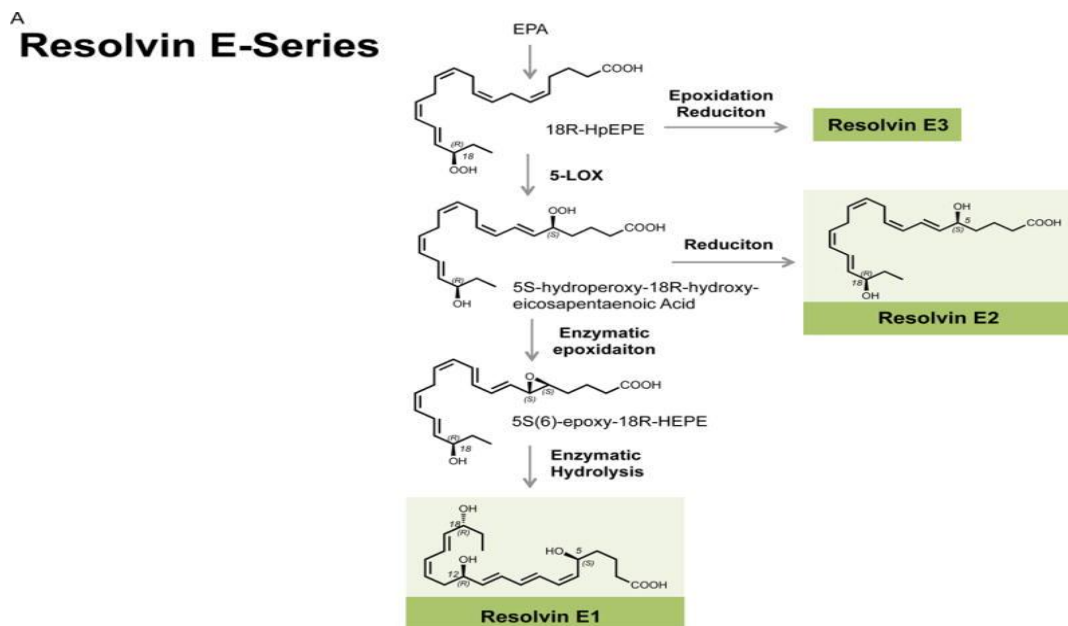


Figura. 7.2 Síntesis de resolvinas de la serie E (Chiang 2017)

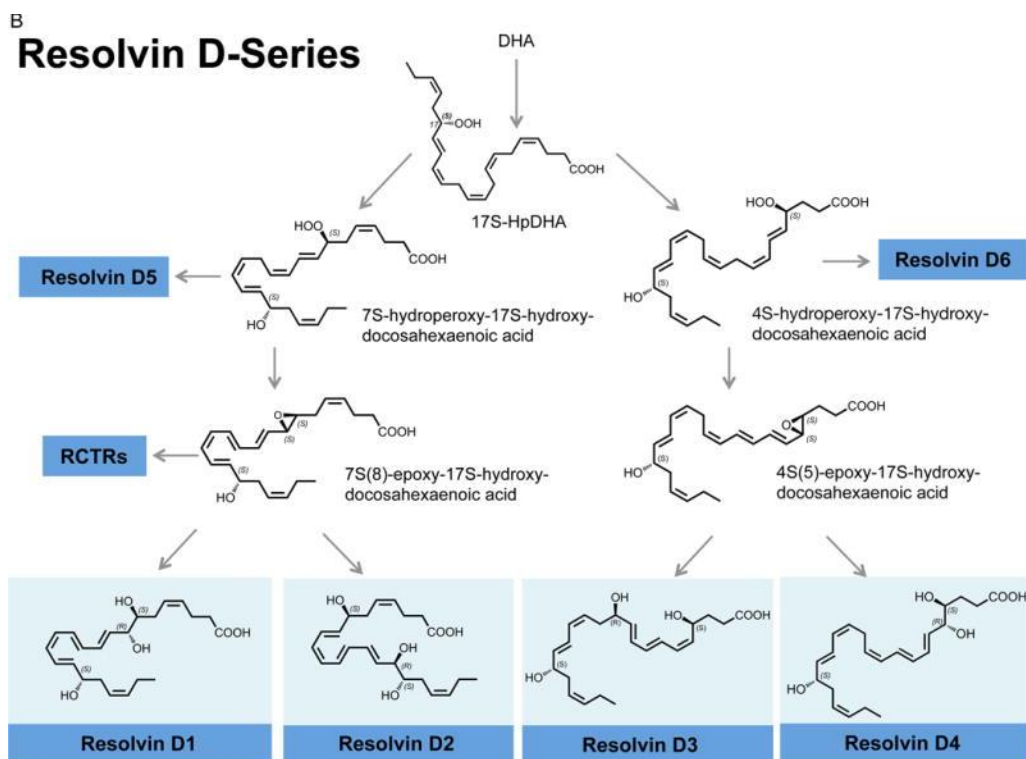


Figura. 7.3 Síntesis de resolvinas de la serie D (Chiang 2017)

De la misma manera que sucede con las lipoxinas, la acetilación irreversible de la COX-2 promueve modificaciones en la estructura de las resolvinas, confiriéndoles mayor estabilidad química y prolongando su tiempo de vida ⁵⁷.

Algunas de las acciones pro-resolutivas que se han atribuido a esta familia de mediadores son : la disminución de infiltrado inflamatorio, el bloqueo transendotelial de polimorfonucleares (PMN), la estimulación de macrófagos para la fagocitosis de células apoptóticas, inhibición de la migración de células dendríticas y la liberación de citocinas, entre otros.⁵⁸.

Mediante estudios acerca de la síntesis orgánica de estas moléculas, y las acciones que ejercen sobre los PMN, se descubrió que las resolvinas actúan a través de al menos dos receptores celulares diferentes. En el receptor LTB4-BLT1 ejercen un efecto antagonista bloqueando así la activación de los PMN, además funcionan como agonistas del receptor ChemR23, logrando una disminución en la producción de citoquinas por parte de las células dendríticas⁵⁹.

Desde el descubrimiento de los mediadores de la inflamación, se han desarrollado diversos proyectos de investigación para evaluar el efecto pro-resolutivo de las resolvinas ante diferentes condiciones fisiológicas y patológicas. Uno de los temas principales ha sido su papel ante la pérdida de tejido óseo, como consecuencia de un proceso inflamatorio, al igual que sus efectos sobre las células de tejido epitelial y conectivo, durante los procesos de reparación y cicatrización ^{60,61}.

8. RESOLUCIÓN INFLAMATORIA Y RESTITUCIÓN DE LOS TEJIDOS

La cronicidad de un estado inflamatorio conlleva a la destrucción de los tejidos circundantes y la pérdida de su función. La regeneración y la cicatrización son eventos fisiológicos que tienen lugar en el tejido dañado como método de contención ante un agente agresor, o como parte del proceso de restitución de su integridad.

El primer paso en la reparación de un sitio afectado, comprende la eliminación de las células y las moléculas pro inflamatorias, para dar origen a la liberación de proteínas y factores de crecimiento que determinarán el curso en la proliferación de nuevos vasos sanguíneos, el depósito de la matriz extracelular y la multiplicación y/o migración de la población celular que compensará las células perdidas durante la lesión y la respuesta inflamatoria⁶².

La resolución inflamatoria, es un proceso activo que implica la generación de mediadores específicos que actúan sobre las células que componen el infiltrado inflamatorio, para lograr su migración de los tejidos dañados y el cese en la producción de sustancias pro inflamatorias⁶³.

Los derivados de la oxidación del EPA Y DHA son las moléculas responsables de llevar acabo la “pro – resolución”, un suceso que se interpreta como la aceleración en el tiempo que demora el proceso de resolución y un aumento en su eficacia, sin inhibir o comprometer la respuesta natural del sistema inmune⁶⁴.

II.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México la prescripción de bifosfonatos orales e intravenosos, continúa formando parte de los medicamentos de primera elección en la prevención y el tratamiento de enfermedades que comprometen la integridad del tejido óseo, como: osteoporosis post-menopaúsica, enfermedad de Paget y algunas neoplasias con metástasis a hueso.

Aunque se ha difundido información respecto al posible desarrollo de ONMAB como un efecto secundario del consumo de bifosfonatos, actualmente no existe un consenso respecto a los riesgos o beneficios que implicaría la interrupción de la terapia antirresortiva, así como el momento idóneo en el que podría realizarse, ya que la persistencia del fármaco en el tejido (incluso hasta por diez años) es uno de los principales puntos de discusión.

La detección temprana de ONMAB ha sido clave para evitar la progresión de ésta patología hasta un estadio avanzado, desafortunadamente no en todos los casos se ha logrado su diagnóstico en una fase inicial, lo que ha impedido iniciar con un tratamiento a base de colutorios y antibiótico terapia, dejando como único recurso la resección quirúrgica del tejido dañado.

Ante el aumento en la incidencia de ONAMAB y los casos reportados, se tornó indispensable la implementación de terapias con fármacos alternos a los bifosfonatos, y el desarrollo de numerosos proyectos de investigación, con el objetivo de generar más conocimientos acerca de la etiología y el curso de dicha enfermedad, así como diversos protocolos para su abordaje y el planteamiento de nuevas medidas terapéuticas.

III.JUSTIFICACIÓN

Los odontólogos durante el ejercicio de su profesión, realizan tratamientos y procedimientos quirúrgicos que activan el proceso de remodelado óseo. En los pacientes que han recibido bifosfonatos como parte de un tratamiento para enfermedades que afectan el metabolismo óseo, la exposición del hueso al microambiente bucal, se considera un factor de riesgo para el desarrollo de ONMAB.

Diversos estudios han demostrado la eficacia de los ácidos grasos Omega-3 y su combinación con aspirina, en la resolución del proceso inflamatorio y la reparación de los tejidos afectados, logrando su cicatrización y devolviéndolos a su función. En esta investigación se propone su implementación como una medida preventiva ante el desarrollo de ONMAB, debido a la necesidad de contar con una terapia accesible y de bajo costo, que permita evitar o disminuir el riesgo de desarrollar dicha afección.

IV.OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la administración de omega -3 y aspirina sobre el proceso de cicatrización alveolar en un modelo de osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos inducida en rata.

Objetivos Particulares

- Desarrollar un modelo experimental de osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos, a través de la administración de ácido zoledrónico y la realización de una extracción dental.
- Realizar un análisis la histomorfológico del hueso y la mucosa del sitio donde se realizó la extracción, en las ratas con ONMAB medicadas con omega-3, aspirina y con la combinación de ambos.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿La administración de omega-3 y aspirina modificará o impedirá el desarrollo de osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos?

¿Qué características tendrán los tejidos circundantes a la lesión que será realizada?

V.HIPÓTESIS

La administración de omega-3 y aspirina favorecerá el proceso cicatrización por segunda intención en los grupos de ratas propensos a desarrollar osteonecrosis maxilar inducida por bifosfonatos.

VI. METODOLOGÍA

Investigación experimental, longitudinal y comparativa.

Población de estudio y formación de grupos

Para este estudio se emplearon 27 ratas de la cepa Wistar (machos), con un peso entre 200 y 250 grs, criadas y mantenidas en el bioterio de la FES Iztacala con una temperatura entre 21°-27° y con acceso ad libitum de agua y comida.

La manipulación de los animales se realizó de acuerdo a lo establecido en la Norma Mexicana 062 (NOM-062-ZOO-1999) y los criterios estipulados por la comisión de Bioética de la FES Iztacala.

Las ratas se distribuyeron aleatoriamente en 5 grupos de 5 ratas y uno de 2.

Para desarrollar el modelo de osteonecrosis, se administró Ácido zoledrónico una vez por semana durante 4 semanas previas a la extracción del segundo molar superior derecho. La administración de omega y aspirina inició el día de la extracción y continuó 9 días más.

GRUPO	CANTIDAD DE RATAS	DESCRIPCIÓN
SHAM	5	Ratas Wistar sin medicación, se administró solución salina y se realizó extracción del segundo molar.
ÁCIDO ZOLEDRÓNICO	5	Ratas Wistar con medicación (ác. Zoledrónico), se realizó extracción del segundo molar.

ÁCIDO ZOLEDRÓNICO+OMEGA	5	Ratas Wistar con medicación (ác. Zoledrónico), se realizó extracción del segundo molar. Administración de suplemento alimenticio a base de omega-3
ÁCIDO ZOLEDRÓNICO +ASPIRINA	5	Ratas Wistar con medicación (ác. Zoledrónico), se realizó extracción del segundo molar. Administración de aspirina.
ÁCIDO ZOLEDRÓNICO +OMEGA+ASPIRINA	5	Ratas wistar con medicación (ác. Zoledrónico), se realizó extracción del segundo molar. Administración de suplemento alimenticio a base de omega-3

ESQUEMA DE ADMINISTRACIÓN DEL MEDICAMENTO Y EXTRACCIÓN DEL SEGUNDO MOLAR.

1. Inducción del modelo de osteonecrosis.

A cada rata se le administraron .198 mg/kg de ácido zoledrónico (SIGMA) vía intraperitoneal, durante 4 semanas previas a la intervención quirúrgica y una última el día de la extracción, la dosis total fue de 99 mg/kg aproximadamente.

2. Extracción del segundo molar.

Para la extracción del segundo molar maxilar derecho, se administró intraperitonealmente, ketamina 60 mg/kg (ANESKET) como anestésico y xilacina 10 mg/kg (PROCIN) como sedante.

A) Las ratas se sujetaron a una base de madera, sus extremidades fueron inmovilizadas con cinta adhesiva, se empleó hilo cáñamo para sujetar los incisivos del animal y lograr la apertura bucal, se retrajeron los carrillos para obtener una mejor visión del campo de trabajo.

B) Se utilizó instrumental modificado específicamente para realizar la extracción del segundo molar superior derecho. Primero se realizó sindesmotomía, posteriormente se luxó, traccionó y avulsionó el molar con unas pinzas adaptadas para fungir como fórceps.

Fotografía 1.1 Instrumental empleado para la realización de las extracciones.



C) Se logró hemostasia comprimiendo el área lesionada.



Fotografía 1.2 Retracción de los carrillos para apreciar con más claridad el área de trabajo.

D) Se retiró el hilo cáñamo de los incisivos, se liberó al animal de la base de madera y se mantuvo en observación durante 30 minutos para descartar efectos nocivos posteriores a la anestesia.

Todos los grupos fueron monitoreados durante 21 días.

3. Medicación con omega 3 y aspirina.

Para la obtención del omega 3 se emplearon cápsulas de un suplemento alimenticio a base de salmón noruego, marca "ALL NATURE". El contenido de ácidos grasos omega3 por cada cápsula fue: EPA .29g y DHA .20g.

La dosis de elección fue 1g/kg por día, se administró por vía oral con ayuda de una micro pipeta. Las ratas recibieron la primera dosis horas previas a la extracción y durante 9 días más.

15 mg/ kg fue la dosis elegida de aspirina, 1.25 mg se administraron oralmente y se acondicionaron los bebederos de las ratas para asegurar la ingesta de 2.5 mg más de aspirina a lo largo del día, para lo anterior se estableció como parámetro una rata con un peso de 250 mg y un consumo de 20 a 40 ml de agua al día. Las ratas recibieron la primera dosis horas previas a la extracción y durante 9 días más.

4. Sacrificio y disección del maxilar.

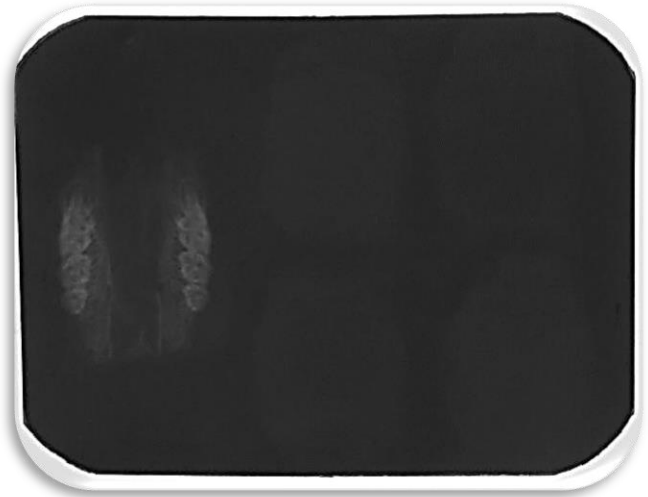
El sacrificio de los animales se realizó a través de la administración de pentobarbital sódico (PISABENTAL) en una dosis de 100mg/kg. Posteriormente se disecaron los maxilares y se colocaron en una solución de paraformaldehído al 4% y un buffer de fosfatos el volumen fue 10 veces mayor al tamaño de las muestras.

Procesamiento de las muestras

Para lograr la descalcificación de los tejidos, los maxilares se sumergieron durante 14 días en una solución de EDTA con un pH de 7.4 y se verificó radiográficamente la descalcificación.



Fotografía 1.3 Maxilares descalcificados.



Fotografía 1.4 Comprobación radiográfica de la descalcificación.

Una vez descalcificados, los maxilares se deshidrataron en un tren de alcoholes con una concentración creciente:

- OH ETÍLICO

OH 70° - 2 hrs

OH 80° - 2 hrs

OH 90° - 2 hrs

OH 100° - 1 hrs

Xilol- 5 min

Aceite mineral- 24 hrs

Se llevó a cabo la inclusión en parafina y posteriormente una inclusión en bloque.

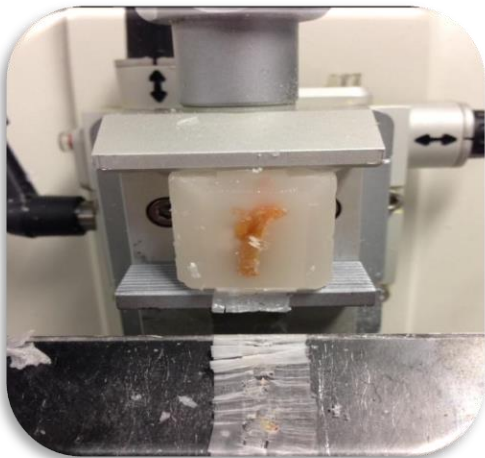
Parafina I – Fundida a 60° - 24 hrs

Parafina II- Fundida a 60°-24 hrs

Fotografía 1.5 Maxilar incluido en parafina.



Se realizaron cortes de 7 micras de grosor con navaja de bajo perfil en micrótopo Leica.



Fotografía 1.6 Montaje en el micrótopo para la realización de los cortes.



Fotografía 1.7 Obtención de cortes de 7 micras.

Los cortes se montaron en portaobjetos, se empleó gelatina en el baño de flotación para mejorar la adhesión, se colocaron en una plancha a una temperatura de 50 ° C y posteriormente se desparafinaron.

La tinción de las laminillas se realizó con Hematoxilina y Eosina.

Desparafinar e hidratar:

Xilol 1- 5 min

Xilol 2-5 min

OH 100°- 2 min

OH 90°- 2 min

OH 80°- 2 min

OH 70°- 2 min

H₂O- enjuagar

Tinción:

Hematoxilina - 5 min

H₂O- enjuagar

OH ácido - lavar

Agua amoniacal- lavar hasta virar a azul

H₂O – enjuagar

Eosina – 3 min

H₂O – enjuagar

Deshidratación:

OH 70°- 2 min

OH 80°- 2 min

OH 90°- 2 min

OH 100°- 2 min

Xilol 1- 5 min

Xilol 2- 5 min

Para el montaje de los cortes en los porta objetos se empleó bálsamo de Canadá.

Análisis macroscópico de los maxilares.

Después del sacrificio los maxilares fueron desarticulados del resto del cuerpo, se tomó una fotografía al maxilar con la lesión más significativa de cada uno de los grupos y se elaboró una tabla para registrar la existencia o la ausencia de ONMAB, considerando como parámetros la completa cicatrización del alvéolo o la presencia de hueso expuesto.

Análisis microscópico de los cortes histológicos

El análisis microscópico de la lesión se realizó mediante la observación de las laminillas con los objetivos 4x, 10 x y 40x en el microscopio MOTIC. Empleando el programa MOTIC PLUS se realizó una serie de fotografías del alvéolo y las áreas circundantes de la extracción.

Para contar con una aproximación acerca del área de hueso necrótico que se observaba en la zona de la extracción, de cada grupo se seleccionaron las laminillas de una rata en las que se pudiesen apreciar con mayor claridad las estructuras, específicamente 3 cortes pertenecientes al alvéolo. Finalmente el área de hueso necrótico se midió en tres segmentos con proximidades distintas al área de la lesión empleando el objetivo 10x.

Para delimitar las áreas de necrosis, en el programa MOTIC PLUS 3.0 se empleó la opción de medir de forma libre, el criterio para limitar las áreas fue la continuidad de 8 o más lagunas de osteocitos vacías.

VII. RESULTADOS

Del total de especímenes empleados en esta investigación, sólo se analizaron los maxilares de 22 ratas debido a que 3 murieron antes de realizar la extracción y 2 después de realizar el procedimiento.

Registro de la evidencia macroscópica y microscópica de osteonecrosis.

Grupo	# de Rata	Aministración de Ác. Zoledrónico	Alvéolo	Evidencia clínica de osteonecrosis (Área de hueso expuesta)	Evidencia microscópica de osteonecrosis
Sham	1	NO	Cerrado	NO	SI
	2	NO	Cerrado	NO	NO
	3	NO	Cerrado	NO	NO
	4	NO	Cerrado	NO	NO
	5	NO	Cerrado	NO	NO
Ácido zoledrónico	1	SI	Abierto	SI	SI
	2	SI	Abierto	SI	SI
	4	SI	Abierto	SI	SI
	5	SI	Abierto	SI	SI
Omega	1	SI	Cerrado	NO	SI
	2	SI	Cerrado	NO	SI
	3	SI	Abierto	SI	SI
Aspirina	1	SI	Abierto	SI	SI
	2	SI	Cerrado	NO	SI
	3	SI	Abierto	SI	SI
	4	SI	Abierto	SI	SI
	5	SI	Abierto	SI	SI
Omega + Aspirina	1	SI	Abierto	NO	SI
	4	SI	Cerrado	NO	SI
	5	SI	Cerrado	NO	SI

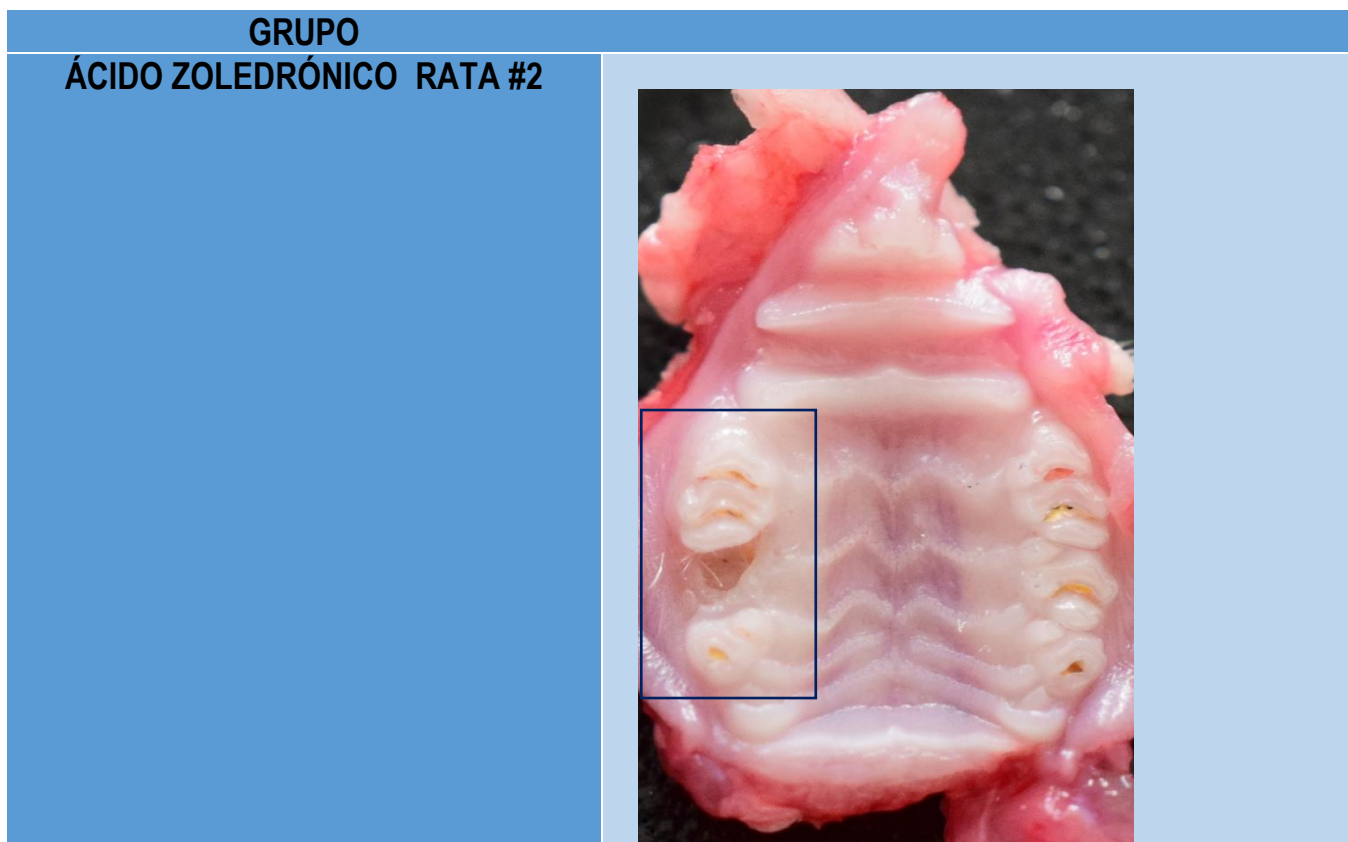
El grupo al que se le realizó la extracción y no se le administró ac. Zoledrónico (grupo sham) mostró clínicamente el cierre de la herida de la extracción, e histológicamente, en cuatro especímenes observamos hueso sano con osteocitos ocupando las lagunas osteocitarias, un espécimen (20%) mostró lagunas osteocitarias vacías. Mientras que en el grupo control, los especímenes a los que se les administró ac. Zoledrónico mostraron clínicamente un alvéolo sin cicatrización o con cicatrización parcial (epitelización), mientras que a nivel histológico se observó la presencia de lagunas vacías que demostraron osteonecrosis.

El grupo al que se le administró además de ác. Zoledrónico ácidos grasos omega, mostró clínicamente un 66% de cicatrización de la mucosa que cubre el alvéolo post-extracción y en un espécimen (33%) se observa el alvéolo parcialmente abierto. Histológicamente se observó en todos los especímenes de este grupo lagunas osteocitarias vacías, lo que indica la presencia de hueso necrótico.

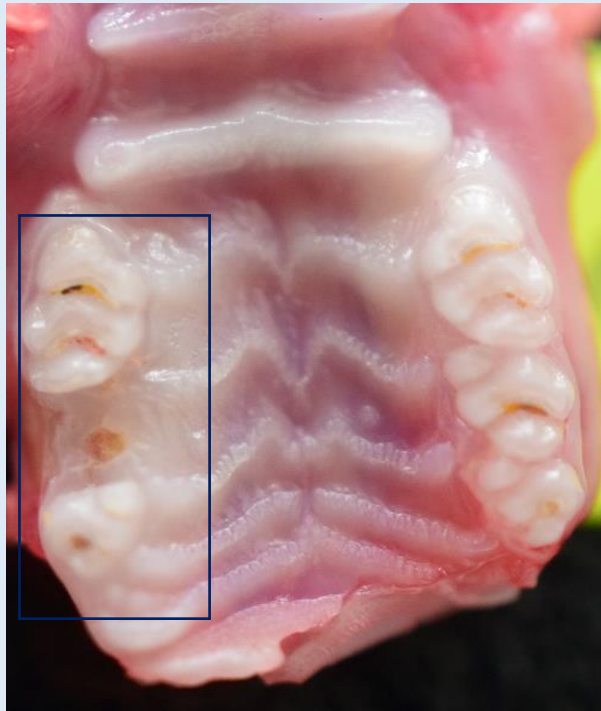
En el grupo de ratas a las que se les administró ác. Zoledrónico y aspirina solo se observó un espécimen con cicatrización (20%) y cuatro miembros del grupo mostraron el alveolo post-extracción abierto (80%). A nivel histológico todos mostraron lagunas osteocitarias vacías.

El grupo de ratas a las que se les administró ác. Zoledrónico y posteriormente aspirina y ácidos grasos omega mostraron clínicamente dos de ellos el alvéolo cubierto en su totalidad por mucosa, mientras que en uno de ellos se observó el alvéolo post-extracción abierto. Histológicamente todos los especímenes mostraron lagunas osteocitarias vacías.

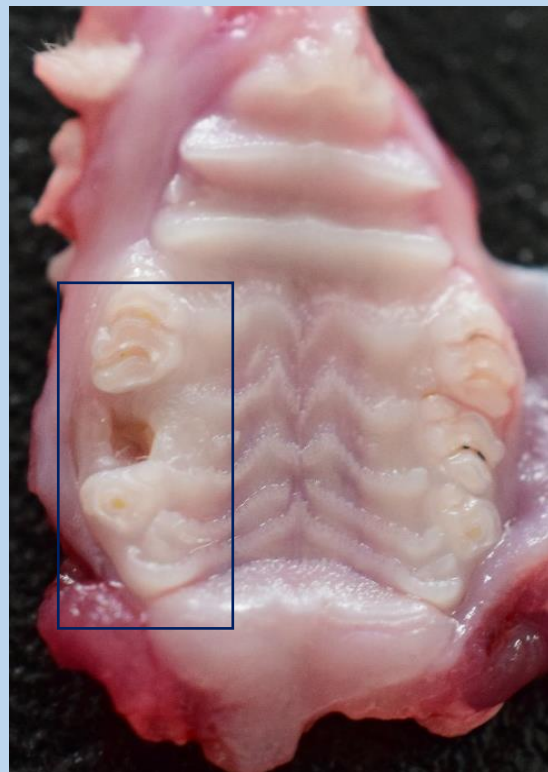
Fotografías representativas de cada grupo.



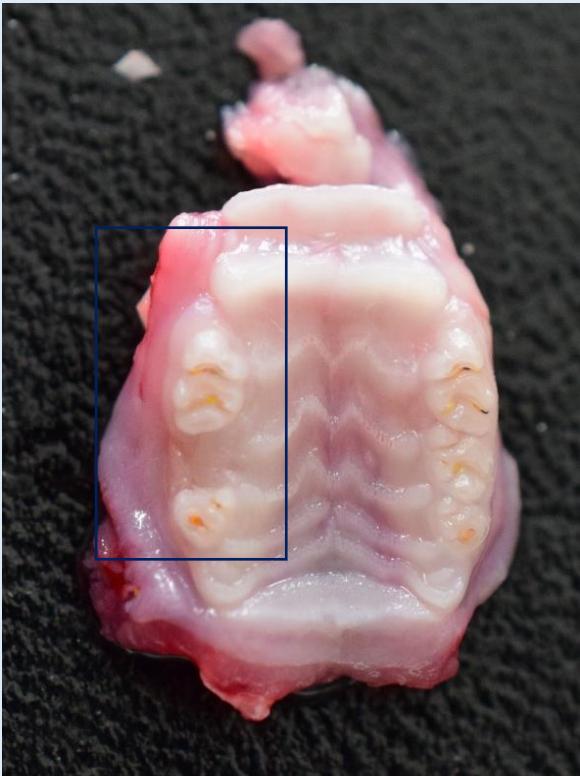
AZ+ OMEGA 3 RATA #3



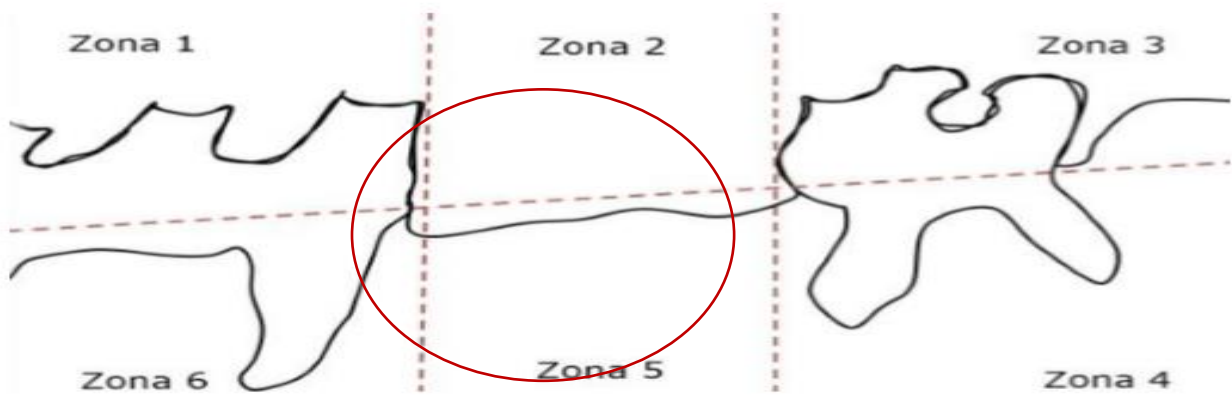
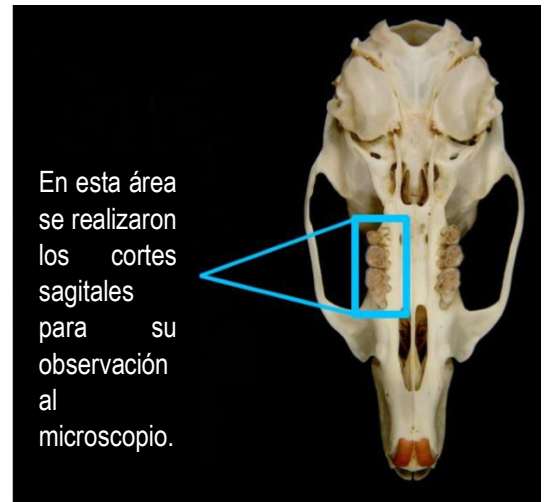
AZ+ ASPIRINA RATA #3



AZ+ OMEGA 3 + ASPIRINA #5



Vista inferior del maxilar de rata.
(Vidal 2013)



Esquema de un corte sagital de maxilar de rata.
(Vidal 2013)

DESCRIPCIÓN DE LAS ESTRUCTURAS OBSERVADAS EN LOS CORTES

ZONA 1	Corona del primer molar superior derecho.
ZONA 2	Espacio que dejó la extracción del segundo molar superior derecho.
ZONA 3	Corona del tercer molar superior derecho.
ZONA 4	Raíces del tercer molar superior derecho.
ZONA 5	Alvéolo y tejido adyacente a la extracción del segundo molar superior derecho. Área de interés. ○
ZONA 6	Raíces del primer molar superior derecho.

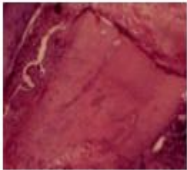
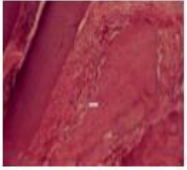
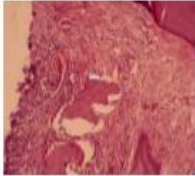
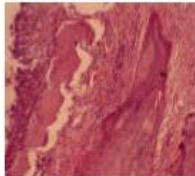
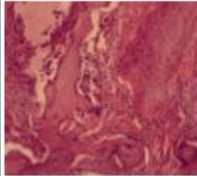


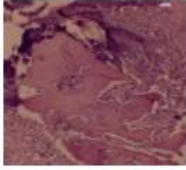
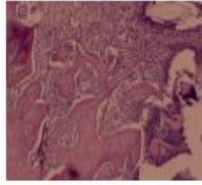

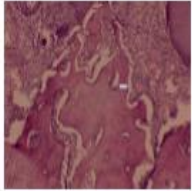

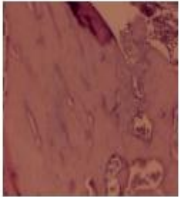
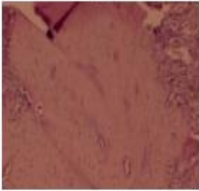
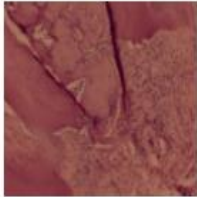


TABLA DE MEDICIONES DE EN ÁREAS DE NECROSIS

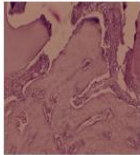
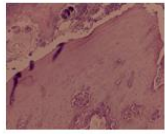
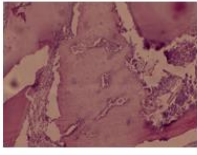
GRUPO/Nº RATA/ LAMINILLA/Nº FOTO/SEGMENTO	OBJETIVO	ÁREA (mm ²)	ÁREA TOTAL DE NECROSIS	PERÍMETRO (mm)
Z11/1	10X	2.273	3.818 mm²	7.944
Z12/2	10X	.607		4.294
Z13/3-1	10X	.150		2.345
Z13/3-2	10X	.314		3.981
Z13/3-3	10X	.474		5.491
O 1 1 / 1	10X	1.783	9.821 mm²	10.448
O11/1-2	10X	2.531		6.819
O11/1-3	10X	1.231		4.689
O12/2-1	10X	.170		1.730
O12/2-2	10X	2.715		7.607
O13/3	10X	1.391		6.683
A31/1-1	10X	.605	2.743 mm²	8.227
A31/1-2	10X	.079		2.021
A32/2-1	10X	.845		9.033
A32/2-2	10X	.206		4.905
A32/2-3	10X	.421		3.391
A33/3	10X	.587		8.529
OA41/1	10X	.435	2.355 mm²	3.156
OA42/1	10X	.854		5.412
OA43/1	10X	1.156		6.908

Interpretación de las mediciones.

De acuerdo con las cifras obtenidas, la rata número 1 perteneciente al grupo de Omega 3 tuvo la mayor área de necrosis. Por otra parte, la rata número 4 perteneciente al grupo de Omega 3+Aspirina, presentó la menor área de hueso necrótico.

A pesar de lo interesantes que resultaron los valores obtenidos, las cifras no se utilizaron para realizar un análisis estadístico debido a la ausencia de la misma cantidad de laminillas viables por cada rata, así como el mismo número de especímenes por cada grupo.

Ácido zoledrónico	Z11/1 	Z12/2 	Z13/3-1 	Z13/3-2 	Z13/3-3 	
Aspirina	A31/1-1 	A31/1-2 	A32/2-1 	A32/2-2 	A32/2-3 	A33/3 
Omega	O11/1 	O11/1-2 	O11/1-3 	O12/2-1 	O12/2-2 	O13/3 

Omega y aspirina	OA 41/1 	OA42/1 	OA43/1 		
------------------	---	--	--	--	--

Análisis estadístico.

Para el análisis de los resultados se empleó el test estadístico no paramétrico de Kruskal Wallis.

En las variables se consideró que los 4 grupos que diferían entre sí por la combinación de la terapia con ácido zoledrónico y la adición de omega 3 o aspirina, así como la presencia de un alvéolo abierto o completamente cicatrizado.

Los resultados del análisis de Kruskal-Wallis muestra que a nivel clínico no hubo diferencias significativas entre los diferentes grupos ($p=.169$).

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos

medicamento		N	Rango promedio
alveolo	Ac. Zoledrónico	4	10.50
	A. Zoledrónico + Omega	3	5.50
	Ac.Zoledrónico + Aspirina	5	9.00
	Ac.Zoledrónico + Aspirina+Omega	3	5.50
	Total	15	

Estadísticos de contraste^{a, b}

	alveolo
Chi-cuadrado	5.040
gl	3
Sig. asintót.	.169

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: medicamento

VIII.DISCUSIÓN

Declaración de los hallazgos principales

En este proyecto, desarrollamos un modelo de estudio que consta de 5 semanas de administración de ácido zoledrónico, seguido por la extracción del segundo molar superior. El objetivo fue evaluar los cambios que podrían surgir ante la administración de omega-3 y aspirina, ya que en estudios previos se había descrito el efecto de las moléculas que resultan de la fusión de estos compuestos, que actúan estimulando el aclaramiento del infiltrado inflamatorio y favoreciendo el proceso de cicatrización^{50, 56}.

En el presente estudio describimos el efecto de la terapia combinada de ácidos omega y aspirina en la cicatrización de la herida post- extracción en ratas tratadas con ácido zoledrónico, se observó que en el 66% ocurrió cicatrización 21 días después de la extracción, a diferencia del control a los que se les administró sólo ac. Zoledrónico, grupo en el que el alvéolo permaneció abierto a los 21 días.

En el grupo de ácidos grasos omega también ocurrió una buena respuesta cicatrizal (66%) en comparación del grupo testigo. En el grupo de aspirina sólo cicatrizó el 20%.

Fortalezas y debilidades del estudio.

El estudio que realizamos es el primero que demuestra la utilidad de la suplementación con ácidos grasos omega y aspirina para promover la cicatrización de la mucosa oral en un modelo de osteonecrosis que utiliza ácido zoledrónico y un procedimiento quirúrgico, como lo es la extracción del segundo molar maxilar.

La muerte de los animales durante el periodo de experimentación redujo el número de ellos para la realización adecuada del análisis estadístico, sin embargo, la tasa de necrosis asociada a la administración de ácido zoledrónico fue del 100%

Fortalezas y debilidades en relación con otros estudios

El primer estudio que reporta la utilización de un agente farmacológico para prevenir la aparición de lesiones de osteonecrosis asociada a bifosfonatos utilizó penicilina tres días antes y 4 días después de la extracción. Su porcentaje de osteonecrosis en las ratas tratadas con ácido zoledrónico y dexametasona alcanzó sólo el 34.6% , que se redujo a 9.61 % en el grupo al que administró la penicilina⁶⁵.

Ersan et al. (2014) evaluaron el efecto de la teriparatida en un modelo de osteonecrosis utilizando también ácido zoledrónico y una extracción dental en ratas, no encontraron exposición ósea en

ninguno de sus grupos, sin embargo a nivel histológico reportan áreas de osteonecrosis que fueron mayores en el grupo al que le administraron ácido zoledrónico que en el que administraron ácido zoledrónico y teriparatida ²⁹.

Keskinruzgar et al. (2016) utilizaron teriparatide para prevenir la osteonecrosis asociada a medicamentos, y si bien reportan que este análogo de la hormona paratiroidea disminuye la inflamación asociada al proceso de la cicatrización ósea, las áreas osteonecróticas fueron similares tanto en el grupo control como en el tratado con teriparatide⁶⁶.

En otro estudio en el que inducen osteonecrosis con la administración de ácido zoledrónico y extracción dental, para prevenir el desarrollo de osteonecrosis en el sitio de la extracción utilizan plasma rico en plaquetas autólogo y muestran mejora en la cicatrización del sitio de la extracción ⁶⁷.

De acuerdo a lo anterior, el porcentaje de protección conferida por los ácidos grasos omega y los ácidos grasos omega más aspirina , promueve una rápida cicatrización de la mucosa , aislando al hueso necrótico, permitiendo una cicatrización ósea con un riesgo menor de presentar una infección u osteomielitis.

Significado del estudio

Desde su descubrimiento, las resolvinas y las lipoxinas, has sido ampliamente estudiadas debido a su papel como moléculas aceleradoras en el proceso de resolución inflamatoria.

La trascendencia de nuestro modelo radica en que se plantea el uso de mediadores lipídicos de la inflamación, como una medida terapéutica que tiene como cualidades el ser una opción de tratamiento accesible y de bajo costo, además de no contar con reportes de efectos secundarios.

Preguntas sin respuesta y futuras investigaciones

En este estudio se demostró que la administración de omega 3 en combinación con aspirina, resultó eficiente para lograr la reepitelización en el sitio de la extracción. A pesar del éxito obtenido en la evaluación macroscópica de los tejidos, se debe estudiar a profundidad el efecto de la administración de únicamente omega 3 y su relación con un aumento en la cantidad de tejido necrótico por encima de los demás grupos.

Prolongar la duración de este modelo, permitiría describir el comportamiento del hueso necrótico que se encuentra debajo del nuevo tejido formado y determinar el tiempo que tardan en remodelarse las áreas de tejido dañado u observar si se genera una nueva exposición.

Establecer cuál sería la cantidad mínima de suplementación para lograr la síntesis de los mediadores pro-resolutivos, así como el momento preciso de su administración, haría posible la

creación de nuevos protocolos de atención quirúrgica para lograr un mejor control sobre el proceso inflamatorio y la restitución de los tejidos.

IX CONCLUSIONES.

La administración de ácido zoledrónico en una dosis de .198 mg/kg una vez por semana durante 5 semanas, y la realización de una extracción dental, son suficientes para desarrollar un modelo de osteonecrosis maxilar.

Administrar Omega 3 y ácido zoledrónico produce un área de necrosis histológica de mayor extensión, que la simple administración de ácido zoledrónico.

El empleo de omega 3 en combinación con aspirina, no impide el desarrollo de áreas de hueso con lagunas vacías de osteocitos, lo que se define como osteonecrosis, sin embargo resulta eficiente en la estimulación del proceso de cicatrización, puesto que 2 de 3 especímenes vivos, mostraron una reepitelización total en el sitio donde se realizó la extracción.

El procesamiento que se le da a las muestras de tejido es vital para obtener cortes uniformes, lo que permite realizar mediciones y análisis donde no se presenten variaciones en las cifras que sean consecuencia de la contracción de los tejidos.

Para dar mayor solidez a los resultados de este modelo, es necesaria la realización de algunas pruebas adicionales para demostrar que con las dosis empleadas de omega 3 y aspirina se logra la síntesis orgánica de resolvinas y lipoxinas, además de la identificación de la serie a la que pertenecen.

Sería prudente prolongar la duración de este modelo de estudio, para analizar el comportamiento del hueso necrótico que permanece debajo del nuevo tejido conectivo y epitelial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006 Jan 1;11(1):E47-51.
2. Gutiérrez Gómez J. El proceso de remodelación ósea. *Ortho-tips*. 2008;4 (3):170-176.
3. Fernández Tresguerres, Hernández Gil Isabel, Alobera Gracia Miguel Angel, Del Canto Pingarrón Mariano, Blanco Jerez Luis. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II: El proceso de remodelado. *Med. oral patol. Oral cir.bucal*. 2006; 11(2): 151-157
4. Saladin S. Kenneth. Tejido óseo. En: Fraga DL Javier. Anatomía y fisiología; la unidad entre forma y función. Sexta ed. México: Mc Graw- Hill; 2013. P 206-233.
5. Riancho José, Gutierrez Gloria. Factores reguladores de la resorción ósea. *Rev Metab Oseo Min* 2003; 1(2):51-66
6. Liza J. Raggatta Nicola C. Partridge. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem*. 2010; 283 (33): 25103-25108.
8. Arbolea L, Castañeda S. Osteoclastos, mucho más que células remodeladoras del hueso. *Rev Osteop Metab Miner*. 2014; 6(4):109-121
9. Reyes García R., Rozas Moreno P., Muñoz Torres M. Regulación del proceso de remodelado óseo. *REEMO*. 2008; 17(1):10-14
10. Olmos Martínez, González Macías. Mecanismo de acción de los bifosfonatos. *Med Clin Monogr (Barc)*. 2008; 9(7):22-27
11. Landesberg R, Cozin M, Cremers S, Woo V, Kousteni S, Sinha S, Garrett-Sinha L, Raghavan S. Inhibition of oral mucosal cell wound healing by bisphosphonates. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008 May;66(5):839-47.
12. Hawkins Carranza F, Jódar Gimeno E, Martínez Díaz G. Bases moleculares del mecanismo de acción de los bifosfonatos. *REEMO*. 2000; 9 (5): 169-171.
13. Arbildo H, Chumpitaz-Durand R, Vidal-Mosquera A. Osteonecrosis de los maxilares relacionada con el tratamiento con bifosfonatos. Una revisión. *KIRU*. 2014; 11(1):90-100
14. Cortés Motta M, Fernández Grisales R. Osteonecrosis de los maxilares: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. *Rev. CES Odont*. 2016; 29(2): 65-77.

15. Lombard T, Neirinckx V, Rogister B, Gilon Y, Wislet S. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: New Insights into Molecular Mechanisms and Cellular Therapeutic Approaches. *Stem Cells Int.* 2016;2016:8768162.
16. Chang, Greenspan, Beltran, Gershwin
17. Valle M., Noa M., Mas R., Mendoza S. Osteonecrosis. Una breve revisión. *Rev CENIC.* 2009; 41 (2):91-97.
18. Nicolatou, Papadoupoulou, Sarri, Boziari, Karayianni, Kyrtsolis, Repousis. Osteonecrosis of the jaw in oncology patients treated with bisphosphonates: prospective experience of a dental oncology referral center. *Rev OOOOE.* 2011; 112(2): 195-202.
19. Ruggiero S, et al. Medication related osteonecrosis of the jaw. Update. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014; 72: 1938-1956.
20. Giribone J., Catagnetto P. Osteonecrosis de los maxilares inducida por bifosfonatos; lo que el odontólogo debe saber: pautas y protocolos. *Rev Odontoloestomatol.* 2013; 15 (21):45-58.
21. Endo Y, Kumamoto H, Nakamura M, Sugawara S, Takano-Yamamoto T, Sasaki K, Takahashi T. Underlying Mechanisms and Therapeutic Strategies for Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ). *Biol Pharm Bull.* 2017;40(6):739-750
22. Bradford, O’Ryan. Management of Medication-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Maxillofacial Surg Clin N Am.* 2015; 27: 517-525.
23. Rodríguez Lozano, Oñate Sánchez. Treatment of osteonecrosis of the jaw related to bisphosphonates and other antiresorptive agents. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2016 1; 21 (5):595-600.
24. González, Rodríguez, Utrera, Díaz, Medrano. Tratamiento de la osteonecrosis de los maxilares. Casos clínicos y revisión bibliográfica. *Revista Mexicana de Cirugía Bucal y Maxilofacial* 2015; 11 (3): 100-109102.
26. Sharma D, Hamlet S, Petcu E, Ivanovski S. Animal models for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws an appraisal. *Oral Dis.* 2013; 19(8):747-754.
27. Aghaloo T, Kang B, Sung, Shoff M, Ronconi M, Gotcher J, Bezouglaia O, Dry S., Tetradis S. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J bone miner res.* 2011; 26(8):1871-1882
28. Vidal Gutierrez, Gómez Clavel, Gaitán Cepeda. Dental extraction following zoledronate, induces osteonecrosis in rat's jaw. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2017 Mar; 22(2): e177–e184

29. N Ersan, L J van Ruijven, A L J J Bronckers, V Olgaç, D'Ilg'uy, V Everts. Teriparatide and the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a rat model. *Dentomaxillofac Radiol.* 2014; 43(1): 1-8.
30. Huawei Yang, Hui Pan, Fang Yu, Kai Chen, Guangwei Shang, Yuanzhi Xu, A novel model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in rats. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8(5): 5161–5167.
31. Kaibuchi N, Iwata T, Yamato M, Okano T, Ando T. Multipotent mesenchymal stromal cell sheet therapy for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in a rat model. *Acta Biomater.* 2016; 42:400-410.
32. Kazuki Takaoka, Michiyo Yamamura, Toshihiro Nishioka, Tetsuya Abe, Joji Tamaoka, Emi Segawa, Masami Shinohara, Haruyasu Ueda, et al. Establishment of an Animal Model of Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws in Spontaneously Diabetic Torii Rats. *PLoS One.* 2015; 10(12): 1-14.
33. Jang HW, Kim JW, Cha IH. Development of animal model for Bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 2015; 37(1): 1-7.
34. Howie RN, Borke JL, Kurago Z, Daoudi A, Cray J, Zakhary I E, Brown, et al. A Model for Osteonecrosis of the Jaw with Zoledronate Treatment following Repeated Major Trauma. *PLoS One.* 2015; 10 (7):1-16.
35. Barba-Recreo P, Del Castillo Pardo de Vera J L, García-Arranz M, Yébenes L, Burgueño M. Zoledronic acid - related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014; 42(6):744-750.
36. Silva P G, Ferreira Junior A E, Teófilo C R, Barbosa M C, Lima Júnior R C, Sousa F B, Mota M R, et al. Effect of different doses of zoledronic acid in establishing of bisphosphonate-related osteonecrosis. *Arch Oral Biol.* 2015 ;60(9):1237-1245.
37. Marino KL, Zakhary I, Abdelsayed RA, Carter JA, O'Neill JC, Khashaba, et al. Development of a rat model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *J Oral Implantol.* 2012; 38 (1): 511-518.
38. Zandi M, Dehghan A, Malekzadeh H, Janbaz P, Ghadermazi K, Amini P. Introducing a protocol to create bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in rat animal model. *J Craniomaxillofac Surg.* 2016; 44(3):271-278.

39. Kenichi Ogata, Wataru Katagiri, Masashi Osugi, Takamasa Kawai Yukiko Sugimura, Hideharu Hibi, et al. Evaluation of the therapeutic effects of conditioned media from mesenchymal stem cells in a rat bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like model. *Bone*. 2015; 74:95-105.
40. KS Ağaçayak, H Yuksel, S Atılgan, M Koparal, MC Uçan, M Özgöz, F Yaman, Y Atalay, İ Acıkan. Experimental investigation of relationship between trauma and bisphosphonate-related osteonecrosis. *Niger J Clin Pract*. 2014; 17(5): 559-564.
41. Cervantes, Cervantes, Presno. Mecanismos de señalización involucrados en la resolución de la inflamación. *Gaceta Médica de México*. 2014; 150: 440-449.
42. González, Elizondo, Gutiérrez, León. Implicaciones fisiopatológicas entre inflamación crónica y el desarrollo de diabetes y obesidad. *Rev Cir Cir*. 2011; 79:209-216.
43. Recio, Pérez, Avelleyra. Revisión de las bases fisiopatológicas de la inflamación. *Rev CONAMED*. 2016; 22(1): 48-51.
44. León, Alvarado, Armas, Miranda, Varens, Cuesta del Sol. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. *Rev Enf no Trans Finlay*. 2015; 5 (1): 47-62.
45. Toledo Yupanqui. Inflamación: Mediadores químicos. *Rev. Act. Clin. Med*. 2014; 43:2266-2270.
46. Sanhueza, Durán, Torres. Los ácidos grasos dietarios y su relación con la salud. *Nutr Hosp*. 2015; 32(3):1362-1375.
47. Kathleen M. Botham, Peter A. Mayes. Biosíntesis de ácidos grasos y eicosanoides en: Harper bioquímica ilustrada. 29ª edición. México: McGraw-Hill; 2013.
48. Castellanos T., Rodríguez D. El efecto de omega 3 en la salud humana y consideraciones en la ingesta. *Rev Chil Nut*. 2015; 42(1): 90-95.
49. Valenzuela B., Tapia O., González E., Valenzuela B., Ácidos grasos omega-3 (epa y dha) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Rev Chil Nutr*. 2011; 38(3): 356-367.
50. J. Clària, N. Ferré, A. González-Pérez, R. Horrillo, M. López-Parra. Papel de los mediadores lipídicos derivados del ácido araquidónico en la inflamación y la fibrogénesis hepática. *Gastroenterol Hepatol*. 2007; 30(1):88-98
51. Thomas E. Van Dyke. The Management of Inflammation in Periodontal Disease. *J Periodontol*. 2008; 79(8): 1601–1608.

52. Velásquez V., Gil V., Cadavillo J. Lipoxinas inducidas por aspirina como alternativa para modular los procesos inflamatorios en la preclampsia. *Rev Cubana Obstet Ginecol.*2013; 39(3):292-305.
53. Alejandro Ibáñez García. Los ácidos grasos esenciales: prevención y tratamiento de la inflamación. [Tesis. España: Universidad de Cantabria;2019.41p.
54. Spite M, Serhan N. Novel lipid mediators promotes resolution of acute inflammation: impact of aspirin and statins. *Circ Res.* 2010; 107(10): 1170–1184.
55. Michael M, BriCeño C, Alcota M, González F. Péptidos antimicrobianos y mediadores lipídicos : rol en la enfermedades periodontales. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral.* 2016; 9(3): 231-237.
56. Díaz Ortega , Vera Granda. Bases moleculares de los derivados metabólicos de ácidos omega -3 en el proceso antiinflamatorio. *UCV – Scientia.* 2012; 4(2): 175-183.
57. Ardila Medina. Resolvina E1 promueve resolución de la inflamación en enfermedad periodontal. *Av Periodon Implantol.* 2012; 24, 2: 71-75
58. Serhan CN. Treating inflammation and infection in the 21st century: new hints from decoding resolution mediators and mechanisms. *FASEB J.* 2017; 31(4):1273-1288
59. Payal Kohli, Bruce D Levy. Resolvins and protectins: mediating solutions to inflammation. *Br J Pharmacol.* 2009; 158: 960–971.
60. Karim El Kholy, Marcelo Freire, Tsute Chen, Thomas E. Van Dyke. Resolvin e1 Promotes Bone Preservation Under inflammatory conditions. *Front. Immunol.*2018 ;9(1300): 1-16.
61. Funaki Y, Hasegawa Y, Okazaki R, Yamasaki A, Sueda Y, Yamamoto A, Yanai M, et al. Resolvin E1 Inhibits Osteoclastogenesis and Bone Resorption by Suppressing IL-17-induced RANKL Expression in Osteoblasts and RANKL-induced Osteoclast Differentiation. *Yonago Acta Med.* 2018; 61(1):8-18.
62. Vargas O. Regeneración y cicatrización. *Rev act.clin.* 2014;43: 2256-2260.
63. Lopez Bago A, González R, Ruíz S, Rivera J. Inmunidad e inflamación en el proceso quirúrgico. *Rev Fac Med UNAM.* 2018; 61(4): 7-15.
64. Charles N Serhan, Bruce D Levy. Resolvins in inflammation, emergence of the pro- resolving super family of mediators. *J Clin Invest.* 2018;128(7): 2657-269.
65. López-Jornet P, Camacho-Alonso F, Martínez-Canovas A, Molina-Miñano F, Gómez-García F, Vicente-Ortega V. Perioperative antibiotic regimen in rats treated with pamidronate plus

dexamethasone and subjected to dental extraction: a study of the changes in the jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011 Oct;69(10):2488-93. doi: 10.1016/j.joms.2011.02.059.

66. Keskinruzgar A, Bozdog Z, Aras MH, Demir T, Yolcu U, Cetiner S. Histopathological Effects of Teriparatide in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: An Animal Study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2016 Jan;74(1):68-78.

67. Toro LF, de Mello-Neto JM1, Santos FFVD, Ferreira LC, Statkiewicz C, Cintra LTÂ, Issa JPM, Dornelles RCM, de Almeida JM, Nagata MJH, Garcia VG, Theodoro LH, Casatti CA, Ervolino E,. Application of Autologous Platelet-Rich Plasma on Tooth Extraction Site Prevents Occurrence of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws in Rats. *Sci Rep.* 2019 Jan 10;9(1):22.