Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

Efecto de la asociación de vitamina E con dexametasona en la regeneración ósea en la osteotomía inducida en ratones

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología con mención en Farmacología Experimental

AUTOR

Melissa Aracely BECERRA BRAVO

ASESOR

Dr. Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Lima, Perú

2025



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Becerra M. Efecto de la asociación de vitamina E con dexametasona en la regeneración ósea en la osteotomía inducida en ratones [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2025.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Melissa Aracely Becerra Bravo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	77244964
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-3672-4153
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Jorge Luis Arroyo Acevedo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	06785241
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-7695-1908
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Norma Julia Ramos Cevallos
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	25469870
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Jorge Luis Arroyo Acevedo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06785241
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Yovani Martín Condorhuamán Figueroa
Tipo de documento	DNI

Número de documento de identidad	09597625
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Victor Manuel Chumpitaz Cerrate
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10677759
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.2.2. Uso de medicamentos
Grupo de investigación	No aplica.
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento.
Ubicación geográfica de la investigación	País: Perú. Departamento: Lima. Provincia: Lima. Distrito: Lima. Urbanización: Barrios Altos Calle: Av. Miguel Grauu 755. Latitud: 12°3'24" Longitud: 77°1'22"
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Diciembre 2021 - Marzo 2023 2021-2023
URL de disciplinas OCDE	Farmacología, Farmacia http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN FARMACOLOGÍA CON MENCIÓN EN FARMACOLOGÍA EXPERIMENTAL

Siendo las **14:00 hrs. del 27 de febrero de 2025** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado de tesis, presidido por la Dra. Norma Julia Ramos Cevallos e integrado por los siguientes miembros: Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (asesor), Dr. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa y el Dr. Victor Manuel Chumpitaz Cerrate; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"EFECTO DE LA ASOCIACION DE VITAMINA E CON DEXAMETASONA EN LA REGENERACION ÓSEA EN LA OSTEOTOMÍA INDUCIDA EN RATONES"**, presentado por la Bachiller en Odontología **Melissa Aracely Becerra Bravo.**

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental.** Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por la graduanda.

A continuación el Jurado de la tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

Excelente (19) Diecinueve

Luego la Presidenta del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Bachiller en Odontología **Melissa Aracely Becerra Bravo,** el Grado Académico de **Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental.**

Siendo las 3.00 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 3.10 hrs. del 27 de febrero del 2025.

Dra. Norma Julia Ramos Cevallos (P. P. T.C)
Presidente

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (P.P. T.C.)
Miembro - Asesor

Dr. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa (P. P. T.P.)
Miembro

Dr. Victor Manuel Chumpitaz Cerrate (P. P. T.C.)
Miembro

Observaciones:

Jr. Puno 1002 – Lima 1
Apartado Postal 4559 Lima 1
Teléfono 619-7000 anexo 4812
Email:upg.farmacia@unmsm.edu.pe

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo **Jorge Luis Arroyo Acevedo** en mi condición de asesor acreditado con Dictamen **N° 00126-FFB-UPG-2021** de la tesis, cuyo título es **EFECTO DE LA ASOCIACION DE VITAMINA E CON DEXAMETASONA EN LA REGENERACION ÓSEA EN LA OSTEOTOMÍA INDUCIDA EN RATONES,** presentado por el bachiller Melissa Aracely Becerra Bravo, para optar el grado de Magister en Farmacología con mención en Farmacología Experimental. CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de **2.%** de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.

Firma del Asesor _____

DNI: 06785241

Nombres y apellidos del asesor: Jorge Luis Arroyo Acevedo



A Dios, fuente inagotable de sabiduría y fortaleza, por guiarme en cada paso de este camino y por brindarme la inspiración necesaria para alcanzar este logro.

A mis padres, Liliana y Víctor, cuya dedicación y amor incondicional han sido el pilar fundamental en mi vida. Gracias por su apoyo constante y por enseñarme el valor del esfuerzo y la perseverancia.

A Kathi y Neil por ser siempre mi refugio y mi motivación. Su compañía y cariño me han impulsado a superar cada desafío con determinación.

A mi compañero y cómplice en esta travesía, por su paciencia y comprensión en los momentos más difíciles. Con su apoyo incondicional ha sido una luz en mi camino.

A Josh, Julia, Julian, Ruth, Nathalie y mis amigos, por estar a mi lado, brindándome palabras de aliento y compartiendo conmigo cada momento especial de esta etapa.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi profunda gratitud a mi asesor de tesis. Dr. Mg Jorge Luis Arroyo Acevedo, cuyo conocimiento, orientación y apoyo constante han sido esenciales para la culminación de este trabajo. Su dedicación y paciencia al guiarme durante todo el proceso han sido fundamentales para mi desarrollo académico y personal.

Al Mg. CD. Eliberto Ruiz Ramirez por ser una fuente constante de motivación y apoyo. Su presencia ha sido un pilar esencial durante todo el proceso, brindándome conocimientos, energía y animo necesario para poder realizar esta investigación.

A MC. Katherine Y. Becerra Bravo, MC. Neil F. Becerra Bravo, MC. Josh A. García Dextre, CD Nathalie Cachay Mercado, por su apoyo compromiso y conocimiento durante la ejecución de la investigación.

Expreso mi más sincero agradecimiento a los miembros del jurado, Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo, Dr. Victor Manuel Chumpitaz Cerrate, Dr Yovani Martín Condorhuamán Figueroa cuyo tiempo, conocimiento y valiosas observaciones han contribuido significativamente al enriquecimiento de este trabajo. Su rigurosidad académica y sus aportes han sido fundamentales para mejorar la calidad de esta investigación. Así mismo, de manera especial, agradezco a la presidenta del jurado, Dra. Norma Julia Ramos Cevallos, por su liderazgo, compromiso y orientación durante el proceso. Su profesionalismo y criterio han sido de gran inspiración y han permitido lograr un resultado académico sólido y bien fundamentado. A todos ustedes, mi más profundo reconocimiento y gratitud.

Finalmente, extiendo mi gratitud a la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por proporcionarme el entorno académico adecuado y los recursos necesarios para el desarrollo de esta tesis. Su apoyo institucional ha sido crucial para alcanzar este logro.

ÍNDICE

i. Dedicatoria
ii. Agradecimientos
iii. Resumen
iv. Abstract
v. Índice de Tablas
vi. Índice de Figuras

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN. 11
Objetivos 12
Objetivo general 12
Objetivos Específicos 12
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO 12
2.1. Antecedentes 12
2.2. Aspectos teóricos 16
2.2.1. Regeneración ósea 16
2.2.2. Vitamina E 19
2.2.3. Corticosteroides 20
2.3. Definición de términos 22
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA DEL ESTUDIO 22
3.1. Tipo de Investigación 22
3.2. Diseño de la investigación. 22
3.3. Unidad de análisis del estudio. 22
3.4. Población del estudio. 22
3.5. Tamaño de la muestra del estudio. 22
3.6. Muestra del estudio. 23
3.7. Recolección de la información. 24
3.8. Análisis e interpretación de datos. 27
CAPITULO IV. RESULTADOS 29
4.1 Resultados de la evaluación histopatológica. 29
4.2. Evaluación histopatológica de células osteoprogenitoras. 35
4.3. Evaluación histopatológica de trabéculas óseas. 40
4.4. Resultados de la evaluación bioquímica. 41
4.5. Resultados de la evaluación Radiológica. 46

CAPITULO V. DISCUSIÓN. 47
CAPITULO VI: -CONCLUSIONES. 52
CAPITULO VII.: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 53
CAPITULO VIII: ANEXOS 60
Anexo 1: Procedimiento para inducción de osteotomía en fémur. 60
Anexo 2: Recolección de la muestra 62
Anexo 3: Aprobación de comité de ética 63
Anexo 4: Solicitud permiso para ejecución de proyecto de tesis en el laboratorio experimental de farmacología de la UNMSM 64
Anexo5. Certificación de Sanidad de Animales para la ejecución de la Tesis 64

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto de asociación de dexametasona con Vitamina E en regeneración ósea en un modelo de osteotomía inducida en ratones. **Materiales y métodos**: se utilizaron 144 ratones Balb/c de 30+/-10g machos, distribuidos aleatoriamente en 6 grupos, grupo A: Cloruro de sodio 0,9%, grupo B: Dexametasona 0,6mg/kg vía intraperitoneal(ip), Grupo C: Vitamina E 60mg/kg vía oral (vo), Grupo D: Vitamina E 200mg/kg vía intraperitoneal (ip), Grupo E: Dexametasona 0,6mg/kg más Vitamina E 60mg/kg por vía Oral(vo), Grupo F: Dexametasona 0,6mg/kg más Vitamina E 200mg/kg por vía Oral(vo). A todos los ratones se les realizó osteotomía en el fémur y se administró los tratamientos correspondientes. Posteriormente se evaluó recuento de células por campo osteoprogenitoras (osteoblastos, osteocitos), trabéculas óseas, fosfatasa alcalina, calcio sérico y radiopacidad en diferentes momentos (7,14,21 días postcirugía). **Resultados**: En la evaluación histopatológica los grupos que recibieron vitamina E (vo e ip) y la combinación de dexametasona con vitamina E mostraron mayor recuento de osteoblastos y osteocitos en comparación con el grupo control y dexametasona sola. A los 14 días, el grupo Vitamina E (ip) presentó niveles más altos de osteoblastos. A los 7 días, el grupo tratado con vitamina E (vo) mostró un 70% de trabéculas moderadas. A los 21 días el grupo tratado con la combinación dexametasona con vitamina E mostraron 90% de trabéculas abundantes. Los niveles de fosfatasa alcalina más altos fueron los del grupo dexametasona a los 14 días y a los 21 días los grupos Vitamina E (vo) y control mostraron mayores valores. En cuanto al calcio sérico el grupo con dexametasona y vitamina E (ip) tuvo niveles más elevados en el día 7 y el grupo con dexametasona obtuvo mayores niveles a los 21 días. **Conclusiones:** la administración de dexametasona con Vitamina E mostró un efecto positivo en la regeneración ósea. esto podría sugerir que la vitamina E puede mitigar los efectos negativos de la Dexametasona en la regeneración ósea.

Palabras Clave: hueso, regeneración, vitamina E, dexametasona.

ABSTRACT

Objective: To determine the effect of the associated dexamethasone with Vitamin E on bone regeneration in a mouse model with induced osteotomy. **Materials and Methods:** A total of 144 male Balb/c mice weighing 30±10g were randomly distributed into six groups: Group A: 0.9% sodium chloride; Group B: Dexamethasone 0.6mg/kg intraperitoneally (ip); Group C: Vitamin E 60mg/kg orally (vo); Group D: Vitamin E 200mg/kg intraperitoneally (ip); Group E: Dexamethasone 0.6mg/kg plus Vitamin E 60mg/kg orally (vo); Group F: Dexamethasone 0.6mg/kg plus Vitamin E 200mg/kg intraperitoneally (ip). All mice underwent femoral osteotomy and received the corresponding treatments. Subsequently, cell counts per field (osteoblasts, osteocytes), bone trabeculae, alkaline phosphatase, serum calcium, and radiopacity were evaluated at different time points (7, 14, and 21 days post-surgery). **Results:** In the histopathological evaluation, the groups that received Vitamin E (vo and ip) and the combination of dexamethasone with Vitamin E showed higher counts of osteoblasts and osteocytes compared to the control group and dexamethasone alone. At 14 days, the group with intraperitoneal Vitamin E presented the highest levels of osteoblasts. At 7 days, the group treated with Vitamin E (vo) showed 70% moderate trabeculae. At 21 days, the group treated with the combination of dexamethasone and Vitamin E showed 90% abundant trabeculae. The highest levels of alkaline phosphatase were observed in the dexamethasone group at 14 days, while at 21 days, the Vitamin E (vo) and control groups showed the highest values. Regarding serum calcium, the group treated with dexamethasone and Vitamin E (ip) had the highest levels on day 7, and the group that received dexamethasone alone had the highest levels on day 21. **Conclusions:** The combination of dexamethasone and Vitamin E showed a positive effect on bone regeneration, suggesting that Vitamin E may mitigate the negative effects of dexamethasone on bone regeneration.

Keywords: bone; regeneration; vitamin E; dexamethasone.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla1. Prueba de normalidad de células osteoprogenitoras.

Tabla 2. Conteo de osteoblastos posterior a la intervención quirúrgica en fémur a los 7,14,21 días.

Tabla 3. Conteo de osteocitos posterior a la intervención quirúrgica en fémur a los 7,14,21 días.

Tabla 4. Trabéculas óseas posterior a la intervención quirúrgica en fémur a los 7,14,21 días.

Tabla 5. Valores de Fosfatasa Alcalina después la intervención quirúrgica en fémur a los 7,14,21 días.

Tabla 6. Niveles de Calcio posterior a la intervención quirúrgica en fémur a los 7,14,21 días.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Grupo control a los siete días posterior a la inducción de osteotomía ósea

Figura 2. Grupo control a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea.

Figura 3. Grupo dexametasona a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea.

Figura 4. Grupo vitamina E (vo) a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea.

Figura 5. Grupo vitamina E (ip) a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea.

Figura 6. Grupo vitamina E (ip) a los 21 días posterior a la inducción de osteotomía ósea.

Figura 7. Grupo dexametasona + vitamina E (vo) a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea.

Figura 8. Grupo dexametasona + vitamina E (vo) a los siete días posterior a la inducción de osteotomía ósea.

Figura 9. Grupo dexametasona + vitamina E (ip) a los siete días posterior a la inducción de osteotomía ósea.

Figura 10. Grupo dexametasona + vitamina E (ip) a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea.

Figura 11. Recuento de osteoblastos según grupo de tratamiento a los 7,14,21 días.

Figura 12. Recuento de osteocitos según grupo de tratamiento a los 7,14,21 días.

Figura 13. Comparación de Fosfatasa Alcalina los días a los 7,14 y 21 en los grupos intervenidos.

Figura 14. Comparación de Niveles de Calcio Sérico los días a los 7,14 y 21 en los grupos intervenidos.

Figura 15. Radiografías de los grupos intervenidos posterior a la inducción de osteotomía 7 días.

Figura 16. Radiografías de los grupos intervenidos posterior a la inducción de osteotomía 14 días.

Figura 17. Radiografías de los grupos intervenidos posterior a la inducción de osteotomía 21 días.

Figura 18. Sujeción de ratón para Administración de fármacos para inducir anestesia.

Figura 19. Administración de medicamentos para anestesia general.

Figura 20. Zona quirúrgica preparada y delimitada.

Figura 21. Exposición de realización de osteotomía en fémur izquierdo.

Figura 22. Cierre de herida quirúrgica y sutura por planos.

Figura 23. Eutanasia y recolección de muestras.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.

Existen procedimientos quirúrgicos en nuestra área odontológica que implican traumatización de tejidos mucosos y óseos, así mismo intervenciones prolongadas, las cuales pueden conducir a secuelas postoperatorias inflamatorias(1). Las complicaciones inflamatorias como el dolor, la hinchazón, el trismo, la infección afectan negativamente el bienestar de los pacientes tras la intervención quirúrgica odontológica(2).

La inflamación generada en procedimientos quirúrgicos complejos en odontología, como cirugías de tercer molar, enucleación de quistes u odontomas, implican que se genere en el tejido intervenido una inflamación moderada a severa(1). Por ello, los fármacos utilizados para la afección de dicha inflamación son los corticoides, entre ellos la dexametasona con un alto efecto antiinflamatorio, estos medicamentos a pesar de poseer un efecto antiinflamatorio ideal para tratamientos quirúrgicos, también se han convertido en agentes perjudiciales en los procesos de la regeneración del tejido óseo intervenido, debido que uno de sus efectos secundarios perjudiciales se da en la formación del nuevo hueso(3,4).

Por otro lado, la Vitamina E es un agente antioxidante encontrado en algunas semillas(nueces) y plantas (espinaca y el brócoli) que son fuentes ricas en αT y γT(5). Existen investigaciones que sugieren un efecto beneficioso de la Vitamina E sobre la reparación del tejido óseo, lo cual sería un efecto positivo en casos de querer promover la reparación más eficaz del hueso en pacientes sometidos a cirugías complejas y que reciben corticoides como tratamiento antiinflamatorio(6,7). Este estudio busca encontrar evidencia acerca del impacto beneficioso de la Vitamina E en la regeneración del tejido óseo en individuos que reciben corticoides sistémicos, lo que nos permitirá recomendar o no su uso asociado a los corticoides para reducir el efecto negativo de estos sobre el hueso.

Formulación del Problema

¿La asociación de Dexametasona con Vitamina E tendrá efecto regenerador óseo en una osteotomía inducida en ratones?

Objetivos

Objetivo general

Determinar si la asociación de Dexametasona con Vitamina E posee efecto sobre la regeneración ósea en un modelo de osteotomía inducida en ratones.

Objetivos Específicos

- Conteo de Células óseas osteoprogenitoras (osteoblastos y osteocitos) en el área de osteotomía inducida en ratones, en el grupo que recibió Dexametasona con Vitamina E comparado con los demás grupos.
- Conteo de trabéculas óseas en el área de osteotomía inducida en ratones, en el grupo que recibió Dexametasona con Vitamina E comparado con los demás grupos.
- Evaluar los niveles *de* fosfatasa alcalina en ratones que recibieron Dexametasona con Vitamina E comparado con los demás grupos.
- Evaluar los niveles *de* calcio sérico en ratones que recibieron Dexametasona con Vitamina E comparado con los demás grupos.
- Evaluar consolidación ósea mediante radiopacidad de la lesión en el área de osteotomía inducida en ratones, en el grupo que recibió Dexametasona con Vitamina E comparado con los demás grupos.
- Evaluar el efecto de la vía de administración de la Vitamina E en ratones inducidos a osteotomía ósea sobre el efecto de la reparación ósea

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

de Lima, et al, en el 2020.(8) Realizó un estudio preclínico con el objetivo de analizar los efectos de distintas dosis preoperatorias de dexametasona en la reparación alveolar. Para ello, se emplearon 60 ratas divididas en 4 grupos de 15 ratas cada uno. Se administraron dosis preoperatorias únicas de dexametasona equivalentes a dosis humanas de 4 mg (Grupo 4 mg), 8 mg (Grupo 8 mg) y 12 mg (Grupo 12 mg), calculadas mediante extrapolación de dosis alométrica; y se inyectó solución salina a las ratas del grupo de control. Los animales fueron anestesiados y se extrajeron sus primeros molares mandibulares izquierdos (M1). Después de tres, siete y 40 días, procedieron al sacrificio 5 animales por grupo y recolectaron muestras

de hueso del alvéolo M1 para la evaluación radiográfica, histomorfológica e histométrica de las fases temprana y tardía de la curación alveolar. Concluyeron que una sola dosis preoperatoria de 12 mg de dexametasona afectó las primeras etapas de la reparación alveolar en ratas.

Savvidis M., et al, en el 2020(9). Realizó "La administración posoperatoria de alfa-tocoferol mejora la osteointegración de los implantes de acero inoxidable: un modelo de rata in vivo" con el objetivo de evaluar el efecto del a-tocoferol en la oseointegración de los implantes. Realizó un modelo experimental, ciego en 30 ratas Wistar machos con implantes ortopédicos, los cuales se dividieron en grupo control(n=15) y experimental(n=15). El día cero se implantó el tornillo personalizado en la metáfisis proximal de ambas tibias de todas las ratas. El día uno se realizó aleatorización para ver quien recibía a-tocoferol (40mg/kg, cada 24h, por VI) y solución salina (Controles). Los animales se trataron de acuerdo con los protocolos de extracción del implante en tibias derechas, se evaluó torque de extracción e histomorfometría, hueso recién formado, niveles plasmáticos de a-tocoferol, melondialdehído, carbonilos de proteínas, glutatión a glutatión oxidado. Concluyendo que el a-tocoferol administrado posoperatoriamente puede mejorar la oseointegración de un implante ortopédico.

Mergoni G, et al, en el 2019.(10) Con el objetivo de investigar los efectos del ácido zoledrónico y la dexametasona en fases tempranas de la cicatrización del alveolo en ratas sometidas a extracción dental. Utilizaron un modelo experimental de extracción dental en ratas, que estuvo conformado por 30 ratas Sprague-Dawley macho divididas en dos grupos: un grupo tratado farmacológicamente (T, n=20) y grupo sin tratamiento farmacológico (C, n=10). Los animales del grupo T recibieron 0,1 mg / kg de ácido zoledrónico (ZOL) y 1 mg / kg de dexametasona (DEX) tres veces por semana durante 10 semanas consecutivas y las ratas sin tratamiento se administró un vehículo. Concluyendo, que la exposición a ZOL más DEX altera la reparación de la herida alveolar. La inhibición de la reabsorción osteoclástica de las paredes del alvéolo después de la extracción del diente y la incapacidad para deshacerse del hueso necrótico pueden considerarse los pasos iniciales del inicio de la osteonecrosis relacionada a medicación.

Akay H., et al, en el 2019.(11) Con el principal interés de analizar la influencia de la administración sistémica de Vitamina E durante la distracción osteogénica mandibular sobre la regeneración ósea en conejos. Utilizaron 16 conejos de Nueva Zelanda machos adultos de ocho meses de edad, los cuales fueron divididos en grupo control y experimental, ambos sometidos a alargamiento mandibular con un distractor elaborado para el estudio. Posterior a cinco días, el distractor se activó a una velocidad de 0,5mm/12 horas durante siete días. El grupo experimental recibió 200mg/Kg de a-tocoferol por Vía IP durante siete días a partir de la operación. Posterior al periodo de consolidación de 30 días se sacrificaron los animales. Se obtuvieron las mandíbulas de los conejos y se sometieron a absorciometría de rayos X de energía dual (DXA), análisis radiológico e histomorfométrico. Concluyendo que la aplicación sistémica de vitamina E durante la distracción osteogénica puede estimular la formación de hueso nuevo en conejos y por lo tanto reduce el tiempo de tratamiento.

Vicentini, C. B., et al, en el 2018.(12) Al realizar "Clinical evaluation of two dexamethasone regimens in the extractions of impacted third molars—randomized clinical trial" con el objetivo de comparar protocolos terapéuticos de Dexametasona para prevención de inflamación postoperatoria, dolor y otras complicaciones luego de la cirugía de tercer molar impactado. Realizaron un ensayo clínico que estuvo conformado por 50 pacientes con impacto simétrico de terceros molares. Los pacientes fueron asignados aleatoriamente a dos protocolos diferentes de dexametasona, para cada lado se realizaron dos sesiones con intervalo de 21 días. El grupo uno, se administró a los pacientes dexametasona 8mg por vía oral 1h antes del procedimiento. El grupo dos, dexametasona 4mg por vía enteral 1h antes del procedimiento y 24 h después del procedimiento. Obtuvieron como resultados que el uso preventivo de diferentes protocolos de dexametasona tuvo efectos beneficiosos contra el dolor, edema, limitación de apertura bucal, especialmente en la administración de dexametasona de 8mg, sugiriendo que puede ser un protocolo eficaz para cirugías más invasivas.

Semper-Hogg, W et al. En el 2017.(13) Realizó un ensayo clínico aleatorizado, prospectivo, controlado con el propósito de analizar el efecto de una inyección intravenosa de dexametasona preoperatoria de 40mg sobre la inflamación posoperatoria y las alteraciones neurosensoriales después de la cirugía ortognática. La muestra estuvo conformada por 38

pacientes (27 varones 11 mujeres) con indicación de cirugía ortognática, edad media de 27.63 años rand de 16 a 61 años. Se dividieron en dos grupos al azar(control/estudio). Al mismo tiempo se dividieron en 3 subgrupos según la técnica quirúrgica (A: osteotomía LeFort I, B: osteotomía sagital bilateral (BSSO), C: osteotomía bimaxilar). El grupo de estudio se le administró antes del procedimiento dosis única por vía intravenosa 40 mg de dexametasona. El edema facial se midió mediante exploración de superficie al día uno, dos, cinco ,14 y 90 días posoperatorio. Alteraciones neurosensoriales los días dos, cinco,14, y 90, mediante estimulación térmica. Concluyendo que los pacientes que van a ser sometidos a cirugía ortognática deben recibir dosis de dexametasona preoperatoria.

Ren, H. et al., en el 2015. (14)**.** Realizaron un estudio cuyo objetivo fue comparar el efecto de glucocorticoides como: metilprednisolona y dexametasona, a nivel de columna lumbar de la rata e intentar explorar el mecanismo asociado. La muestra estuvo conformada por 48 ratas Sprague Dawley, se dividió en cuatro grupos aleatoriamente: grupo referencia (BL), control (CON), metilprednisolona (MP), dexametasona (DEXA). BL se sometió a eutanasia al inicio del experimento como línea base, grupo control se administró vehículo diariamente, el grupo MP 1 mg / kg de metilprednisolona por vía subcutánea diariamente y al grupo DEXA una inyección subcutánea de 0,6 mg / kg, durante tres días. Los grupos CON, MP y DEXA se monitorizaron a las 4 semanas (M1), 8 semanas (M2) y 12 semanas (M3) después de la intervención. Concluyendo que Dexametasona provoca mayor osteoporosis comparado con Prednisolona.

Ibrain N. et al, en el 2014(15). Realizaron "La administración dirigida de lovastatina y tocotrienol al sitio de la fractura promueve la curación de la fractura en el modelo de osteoporosis" con el objetivo de investigar lovastatina y el tocotrienol, que utilizan un sistema de administración de fármacos dirigido en la curación de fracturas en ratas osteoporóticas menopáusicas. Utilizaron un modelo de fractura de tibia en ratas. La muestra estuvo conformada por 48 ratas hembra Sprague-Dawley fueron divididas en 6 grupos. El primer grupo fue operado de forma simulada (SO), el otro grupo fueron ovariectomizadas(OVx). Luego de 2 meses se fracturaron las tibias derechas de las ratas en la región de la metasínfisis usando ultrasonido pulsado y se fijaron con placas y tornillos. Posteriormente los grupos SO y OVxC recibieron dos inyecciones únicas de lovastatina y tocotrienol. El grupo de estrógeno

(OVx + EST) se le administraron diariamente sonda oral de Premarin (64.5 µg / kg). Al grupo de tratamiento con Lovastatina (OVx + Lov) se le administró una inyección única de 750µg/kg de partículas de lovastatina. Al grupo tocotrienol (OVx + TT) se le administró una inyección única de 60mg/kg de partículas de tocotrienol. Al grupo de tratamiento de combinación (OVx + Lov + TT) se le administraron dos inyecciones individuales de 750µg/kg de partículas de lovastatina y 60mg/kg de partículas de tocotrienol. La cicatrización de la fractura se evaluó mediante micro CT y parámetros biomecánicos. Concluyeron que la combinación de lovastatina y tocotrienol promueve mejor curación de fracturas de hueso osteoporótico.

Chin KY & Ima-Nirwana S., en el 2014.(16) Realizaron un estudio con el objetivo de evaluar los efectos anti osteoporóticos del tocotrienol derivado de annato (AnTT) utilizando un modelo de rata osteoporótica deficiente en testosterona. La muestra estuvo conformada por 40 ratas que se dividieron aleatoriamente en grupos de referencia(R), simulacros(S), orquiectomizados (ORx), AnTT (A) y Testosterona(T). El grupo R se sometió a eutanasia sin tener tratamiento alguno. Los grupos restantes se sometieron a orquiectomía, excepto el grupo simulado. AnTT 60 mg / kg / día se administró por vía oral al grupo AnTT, mientras que el grupo de testosterona recibió annato y testosterona 7 mg / kg por semana por vía intramuscular durante 8 semanas. Se evaluó los cambios en el hueso de la tibia mediante tomografía micro computarizada. Concluyendo que AnTT mejora la salud ósea en ratas con deficiencia de testosterona.

2.2. Aspectos teóricos

2.2.1. Regeneración ósea

El tejido óseo se encuentra en constante remodelación, pero cuando existe un daño es capaz de regenerarse sin dejar cicatriz(17). En todos los huesos de nuestro cuerpo el mecanismo de regeneración y curación se da de forma similar, esto se debe a la reactivación de los procesos que se dieron durante la embriogénesis. Son muchos los factores implicados en la regeneración del tejido óseo(18).

La regeneración ósea ocurre mediante la combinación de osificación endocondral e intramembranosa; sin embargo, siguen una secuencia de regeneración de acuerdo con procesos de cicatrización generales que son: Inflamación, reparación y remodelación(19).

2.2.1.1 Fase Inflamatoria

La lesión a nivel óseo conlleva a la rotura de vasos sanguíneos y daño de células dentro del hueso, también de tejidos blandos adyacentes, produciendo un daño generalizado de células y tejidos, que en conjunto se encargarán de la formación de hematoma y posteriormente una reacción inflamatoria(18).

Los mediadores proinflamatorios se secretan e inician la cascada de reparación. Las células que iniciaran este proceso inflamatorio durante las primeras 24 horas son los neutrófilos quienes secretaran interleucinas y quimiocinas como IL-6 y CCL2(ligando de quimiocinas 2)(20); sin embargo, existen estudios que cuestionan la función de neutrófilos en esta etapa, debido a que reportan que el flujo excesivo de neutrófilos en el sitio de la lesión produce una mala cicatrización(21,22). Interleucinas-1B, IL-6, IL-11, IL-17, IL18, IL-23. Los neutrófilos proceden a reunir la segunda ola de infiltración de células inflamatorias al sitio de lesión monocitos/macrófagos, además se conoce que existe macrófagos residentes específicos en el hueso que van a participar en la reparación de la lesión(23). Los macrófagos también liberaran mediadores inflamatorios y quimiotácticos para dar inicio al reclutamiento de fibroblastos, células madre mesenquimales (MSC) y células osteoprogenitoras de sitio de lesión (medula ósea local, periostio y paredes capilares de pericitos). Es importante saber que es necesario la expresión de las MSC tanto de fuentes locales como sistémicas (el encontrado en la circulación) en la zona de lesión(18). Componentes formes de la sangre, como las plaquetas, llegan a la zona de lesión, activándose y liberando citoquinas como TGF b y PDGF, para cumplir funciones específicas en el proceso de reparación al funcionar como agentes quimiotácticos de otras células inflamatorias(22). Entonces en el proceso de reparación hay un protagonismo clave de quimiocinas proinflamatorias, de interleucinas reparadoras (TGF b), factores de crecimiento tisular (VEGF, FGF-2 y PDGF), así como proteínas morfogenéticas óseas BMP (TGF-b1, b2 y b3) (18,24,25) para iniciar el reclutamiento de células madre en el sitio de lesión que se activan al tercer día(20).

La presión de oxígeno disminuye en el sitio de reparación debido a la inflamación vasoconstricción y falta de vascularización. Las condiciones del microentorno (hipóxico) conducen al aumento de niveles de factor inducible de Hipoxia1 (HIF-1), el factor de transcripción que controla la expresión de angiopoyetina, inducen el crecimiento del vaso y vascularización de los tejidos de reparación(26). Si es que el microentorno ácido no está en equilibrio habrá mayor formación de condroblastos y osteoclastos ya que no necesitan mucho oxígeno a diferencia de condrocitos y osteoblastos (24,27).

Luego de la resolución del coagulo y la existencia de nuevos vasos para la revascularización del sitio de lesión, la fase inflamatoria se termina. El tejido necrótico y exudado plasmático son eliminados para que pueda iniciar su función osteoblastos, con ello inicia la formación de matriz ósea(18).

2.2.1.2. Fase de Reparación

Durante la etapa del callo blando las células madre esqueléticas se diferencian en condrocitos o directamente en osteoblastos dependiendo del sitio de tensión, en el centro del callo se produce una regeneración a través de una osificación endocondral, mientras que en la periferia osificación intramembranosa. En la osificación endocondral las células madre se diferencian en condrocitos, proliferan y secretan matriz cartilaginosa rica en colágeno tipo II. Estas células son reemplazadas por osteoblastos que producen matriz ósea rica en Colágeno Tipo I. Entonces inicia la mineralización de la matriz ósea con alto contenido en colágeno tipo I, fosfatasa alcalina y proteínas no colágenas, que conllevan a la osificación del callo blando (18).

2.2.1.3. Fase de Remodelación

El hueso inmaduro del callo óseo es reemplazado por hueso laminar. La matriz de cartílago es eliminada por osteoclastos. A pesar de haber culminado el reemplazo del tejido óseo inmaduro, la remodelación continúa a cargo de los osteoclastos. Los osteoclastos se encargarán de reabsorber trabéculas mal orientadas y reemplazarlas por otras adaptadas a las líneas de fuerza. En el proceso de remodelación se restablece la estructura de los osteonas y el sistema de Havers, en base a las tenciones mecánicas. Finalmente, cuando la remodelación del hueso finaliza se recuperan las propiedades mecánicas(28).

2.2.2. Vitamina E

La Vitamina E tiene un papel crucial en el metabolismo celular, es por ello que su deficiencia puede afectar diversos órganos de los diferentes sistemas. Su función está en relación con otros nutrientes y factores endógenos, componiendo un sistema que brinda protección frente a efectos dañinos de especies reactivas de oxígeno que se forman durante el metabolismo o que se encuentran en el medio ambiente(29).

Es una vitamina liposoluble sintetizada por las plantas y se encuentra naturalmente en los alimentos, aceites vegetales, en menor cantidad en semillas, cereales, nueces(30). Debido a sus propiedades, se vuelven esenciales para los humanos, por tener alta actividad antioxidante y protección de la membrana celular, modulación en la transducción de señales(16,31). Así mismo recientes investigaciones indican que la Vitamina E también tiene funciones no antioxidantes en la regulación genética, y señalización celular. Se diferencia de otras vitaminas por su capacidad no toxica, sino que al parecer es beneficiosa a niveles de dosis mayores a los requeridos(31).

2.2.2.1. Propiedades

La Vitamina E implica hablar de tocoferoles y tocotrienoles, que derivan de la cadena lateral isoprenoide del 6-cromanol y muestran la actividad biológica del α-tocoferol. Los tocoferoles tienen cadenas laterales de tres unidades isopentilo completamente saturadas; el más importante de estos es α-tocoferol. Los tocotrienoles tienen cadenas laterales que contienen tres enlaces dobles(32). Para que estos compuestas tengas actividad biológica deben tener un enlace hidroxilo o éster libre en C-6 del núcleo de cromanol. Los E vitaminers se nombran de acuerdo con los grupos metilo en sus núcleos de cromanol(5).

2.2.2.2. Actividad Antioxidante

Un antioxidante es aquel que se encarga de inhibir la oxidación, evita las reacciones de oxidación, como la conversión de PUFA en hidroperóxidos grasos, la conversión de sulfhidrilos libres o unidos a proteínas en disulfuros, entre otros. Al reducir los radicales libres, protege a la membrana de todas las células del cuerpo de reacciones nocivas de las especies oxidantes altamente reactivas(29).

La Vitamina E, elimina radicales peróxilo lipídicos al donar hidrogeno del grupo fenólico en el anillo de cromanol, lo que convierte en un potente antioxidante. Los tocotrienoles son mas potentes que los tocoferoles, debido a la distribución más uniforme de los tocotrienoles en la bicapa de fosfolípidos y una interacción más efectivo de los radicales peróxilo lipídicos(29).

2.2.2.3 Actividad anti-inflamatoria

Las formas específicas de la Vitamina E como γT, δT y tocotrienoles (en particular γTE) tienen a capacidad de inhibir eicosanoides mediados por COX-2 y 5-LOX y suprimir NF-kB y JAK–STAT6 o JAK–STAT3(5).

2.2.3. Corticosteroides

Los corticosteroides, son hormonas esteroideas naturales que se encargan de regular respuestas al estrés, mantener la homeostasis lipídica, mantiene homeostasis de la glucosa, crecimiento, el desarrollo y la diferenciación celular, también tiene efectos inmunosupresores, por eso tiene efecto a nivel del sistema inmunitario se usan en enfermedades autoinmunes o inflamatorias(33).

Las hormonas esteroideas naturales son sintetizadas por la corteza de la glándula suprarrenal bajo el control de la hormona hipófisis adrenocorticotropina (ACTH) y hormona liberadora de corticotropina (CRH). El hipotálamo libera "CRH" la cual estimula a la adenohipófisis que libera ACTH para actuar a nivel de la corteza suprarrenal y liberar a nivel de la zona fasciculada el cortisol. Una vez liberados los corticosteroides, acceden a los tejidos objetivos para desarrollar su función; sin embargo, al liberarse en el organismo producen efectos positivos y negativos. los glucocorticoides también implementan un mecanismo de retroalimentación negativa, interactuando con el eje del asa menor en la hipófisis anterior y con el eje de asa mayor y disminuir la liberación adicional de hormonas hipofisiarias(34).

2.2.3.1. Clasificación

Los corticosteroides se categorizan de acuerdo con su duración de acción:(35)

La hidrocortisona y cortisona son parte de aquello de acción corta; prednisona, prednisolona y triamcinolona son de acción intermedia; finalmente betametasona y dexametasona los que tienen acción prolongada.

2.2.3.2. Mecanismos de acción

Los corticosteroides pueden ser: Mineralocorticoides o Glucocorticoides, cada uno se une a receptores específicos que están distribuidos en todo nuestro organismo, estos son MR y los GR respectivamente. Los Corticosteroides presentan mecanismos de acción importantes que se evidencian a través de sus efectos genómicos y no genómicos(36).

Mecanismos genómicos

Transactivación: los corticosteroides por su naturaleza lipofílica atraviesan las membranas plasmáticas para ingresar a la célula. Se unen a receptores citosólicos y forman complejo receptor de corticosteroide-corticosteroide que se transloca al núcleo, dentro del núcleo se une a sitios de ADN específicos regulando el incremento de síntesis de proteínas antiinflamatorias al mismo tiempo se activan genes implicados sobre los efectos secundarios de los corticosteroides(34).

Transrepresión*:* mediante este mecanismo la unión del complejo receptor de corticosteroides- corticosteroide a factores de transcripción como NF-K(Kappa)B evita que estos factores regulen positivamente algunos genes con ello conlleva a la represión de la expresión genética(37).

Se dice que los efectos antiinflamatorios e inmunosupresores de los corticosteroides están regulados principalmente por este mecanismo, a diferencia de los efectos secundarios que están regulados por la transactivación(38).

2.2.3.3. Importancia fisiológica de Glucocorticoides endógenos en el hueso

Los GC intervienen en procesos fisiológicos importantes como diferenciación, proliferación y apoptosis, pero se vuelve perjudicial en concentraciones excesivas(39). De esta manera los GC endógenos cumplen una función a nivel de la osteoblastogénesis, al activar la señalización de Wnt. Los GC al activar la secreción paracrina inducida por Wnt, promueven la diferenciación de las células madre mesenquimales, promoviendo la diferenciación del linaje de osteoblastos y reduce la diferenciación de linaje de adipocitos y condrocitos. Pero los Wnt también actúan en los condrocitos para estimular la degradación del cartílago y contribuir en la osificación intramembranosa y permitir una formación ordenada de hueso(40).

2.3. Definición de términos

Regeneración: proceso por el cual el hueso reestablece su organización ante una lesión traumática

Corticosteroides: Hormonas esteroides naturales sintetizadas en la corteza de la glándula suprarrenal

Dexametasona: antiinflamatorio esteroideo, pertenece a la familia de los AIES.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de Investigación

Experimental

3.2. Diseño de la investigación.

La investigación es de tipo experimental con un diseño prospectivo longitudinal

3.3. Unidad de análisis del estudio.

Ratones Balb/c machos

3.4. Población de estudio.

Conformada por ratones Balb/c machos de 12ss pc de 30 ± 10g, originarios del Instituto Nacional de Salud en el año 2021.

3.5. Tamaño de la muestra del estudio.

Para elegir nuestra muestra se utilizó la fórmula que controla los grados de libertad para análisis de varianza:

mínimo-> n=10/r-1 +1

r=3

máximo-> n=20/r-1 +1

r=3

Donde r: número de repeticiones

Entonces:

Mínimo por grupo: 6x3=18 máximo de grupos: 11x3= 33

La muestra incluyó 144 ratones Balb/c, seleccionados según antecedentes revisados en la literatura y que cumplieron los criterios de inclusión de estudio. Finalmente se designó seis grupos al azar conformado por 24 ratones cada uno:

3.6. Muestra del estudio.

3.6.1 tipo de muestreo

Aleatorio simple

Grupo A: Control

Grupo B: Administración solo Dexametasona (ip)

Grupo C: Administración de Vitamina E por (vo)

Grupo D: Administración de Vitamina E por (ip)

Grupo E: Administración de Dexametasona (ip) + Vitamina E(vo)

Grupo F: Administración de Dexametasona (ip) + Vitamina E(ip)

3.6.2. Criterios de inclusión

Ratones Balb/c machos

Ratones Balb/c de peso 30±10 gramos

Ratones Balb/c que no se han empleado en modelos preclínicos anteriores.

Ratones Balb/c que no presenten signos evidentes de afecciones.

3.6.3. Criterios de exclusión

Ratones Balb/c sin que se ajusten al peso especificado

Ratones Balb/c que hayan sido participes en modelos experimentales antecesores

Ratones Balb/c que muestren indicios perceptibles de padecimiento.

3.7. Recolección de la información.

3.7.1. Drogas utilizadas

Dexametasona: Corticosteroide caracterizado por su potente efecto antiinflamatorio e inmunosupresor. Su modo de acción se fundamenta en la regulación de la expresión genética para disminuir inflamación y suprimir la respuesta inmunológica.

Vitamina E: Antioxidante que desempeña un papel crucial en la protección de células contra el daño causado por los radicales libres. Además de sus propiedades antioxidantes, contribuye a la salud celular y funciones en la regulación genética y señalización celular.

3.7.2. Animales

3.7.2.1 Selección de los animales

En el siguiente estudio participaron 144 ratones Balb/c de 30 ± 10 g, del INS-MINSA, ciudad Lima.

Se eligieron ratones Balb/c, debido a su amplio uso en investigación biomédica por su consistencia genética, respuesta inmunología, compatibilidad con injertos, estudios farmacológicos, entre otros. Además, se cuenta con información de su fisiología y anatomía las cuales pueden ser manipulados sin tener mayores complicaciones.

3.7.2.2 Acondicionamiento de los animales

Los animales se adaptaron por 5 días en el ambiente de trabajo (Bioterio-Facultad Medicina-UNMSM). Fueron alojados en cajas plásticas, cada una con 8 ratones. Las condiciones ambientales incluyeron una temperatura controlada entre 19 y 22ºC, humedad relativa de 40% a 50%, y ciclos alternados de 12 horas de simulan día y noche, comenzando a las 8 de la mañana. Se le abasteció agua y alimento balanceado a libre acceso.

3.7.3. Diseño experimental

En el siguiente estudio participaron 144 ratones macho Balb/c de 30 ± 10 g, que se asignaron de manera aleatoria en 6 grupos, cada uno compuesto por 24 animales.

GRUPO A: Con osteotomía en fémur (OM) + solución de cloruro de sodio 0.9%, a una dosis de 20 ml/kg de peso administrada por vía intraperitoneal cada 24 horas durante un periodo de 3 días.

GRUPO B: Con osteotomía en fémur (OM) + Dexametasona 4mg/ml (dexacort®), a una dosis de 0,6mg/kg/24 horas, intramuscular IM, por 3 días.

GRUPOC: Con osteotomía en fémur (OM) + Vitamina E (EVNol SupraBio TM) a dosis de 60mg/kg por vía Oral, cada 24 horas, durante 7,14,21,30 días.

GRUPO D: Con osteotomía en fémur (OM) + Vitamina E (EVNol SupraBio TM) a dosis de 200mg/kg por vía ip, cada 24 horas, durante 7,14,21 días.

GRUPO E: Con osteotomía en fémur (OM) + Dexametasona 4mg/ml (dexacort®), a una dosis de 0,6mg/kg, cada 24 horas por vía IM durante 3 días. + Vitamina E (EVNol SupraBio TM) a una dosis de 60mg/kg por vía Oral, cada 24 horas, durante 7,14,21 días.

GRUPO F: Con osteotomía en fémur (OM) + Dexametasona 4mg/ml (dexacort®), a una dosis de 0,6mg/kg, cada 24 horas por vía IM durante 3 días. + Vitamina E (EVNol SupraBio TM) a una dosis de 200mg/kg por vía ip, cada 24 horas, durante 7,14,21 días.

3.7.4. Técnica Quirúrgica de inducción de Osteotomía en fémur

Los ratones fueron administrados con dosis única con Amikacina (Amikin® 21g/100ml) 10mg/kg por vía IM como profilaxis antibiótica 20 min antes de la cirugía. Pasados los 20 min se les realizó protocolo de anestesia por vía intraperitoneal con clorhidrato de Ketamina (Ket-A-100®) dosis de 100 mg/Kg de peso corporal) y Xilacina (DORMI-XYL® 2) a dosis de 4 mg/Kg. Posteriormente se procedió con los siguientes pasos(41):

Se depiló el sitio quirúrgico con Tioglicolato de calcio Veet® y se frotó con yodo a nivel de la zona del musculo lateral sobre el fémur derecho.

Se realizó la incisión longitudinal de 10 mm sobre el músculo lateral (Hoja bisturí N15). El tabique intramuscular entre el vasto lateral y los músculos isquiotibiales fueron divididos por disección roma para localizar el fémur, se realizó colgajo a espesor total para exposición de hueso

Para la osteotomía de hueso expuesto, se empleó un instrumento quirúrgico de carburo de tungsteno de 1 mm de diámetro (Maillefer® E123A) durante cinco segundos, utilizando irrigación de solución salina estéril.

Se secó la zona intervenida con gasa estéril y se utilizó hilo de poliglactina 910 numero 5/0 aguja cortante HR 20 (Vicryl™) absorbible.

Se administró Paracetamol (kitadol® comprimido de 500mg) solución 25mg/ml a dosis de 15mg/kg, vía oral, cada 24 horas durante 1 día. posoperatorio.

Se aguardó la recuperación posoperatoria.

Posteriormente se administró los tratamientos correspondientes a cada grupo.

3.7.5. Método de obtención de Muestra de sangre

Las muestras de sangre se obtuvieron a través de una punción cardiaca, recolectando 2ml, mientras que los animales estaban bajo anestesia general con PENTOBARBITAL (HALATAL ®) utilizando dosis de un ml por cada 2,5kg de peso, administrada por vía intraperitoneal, durante las tres semanas posteriores al procedimiento quirúrgico para evaluar los marcadores óseos en suero como Fosfatasa Alcalina y Calcio sérico. Las muestras se recogerán en tubos separadores de suero (SST) y se dejó coagular a temperatura ambiente durante 30 minutos. Una vez obtenida la muestra de sangre, se depositó cuidadosamente en tubos de laboratorio que evite destrucción de lisis de glóbulos rojos, se centrifugó para obtener sangre sin factores de coagulación, y la fosfatasa alcalina se determinó posteriormente mediante un método colorimétrico.

3.7.6. Obtención de muestras de tejido quirúrgico.

Se sacrificaron ocho ratones de cada grupo al día 7, 14 y 21; con 100mg/kg de PENTOBARBITAL (HALATAL®) a 60mg por cada kg por vía Intraperitoneal. Se recolectó los fémures derechos y se limpió del tejido blando, posteriormente los fémures destinados a análisis histomorfométrico se fijaron en formalina tamponada neutral al 10% a 4° durante 48 horas, se lavaron con solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco con Cloruro de Calcio 1mM y cloruro de Magnesio 1mM para evitar la disolución del mineral. y se envió al laboratorio de patología.

3.7.7. Análisis Radiográfico

El proceso de la regeneración del defecto óseo se monitorizó al término del procedimiento quirúrgico, con los animales bajo anestesia general. Cada ratón se colocó decúbito dorsal en una mesa de soporte. El sensor digital del equipo de rayos X (Spectro-70XTM) se colocó debajo del fémur. Además, se controló semanalmente posterior a ser eutanasiados durante la semana 1,2 y 3 mediante un sistema de radiografía digital de alta resolución. Para el análisis radiográfico se usará la exposición de 32kV durante tres segundos.

3.7.8. Análisis anatomopatológico.

Los fémures derechos recolectados en la semana 1, 2 y 3 posterior a ser eutanasiados se enviaron al laboratorio en donde se descalcificaron con ácido etilendiaminotetracetico al 10% a un PH de 7,2 a 7,4. Se preparó secciones longitudinales de parafina y la sección más central de cada fémur se teñirá de color rojo y azul. La histomorfometría se midió en el área del callo, área del cartílago, área de tejido fibrosos y área de hueso.

3.8. Análisis e interpretación de datos.

Para el procesamiento e interpretación de resultados se llevó a cabo utilizando el software STATA versión 17.0 y Restudio, considerando el muestreo aleatorio en todos los casos. Inicialmente, se realizó un análisis descriptivo utilizando medianas, RIQ, medias y desviaciones estándar para resumir variables cuantitativas, mientras

que las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias y porcentajes. Además, se presentaron gráficos y tablas basados en los resultados estadísticos. Los datos se reportaron con un nivel de confianza del 95%. Posteriormente al comparar datos cuantitativos, se llevaron a cabo pruebas de normalidad utilizando prueba Shapiro- Wilk. Posteriormente, para evaluación de las variables se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para aquellas no paramétricas y ANOVA para variables con distribución normal. Se consideró un valor de significancia estadística de $p<0,05$.

CAPITULO IV. RESULTADOS

4.1 Resultados de la evaluación histopatológica.

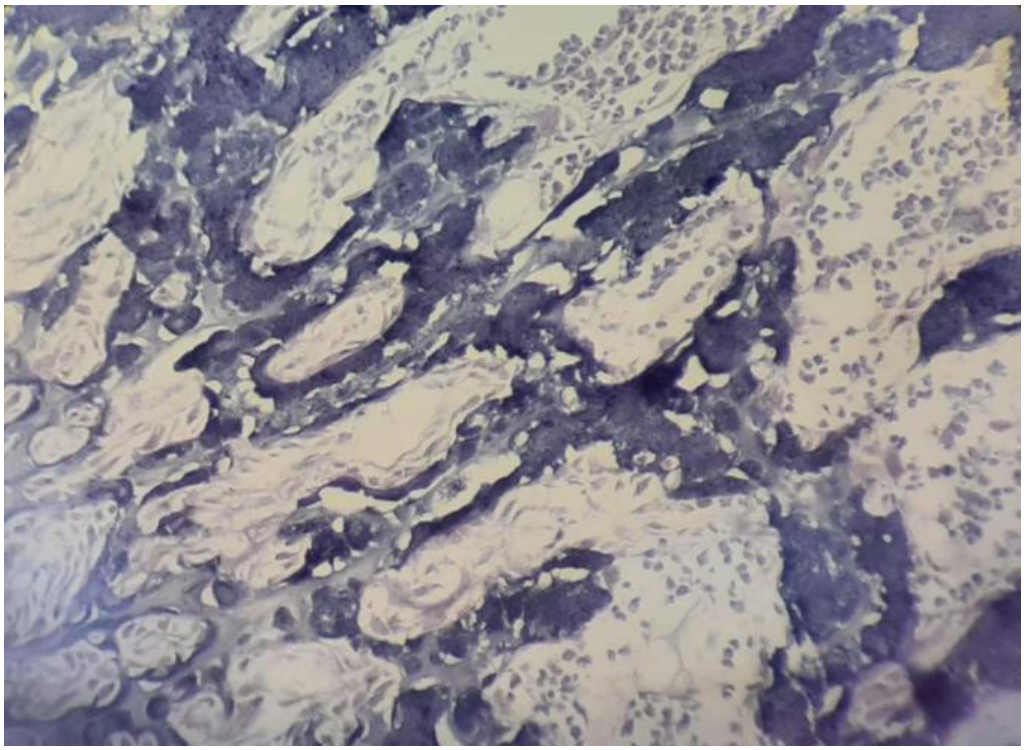


Figura 1. Grupo control a los siete días posterior a la inducción de osteotomía ósea. Microfotografía de tejido óseo de fémur (H&E x400). fémur de ratón Balb/c con osteotomía inducida y administración de cloruro de sodio (ip) cada 24 horas a los siete días.

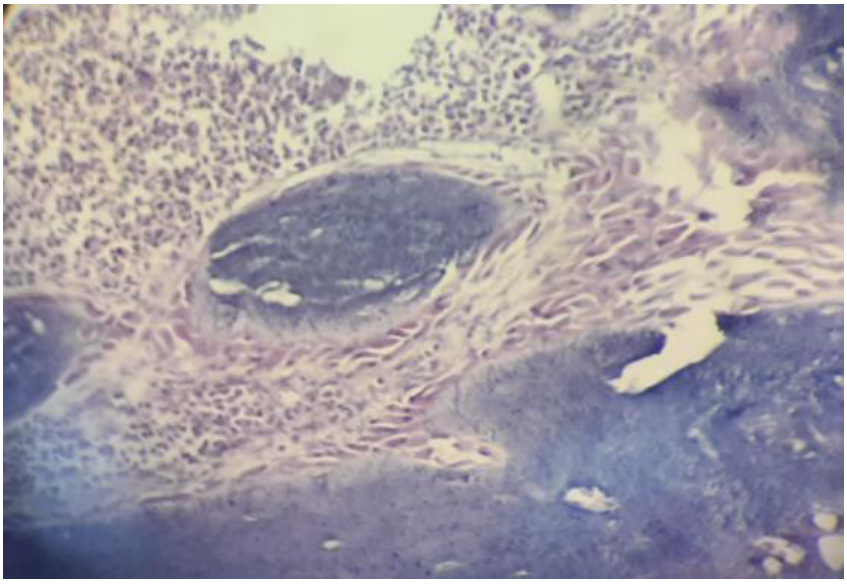


Figura 2. Grupo control a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea Microfotografía de tejido óseo de fémur (H&E x400). Fémur de ratón Balb/c con osteotomía inducida y administración de cloruro de sodio (ip) cada 24 horas a los 14 días.

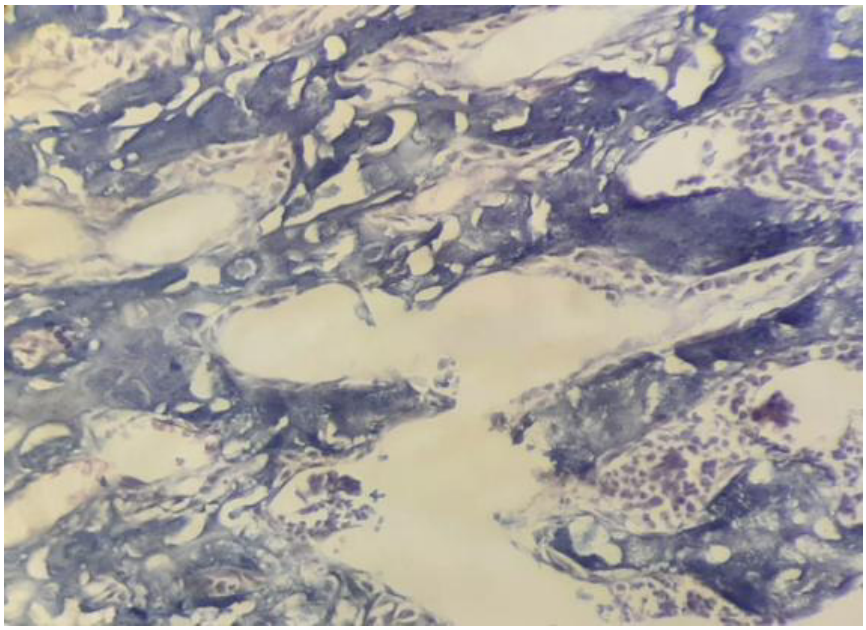


Figura 3. Grupo Dexametasona a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea Microfotografía de tejido óseo de fémur (H&E x400). Fémur de ratón Balb/c con osteotomía inducida y administración de: Dexametasona (im) durante tres días a los 14 días.

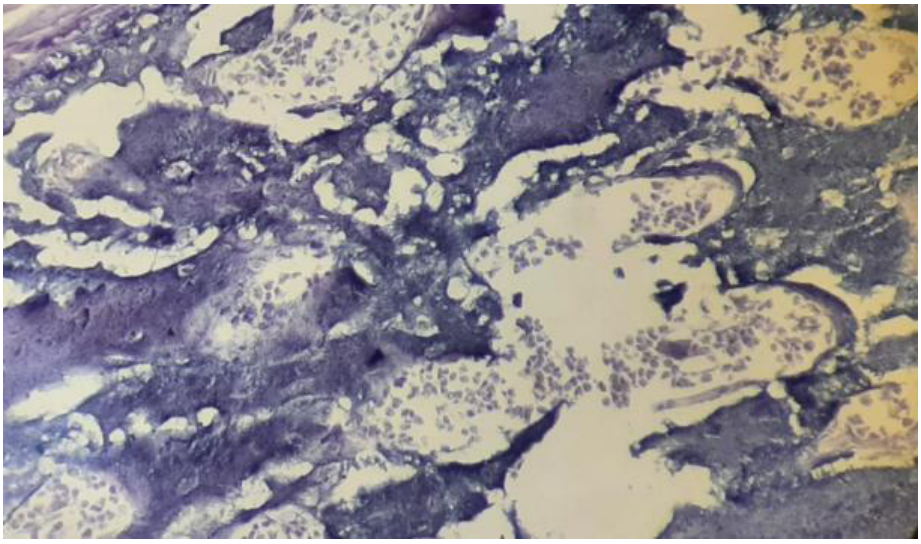


Figura 4. **Grupo Vitamina E vo a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea** Microfotografía de tejido óseo de fémur (H&E x400). Fémur de ratón Balb/c con osteotomía inducida y administración de vitamina E (vo) cada 24 horas a los 14 días.

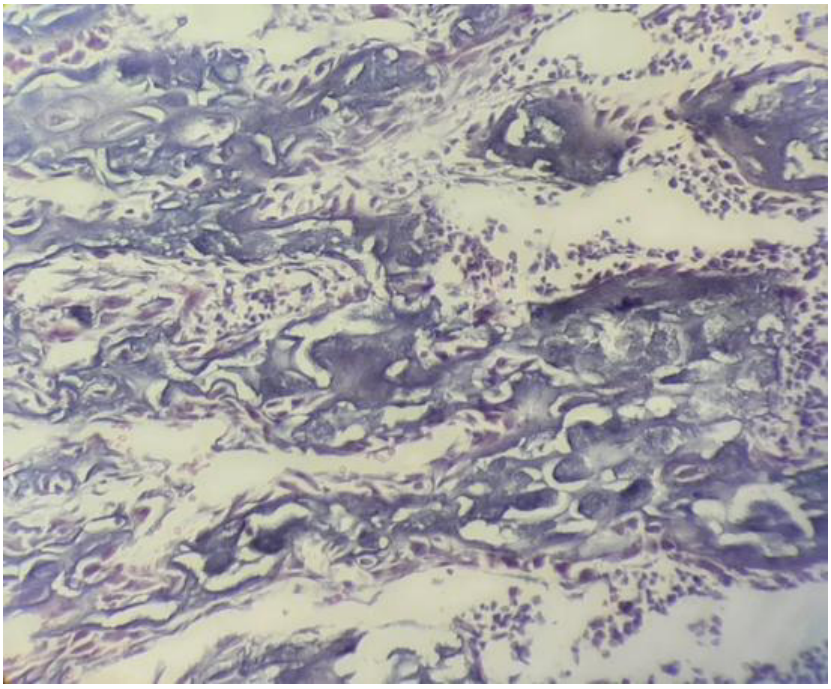


Figura 5. Grupo Vitamina E(ip) a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea Microfotografía de tejido óseo de fémur (H&E x400). Fémur de ratón Balb/c con osteotomía inducida y administración de vitamina E por vía intraperitoneal cada 24 horas a los 14 días.

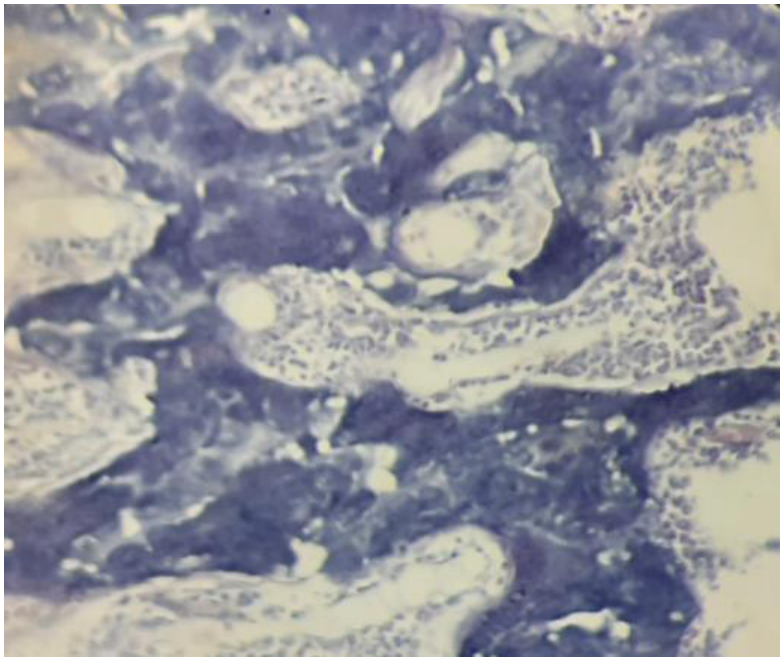


Figura 6. Grupo Vitamina E(ip) a los 21 días posterior a la inducción de osteotomía ósea Microfotografía de tejido óseo de fémur (H&E x400). Fémur de ratón Balb/c con osteotomía inducida y administración de vitamina E (ip) cada 24 horas a los 21 días.

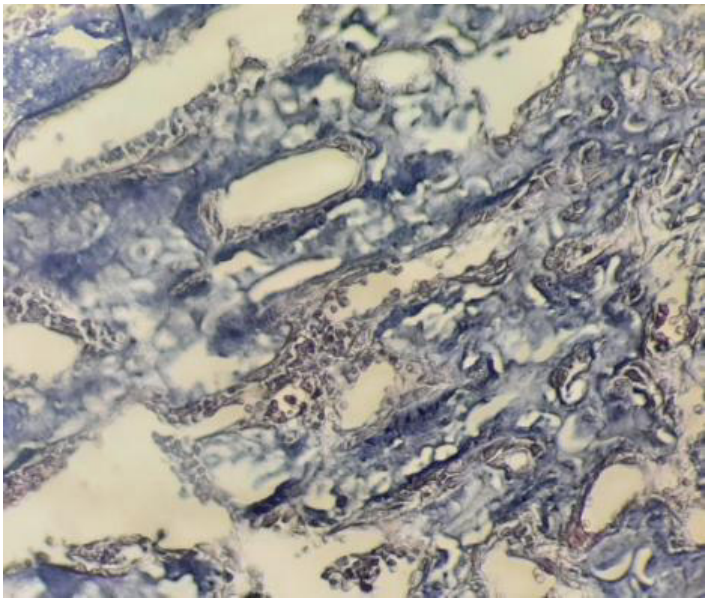


Figura 7. Grupo Dexametasona + Vitamina E(vo) a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea Microfotografía de tejido óseo de fémur (H&E x400). Fémur de ratón Balb/c con osteotomía inducida y administración de: Dexametasona (im) durante tres días y vitamina E por vía oral cada 24 horas a los 14 días.

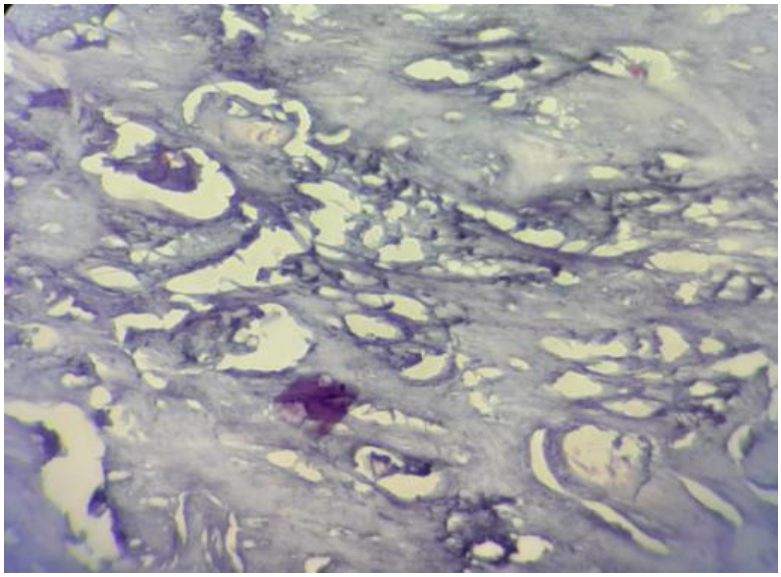


Figura 8. **Grupo Dexametasona + Vitamina E(vo) a los 7 días posterior a la inducción de osteotomía ósea** Microfotografía de tejido óseo de fémur (H&E x400). Fémur de ratón Balb/c con osteotomía inducida y administración de: Dexametasona intramuscular y vitamina E (ip) a los 14 días.

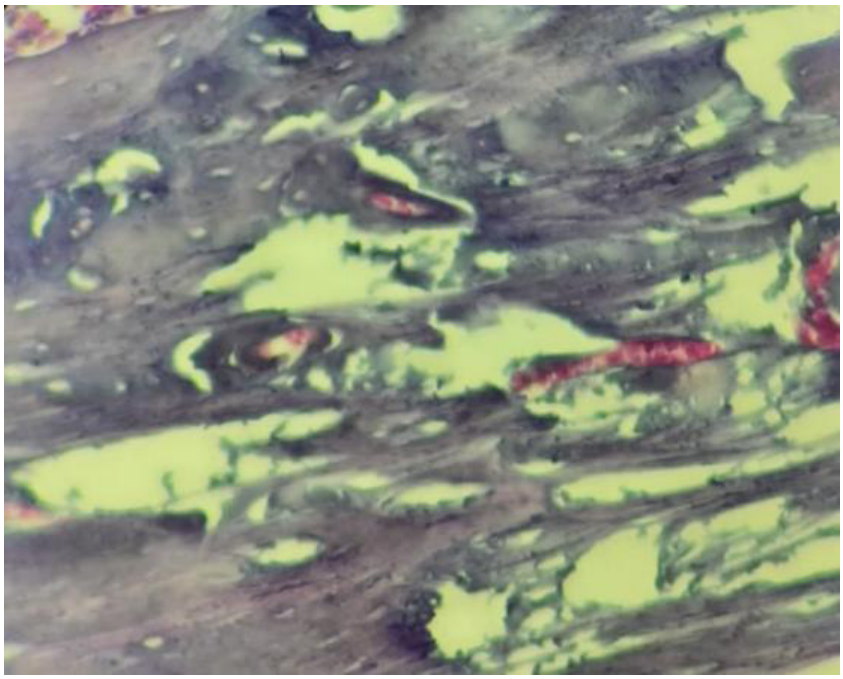


Figura 9. **Grupo Dexametasona + Vitamina E(ip) a los 7 días posterior a la inducción de osteotomía ósea.** Microfotografía de tejido óseo de fémur (H&E x400). Fémur de ratón Balb/c con osteotomía inducida y administración de: Dexametasona intramuscular durante tres días y Vitamina E (ip) a los 14 días.

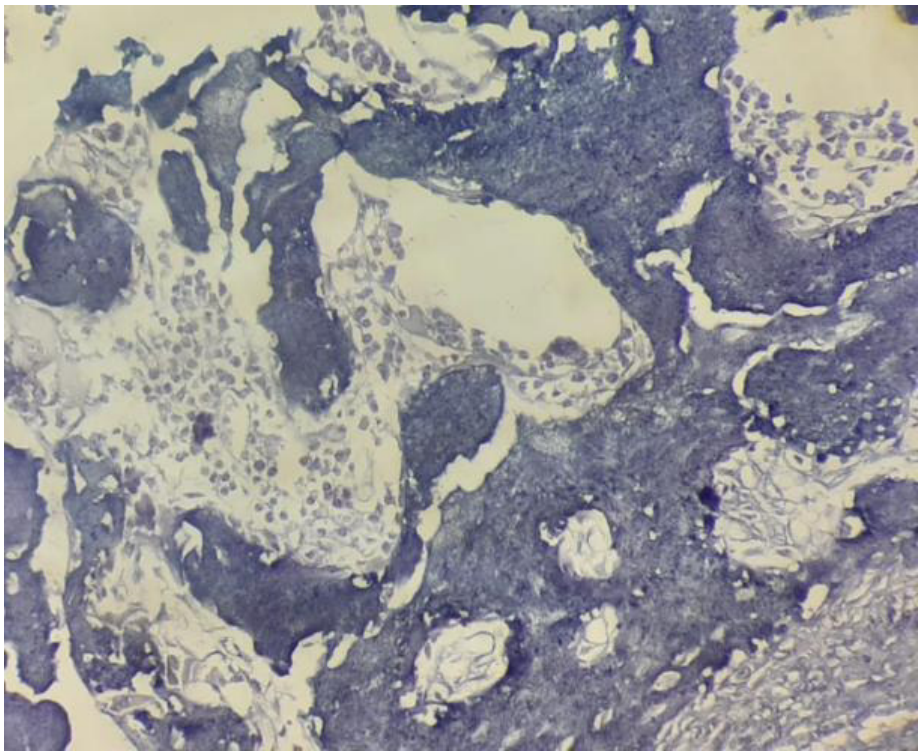


Figura 10. **Grupo Dexametasona + Vitamina E(ip) a los 14 días posterior a la inducción de osteotomía ósea** Microfotografía de tejido óseo de fémur (H&E x400). Fémur de ratón Balb/c con osteotomía inducida y administración de: Dexametasona (im) durante tres días y vitamina E (ip) cada 24 horas a los 14 días.

4.2. Evaluación histopatológica cuantitativa de células osteoprogenitoras.
4.2.1. Prueba de normalidad osteoblastos y osteocitos.

Tabla 1. Prueba de normalidad de células osteoprogenitoras					
Tratamiento	**Células óseas**	**Días**	**Estadístico**	**gl**	**sig**
Control (Cloruro de Sodio 0.9%)	**Osteoblastos**	**7 días**	0,84	8	0,05[a]
		14 días	0,81	8	0,01
		21 días	0,88	8	0,14[c]
	Osteocitos	**7 días**	0,85	8	0,07[d]
		14 días	0,82	8	0,02
		21 días	0,90	8	0,24[f]
Dexametasona (ip)	**Osteoblastos**	**7 días**	0,84	8	0,04[a]
		14 días	0,84	8	0,04
		21 días	0,83	8	0,04
	Osteocitos	**7 días**	0,88	8	0,14[d]
		14 días	0,76	8	0,01
		21 días	0,85	8	0,06[f]
Vitamina E vo	**Osteoblastos**	**7 días**	0,85	8	0,06[a]
		14 días	0,87	8	0,13[b]
		21 días	0,95	8	0,73[c]
	Osteocitos	**7 días**	0,85	8	0,06[d]
		14 días	0,86	8	0,08[e]
		21 días	0,88	8	0,14[f]
Vitamina E ip	**Osteoblastos**	**7 días**	0,84	8	0,05[a]
		14 días	0,88	8	0,16[b]
		21 días	0,87	8	0,11
	Osteocitos	**7 días**	0,92	8	0,39[d]
		14 días	0,87	8	0,11[e]
		21 días	0,96	8	0,81[f]
Dex + Vit E (vo)	**Osteoblastos**	**7 días**	0,89	8	0,21[a]
		14 días	0,89	8	0,21[b]
		21 días	0,86	8	0,08[c]
	Osteocitos	**7 días**	0,89	8	0,17[d]
		14 días	0,76	8	0,01
		21 días	0,93	8	0,54[f]
Dex + Vit E (ip)	**Osteoblastos**	**7 días**	0,87	8	0,10[a]
		14 días	0,79	8	0,01
		21 días	0,89	8	0,17[c]
	Osteocitos	**7 días**	0,93	8	0,53[d]
		14 días	0,88	8	0,15[e]
		21 días	0,89	8	0,16[f]

Shapiro Wilk (a,b,c,d,e,f : p>0.05)

4.2.2. Osteoblastos

En la evaluación de osteoblastos, se observó que el grupo tratado con cloruro de sodio al 0.9% presentó un recuento de osteocitos relativamente alto con una mediana de 44,00 (42,25-51,75) células/campo a los siete días, el grupo que recibió vitamina E (ip) tuvo una mayor cantidad con 53(50,25-56) células/campo a los 14 días y el grupo que recibió cloruro de sodio 0.9%(ip) obtuvo una mediana de 51(48,00-56,00) células/campo a los 21 días. (Tabla 2)

Tabla 2. Conteo de osteoblastos posterior a la intervención quirúrgica en fémur a los 7,14,21 días

tratamiento	7 días (cel/campo)		14 días (cel/campo)		21 días (cel/campo)	
	Med(RI)	p*	Med(RI)	p**	Med(RI)	p***
1.Control (Cloruro de Sodio 0.9%)	44 (42,25-51,75)	0,001	52.50(49 - 54,50)	0,001	51(48-56)	0,001
2. Dexametasona (ip)	12 (11-13,75)[a]		29 (25-40)[a]		22(20,25-25,25)[a]	
3. Vitamina E (vo)	40 (39-40)[a,b]		37(34-40)[a]		37,50(35 - 41,75)[a,b]	
4. Vitamina E (ip)	39(38-39,75)[a,b]		53(50,25-56)[b,c]		37(35,25-38)[a,b]	
5. Dex + Vit E (vo)	41,5(39 -45)[b]		45,50(43,50-48,25)[a,b,c,d]		40 (39-43) [b,d]	
6. Dex + Vit E (ip)	38(36,25-41,25)[a,b]		40(39-41)[a,d,e]		37.50(36,25-38)[a,b]	

Kruskal Wallis (*p<0,05; **:p<0,05; *** p<0,05); holm(p<0,05), comparando Cloruro sodio (a:p<0,05), comparado Dexametasona(ip) (b:p<0,05), comparado con Vitamina E(vo) (c: p<0.05), comparado con vitamina E(ip) (d: p<0.05), comparado con Dex + Vit E(vo) (e: p<0.05)

Al realizar el análisis *post hoc*, en el día siete se encontró que los grupos que se administró vitamina E (vo), el grupo que recibió vitamina E (ip) y el grupo tratado con dexametasona

junto con vitamina E evidenció niveles elevados en el recuento de osteoblastos comparado con el aquellos que se administró cloruro de sodio 0.9%, y el grupo dexametasona($p<0,001$). El grupo que recibió dexametasona presentó menor recuento de osteoblastos en comparación con los otros tratamientos($p<0,001$).

A los 14 días el grupo que recibió vitamina E (ip) presentó valores más elevados de osteoblastos en comparación con el grupo que recibió Vitamina E (vo) sola y dexametasona(ip) ($p<0,001$). El grupo que recibió dexametasona con vitamina E (vo) presentó mayor recuento de osteoblastos en comparación con los grupos que recibieron cloruro de sodio 0.9%, dexametasona (ip), vitamina E (vo), vitamina E (ip) ($p<0.001$)

A los 21 días se encontró que el grupo que recibió cloruro de sodio 0.9% presentó mayor recuento de osteoblastos en comparación con los demás grupos ($p<0,001$). Asimismo, aquellos con administración de dexametasona asociado con vitamina E (ip) mostró niveles más elevados comparado con el grupo que solo recibió dexametasona (ip) y aquel que recibió vitamina E por vía intraperitoneal (ip) ($p<0,001$). Por otro lado, el grupo tratado con dexametasona (ip) presentó el recuento más bajo en comparación con los demás grupos ($p<0,001$).

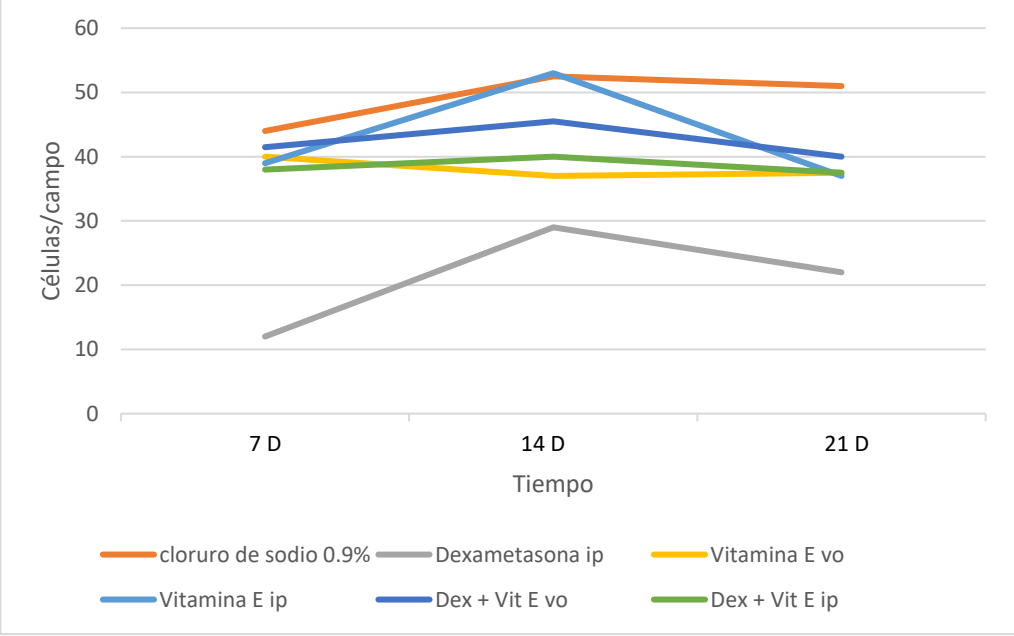


Figura 11. Recuento de osteoblastos según grupo de tratamiento a los 7, 14 y 21 días.

4.2.3. Osteocitos.

En la evaluación de osteocitos a los siete días se encontró que el grupo que recibió cloruro de sodio tuvo mayor cantidad con una mediana 34,5(32 -35) células/campo, seguido del grupo que recibió vitamina E (vo) con una mediana de 22 (20,25-24,50). A los 14 días el grupo que recibió cloruro de sodio 0,9% tuvo recuento elevado con una mediana de 31,50(29-32,75) células por campo, seguido del grupo que recibió vitamina E (vo) con una mediana de 28.50(27.25-29.00) células por campo. A los 21 días se obtuvo un recuento mayor en el grupo que recibió cloruro de sodio con una mediana de 32,50(31-33) células/campo, seguido del grupo que recibió Dexametasona con vitamina E (ip) con una mediana de 32 (30-33,50). (Tabla 3)

Tabla 3. Conteo de osteocitos posterior a la intervención en fémur a los 7,14,21 días

tratamiento	7 días (cel/campo)		14 días (cel/campo)		21 días (cel/campo)	
	Med(RI)	p*	Med(RI)	p**	Med(RI)	p***
1. control (Cloruro de Sodio 0.9%)	34,5(32-35)	0,001	31,50(29-32,75)	0,001	32.50(31-33)	0,001
2. Dexametasona (ip)	10,50(9-12,75)[f]		4,50(3,25-8,75)[f]		18 (16,25-20,50)[f]	
3. Vitamina E (vo)	31,50(29-32)[g]		28,50(27,25-29)[g]		32 (30-34,75)[g]	
4. Vitamina E (ip)	22(20,25-24,50)[f,g,h]		20,50(20-21,75)[f,g,h]		26,50(24,25-28,75)[f,g,h]	
5. Dex + Vit E (vo)	27(23,25-27,75)[f,g,h]		27 (25,25-32,50)[g,i]		30(29,25-32,50)[g]	
6. Dex + Vit E (ip)	27(25,50-29)[f,g,i]		24,50(23-27,25)[f,g]		32(30-33.50)[g,i]	

Kruskal Wallis (*p<0.05; **:p<0.05; *** p<0.05); holm(p<0.05), comparando cloruro sodio (f:p<0.05), comparado dexametasona (g:p<0.05), comparado con vitamina E vo

(h:p<0.05), comparado con vitamina E ip(i: p<0.05), comparado con Dex + Vit E vo(j: p<0.05)

En el análisis post hoc, en el día siete se encontró que el grupo vitamina E (vo) obtuvo recuento con niveles mayores comparado con dexametasona(p<0,001). El grupo tratado con dexametasona asociado a vitamina E (vo) presentó niveles más elevados que aquellos que se les administró Vitamina E (ip) y dexametasona (ip) (p<0,001). El grupo que recibió dexametasona (ip) presenta recuentos más bajos de osteocitos, significativamente inferiores en comparación con los demás grupos (p<0,001).

En el día 14 el grupo que recibió Vitamina E (vo) presentó un recuento significativamente mayor comparado con el grupo que se le administró vitamina E(ip) y el grupo Dexametasona ip (p<0,001). Aquellos que fueron tratados con Dexametasona asociado con vitamina E (vo) tuvo un recuento significativamente mayor de osteocitos comparado con aquellos que recibieron Dexametasona y el grupo Vitamina E (ip). El grupo que recibió dexametasona con vitamina E (ip) presentó niveles más elevados comparado con el grupo que se le administró dexametasona(p<0,001).

En el día 21 el grupo con un recuento significativamente mayor de osteocitos fue el grupo Dexametasona con vitamina E (ip) comparado con vitamina E (ip) y el grupo Dexametasona (p<0,001). El grupo que recibió vitamina E (vo) presentó niveles elevados comparado con el grupo Dexametasona (ip) (p<0,001). El grupo que recibió Dexametasona junto con vitamina E (vo) mostró un recuento significativamente mayor en comparación con el grupo que recibió solo dexametasona.

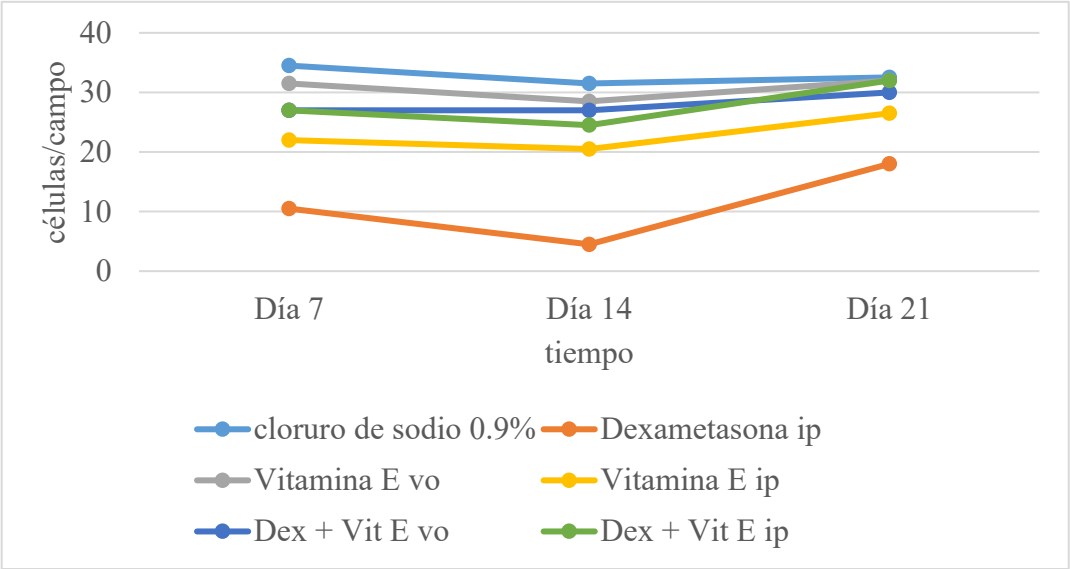


Figura 12. Recuento de osteocitos según grupo de tratamiento a los 7, 14 y 21 días.

4.3. Evaluación histopatológica cuantitativa de trabéculas óseas.

Se muestra la formación de trabéculas óseas en el fémur posterior a la osteotomía a los siete, 14 y 21 días en los diferentes grupos experimentales. A los siete días se observó un 50% de trabéculas escasas y un 50% de trabéculas moderadas en el grupo que recibió dexametasona con vitamina E (vo). También se observó un 70% de trabéculas escasas y 30% de trabéculas moderadas en el grupo que se administró dexametasona (ip); en el grupo que recibió vitamina E (vo) presentó 70% de trabéculas moderadas y 30% de trabéculas óseas abundantes (tabla. 4).

A los 14 días se observó que el grupo que recibió vitamina E (ip) obtuvo 70% de trabéculas moderadas y 30% abundantes; en el grupo que recibió dexametasona con vitamina E(ip) presentó 50% de trabéculas óseas escasas y 50% moderadas(tabla.4).

A los 21 días se observó que el grupo que recibió vitamina E (vo) presentó 30% de trabéculas óseas moderado y 70% de trabéculas óseas abundantes; el grupo que recibió dexametasona presentó 50% de trabéculas óseas escasas y 50% de trabéculas óseas moderado; el grupo que recibió dexametasona con vitamina E(vo) presentó 90% de trabéculas óseas abundantes (tabla 4).

Tabla 4. trabéculas óseas posterior a la osteotomía en fémur a los 7,14,21 días.

Grupos	Niveles de trabéculas óseas	7 días N(%)	14 días	21 días
control (Cloruro de Sodio 0.9%)	Escaso(+)	0	0	0
	Moderado(++)	4(40)	3(30)	5(50)
	Abundante (+++)	6(60)	7(70)	5(50)
Dexametasona (ip)	Escaso(+)	7(70)	10(10)	5(50)
	Moderado(++)	3(30)	0	5(50)
	Abundante (+++)	0	0	0
Vitamina E (vo)	Escaso(+)	0	0	0
	Moderado(++)	7(70)	5(50)	3(30)
	Abundante (+++)	3(30)	5(50)	7(70)
Vitamina E (ip)	Escaso(+)		0	0
	Moderado(++)	7(70)	3(30)	7(70)
	Abundante (+++)	3(30)	7(70)	3(30)
Dex + Vit E (vo)	Escaso(+)		0	0
	Moderado(++)	6(50)	2(20)	1(10)
	Abundante (+++)	4(50)	8(80)	9(90)
Dex + Vit E (ip)	Escaso(+)	0	0	0
	Moderado(++)	8(80)	5(50)	7(70)
	Abundante (+++)	2(20)	5(50	3(30)

4.4. Resultados de la evaluación bioquímica.

4.4.1. Valores de fosfatasa alcalina (FAS).

Al evaluar los valores de fosfatasa alcalina al día 7 se encontró valores más elevados en el grupo que recibió cloruro de sodio obtuvo una media 225.7±51.66(n=10). A los 14 días se encontró niveles elevado en el grupo que recibió dexametasona con una media de 224±8.41(n=10). Posteriormente a los 21 días el grupo que obtuvo niveles más elevados fue el grupo que recibió cloruro de sodio con una media 218.2±15.62(n=10) seguido del grupo que recibió vitamina E vo con una media de 188.6±30.13(n=10). (tabla 5)

Tabla 5. Valores de FAS después de la intervención en fémur a los 7,14,21 días

Tratamiento	7 días (U/L)		14 días (U/L)		21 días (U/L)	
	X±DE	p*	X±DE	p**	X±DE	p***
control (cloruro de sodio 0.9%)	225,7±51,66	0,3059	160,8±23,42[b]	0,0007	218,2±15,62	0,0000
Dexametasona (ip)	201,4±1,65		224±8,41[a]		181,4±35,41	
Vitamina E (vo)	208,8±57,69		176,8±46,14[b]		188,6±30,13	
Vitamina E (ip)	218,2±84,03		182,8±19,15		162,2±21,44[a]	
Dex + Vit E (vo)	217,7±78,63		173,1±19,71[b]		203±36,85	
Dex + Vit E (ip)	169,8±16,53		180,4±44,72[b]		145,6±19,28[acd]	

ANOVA (*,**,***:$p<0.05$), Bonferroni($p<0.05$); comparando con Cloruro de Sodio(a:$p<0.05$), comparado con Dex (ip) (b:$p<0.05$), comparado con vit E (vo) (c: $p<0.05$), comparando Dex + vitE (ip)(d:$p<0.05$).

Al realizar el análisis post hoc, en el día 14 se encontró que el grupo que recibió cloruro de sodio presentó menores niveles comparado con el grupo dexametasona esta diferencia fue estadísticamente significativa($p<0.05$). Asi mismo, el grupo que recibió dexametasona (ip) tuvo niveles más elevados comparado con los grupos que recibieron dexametasona con vitamina E (vo) y Dexametasona con vitamina E(ip) siendo esta diferencia estadísticamente significativa($p<0,05$).

En la evaluación a los 21 días se evidencia que el grupo que recibió cloruro de sodio presenta niveles más elevados comparado con el grupo que recibió Vitamina E (ip) y la asociación de Dexametasona con Vitamina E (ip) esta diferencia fue estadísticamente significativa

(p<0,05); los grupos que recibieron solo Vitamina E (ip) tuvo valores más elevados en comparación con el grupo que tratado con dexametasona junto con vitamina E (ip) esta diferencia fue estadísticamente significativo (p<0,05). Finalmente, aquellos que recibieron Vitamina E (vo) con dexametasona comparado con el grupo que recibió Vitamina E(ip) con Dexametasona mostraron diferencia estadísticamente significativa(p<0,05)

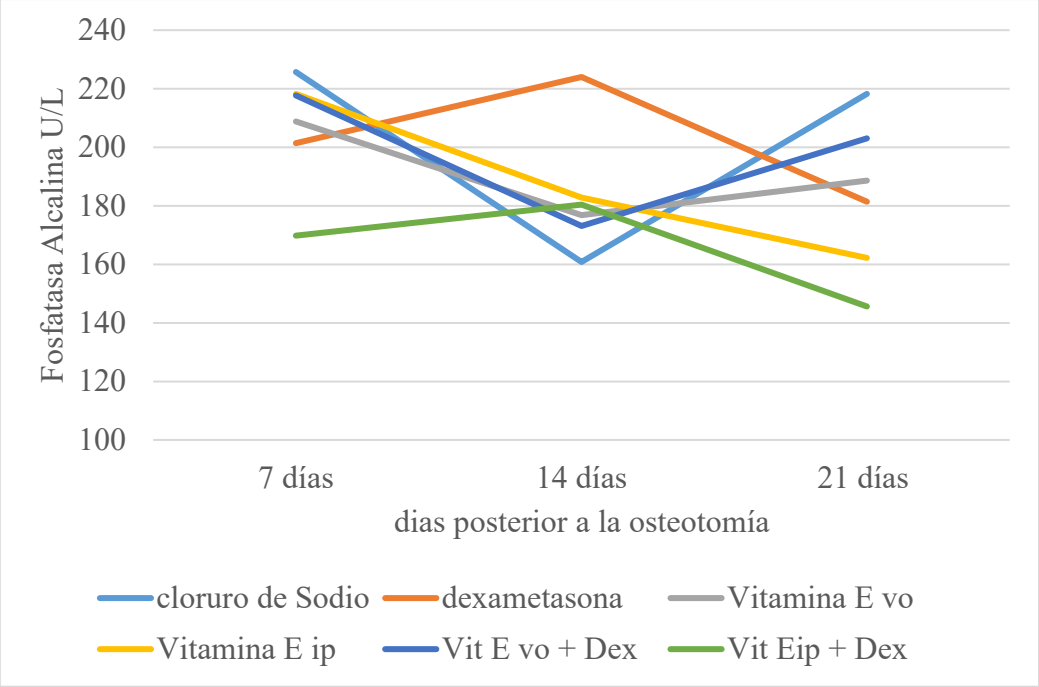


Figura 13. Comparación de Fosfatasa Alcalina los días 7, 14 y 21 en los grupos intervenidos.

4.4.2. Niveles de Calcio sérico.

En la evaluación de calcio sérico se encontró que en el día siete los niveles más elevados lo obtuvieron el grupo que se administró dexametasona con vitamina E(ip) con una media 10,85±0,44, a los 14 días que obtuvo mayor nivel fue el grupo que recibió dexametasona (ip) con una media de 10,54±0,45 y también el grupo dexametasona con vitamina E (vo) con una media de 10,54±0,21. A los 21 día el grupo que recibió dexametasona (ip) obtuvo una media de 12,1±0,53. (Tabla 6).

Tabla 6. Niveles de Calcio posterior a la intervención en fémur a los 7,14,21 días

Tratamiento	7 días (mg/dL)		14 días (mg/dL)		21 días (mg/dL)	
	X±DE	p*	X±DE	p*	X±DE	p*
control (cloruro de sodio 0.9%)	9,33±0,59	0,0000	9,9±0,25	0,0000	11±0,46	0,0005
Dexametasona (ip)	9,56±0,28		10,54±0,45		12,1±0,53	
Vitamina E (vo)	10,08±0,59		10,14±0,55		10,71±0,40[b]	
Vitamina E (ip)	10,41±0,55[a]		11,18±0,79[ad]		11,48±0,94	
Dex + Vit E (vo)	10,02±0,63[c]		10,54±0,21		10,86±0,83[b]	
Dex + Vit E (ip)	10,85±0,44[ab]		9,66±0,42[bce]		10,78±1,03[b]	

Prueba ANOVA ($p<0.05$), Bonferroni($p<0.05$); confrontado con control (a:$p<0.05$), confrontado con Dex(b:$p<0.05$), comparado con Dex + VitE (vo) (c:$p<0.05$), comparado con Vit E (vo)(d:$p<0.05$), comparado con Vit E (ip)(e:$p<0.05$).

De acuerdo con la evaluación realizada el día 7, 14 y 21 para conocer los niveles de calcio sérico en los grupos en estudio se evidenció una diferencia entre los grupos ($p<0,05$). al realizar el análisis *post hoc*, en el día 7 los grupos que recibieron cloruro de sodio comparado con el grupo que recibió vitamina E sola (ip) ($p<0,05$). Así mismo el grupo tratado con dexametasona junto con Vitamina E ip mostró valores más elevados comparados con los que se les administró cloruro de sodio y los que se les trató con dexametasona, esta diferencia fue estadísticamente significativa($p<0.05$); al comparar el grupo que se administró vitamina E (vo) con el grupo que recibió vitamina E ip mostró diferencias significativas($p<0,05$).

En el día 14 también se evidenció que el grupo al que se administró cloruro de sodio tuvo menores valores comparado con vitamina E (ip) ($p<0,05$); los ratones que recibieron solo dexametasona presentó diferencias significativas comparado con la asociación de dexametasona con vitamina E (ip) ($p<0.05$); el grupo que recibió vitamina E (vo) mostró diferencia significativa al compararlo con los que se les aplicó vitamina E (ip) ($p<0,05$); el grupo que recibió vitamina E (ip) mostró diferencias significativas en relación al grupo que recibió asociación de Dexametasona con Vitamina E ($p<0,05$) y el grupo tratado con dexametasona junto con vitamina E (vo) mostró diferencias significativas al compararlo con los que recibieron la asociación de dexametasona con vitamina E (ip) ($p<0,05$).

En el día 21 se observa que el grupo que fue tratado con dexametasona junto con vitamina E(vo) obtuvo valores más elevados comparado con el grupo dexametasona (ip) esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p<0,05$). Asi mismo el grupo que recibió vitamina E presentó menores niveles comparado con el grupo Dexametasona(ip) esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p<0,05$).

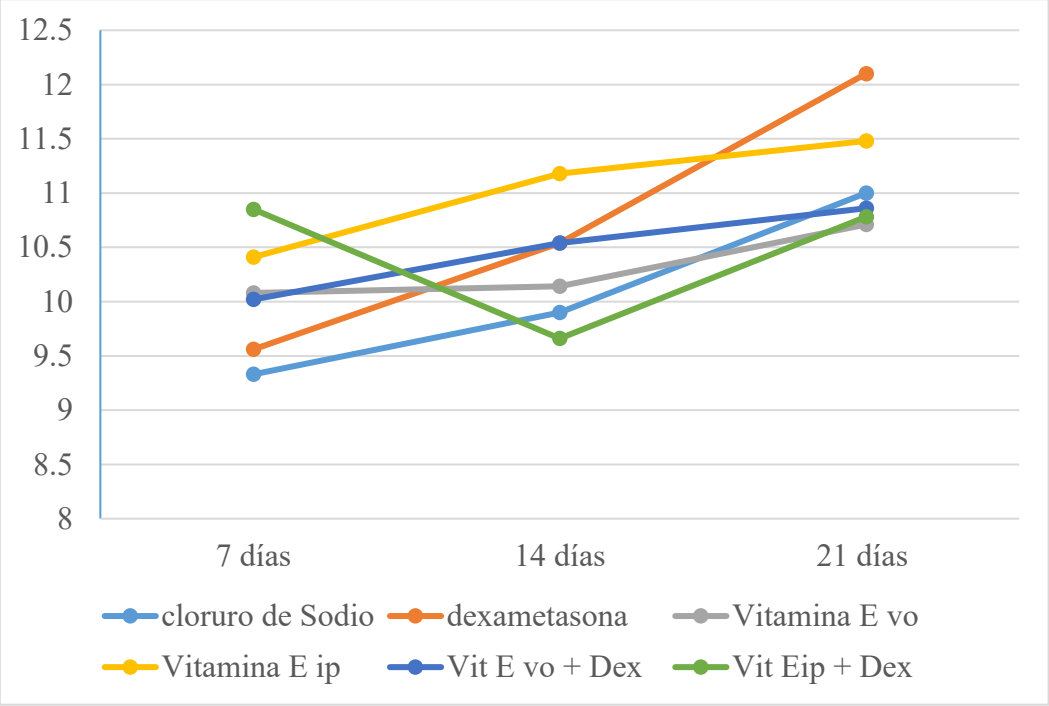


Figura 14. Comparación de los Niveles de Calcio Sérico los días 7, 14 y 21.

4.5. Resultados de la evaluación Radiológica.

Imágenes radiológicas de fémur posterior a osteotomía y administración de la intervención de acuerdo con los grupos experimentales a los 7,14y 21 días

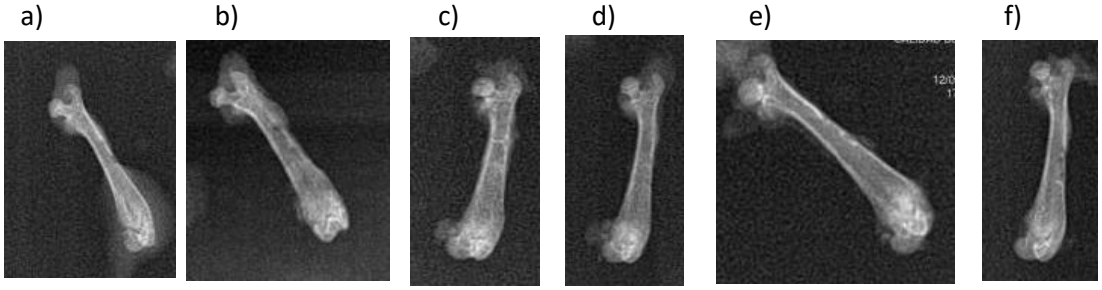


Fig 15. Radiografía de los grupos de intervención posterior a la inducción de osteotomía 7 días.

a: control; b:dex ip; c:vit E vo; d:vitE ip; e: Dex+Vit Evo; f: Dex+VitE ip.

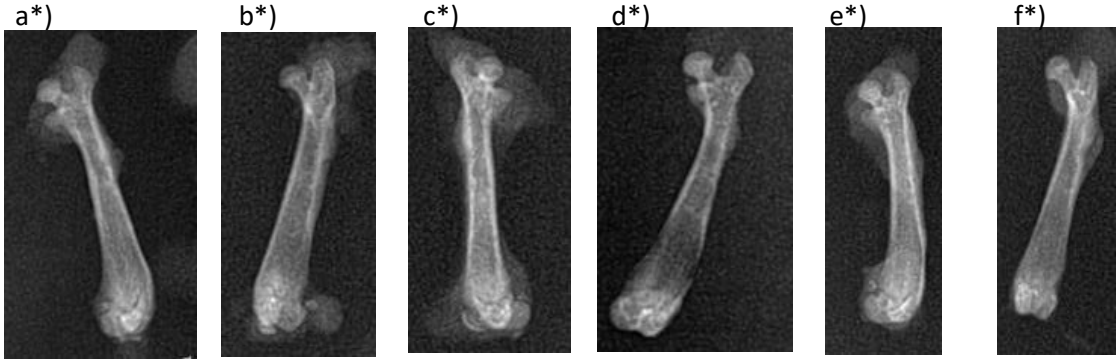


Fig 16. Radiografía de los grupos de intervención posterior a la inducción de osteotomía 14 días.

a*: control; b*:dex ip; c*:vite vo; d*:vitE ip; e*: Dex+Vit Evo; f*: Dex+VitE ip.

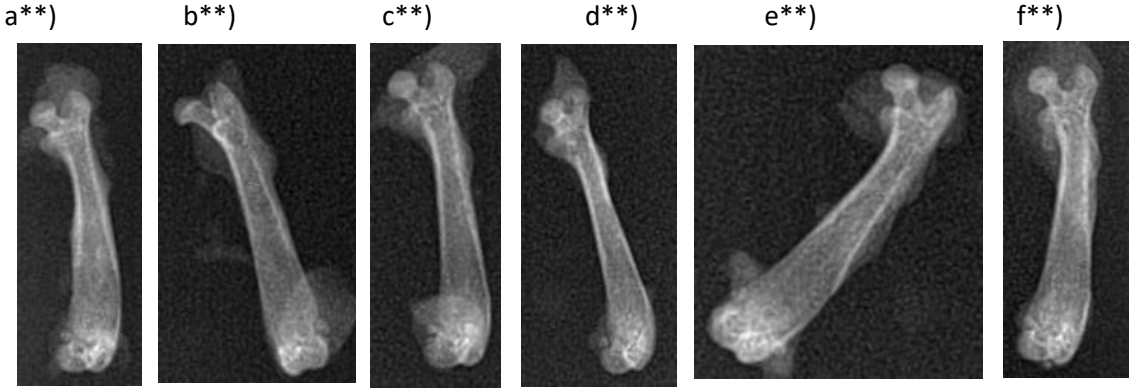


Fig 17. Radiografía de los grupos de intervención posterior a la inducción de osteotomía 21 días.

a**: control; b**:dex ip; c**:vite vo; d**:vitE ip; e**: Dex+Vit Evo; f**: Dex+VitE ip.

CAPITULO V. DISCUSIÓN.

La presente investigación se realizó para determinar el efecto de asociar dexametasona con vitamina E en la regeneración ósea utilizando un modelo de osteotomía inducido en ratones. Los hallazgos sugieren efectos significativos de la asociación de los fármacos estudiados, por lo que podría tener efectos beneficiosos.

La regeneración ósea es proceso que ocurre tras el daño del tejido óseo, esta es una característica distintiva del hueso, ya que la reparación se realiza sin dejar cicatriz. No obstante, diversos factores pueden obstaculizar a que se desarrolle el proceso de manera ideal, entre los principales factores se encuentran patologías óseas, algunos medicamentos, procesos traumáticos, cirugías de resección tumoral. Por otro lado, hay estrategias que buscan que se de este proceso de manera normal y que se llegue a su consolidación y posterior remodelación constante de manera fisiológica. Actualmente, existen pocas investigaciones que evalúen la asociación de vitamina E con dexametasona sobre la reparación ósea en modelos preclínicos y clínicos. En el presente estudio evaluó las propiedades de la vitamina E asociado a Dexametasona a nivel del tejido óseo, por lo tanto, se realizó evaluaciones histológicas bioquímicas y radiológicas que nos han facilitado la determinación del efecto de la asociación de la vitamina E con Dexametasona en el proceso de regeneración ósea.

En el análisis histopatológico al día siete, el grupo dexametasona con vitamina E (vo) mostró una mayor cantidad de osteoblastos en comparación con el grupo tratado solo con dexametasona($p<0.05$), así mismo se evidenció que el grupo que se administró dexametasona presentó menores niveles de osteoblastos comparado con los demás grupos (tabla 2.). En el día 14, el grupo que se administró vitamina E (ip) obtuvo los mejores resultados en comparación con los demás grupos, de la misma manera, la dexametasona con vitamina E (vo) obtuvo mayores valores comparado con los demás grupos siendo una diferencia significativa($p<0,05$) (tabla 2.). En el día 21 los tratados con dexametasona junto con vitamina E (vía oral) mostró niveles más elevados comparado con los grupos que recibieron solo vitamina E($p<0,05$)(tabla 2.). Estudios como los Akcay H y col. reportaron que la administración de tocoferol 200mg/kg por vía intraperitoneal resultó en un aumento significativo de osteoblastos, osteoclastos, numero de vasos sanguíneos y formación ósea en contrastación con el control, lo cual implicaría una mayor regeneración ósea.(11) Por otro

lado, Liu y col, exponen resultados similares a nuestro estudio cuando exploraron la lesión osteoblástica inducida por dexametasona y encontraron que 24 horas de tratamiento con 1 y 10umol/L de dexametasona regula significativamente la expresión de proteínas relacionadas con la autofagia como Beclin-1 y LC3($p>0,05$).(42), lo cual podría explicar los bajos niveles de células osteoprogenitoras en los grupos que se les administró dexametasona.

En cuento al conteo de osteocitos al día 7, el grupo tratado con dexametasona presentó los niveles más bajos en comparación con los demás grupos ($p<0,05$); sin embargo, el grupo que se administró solo vitamina E presentó los niveles más elevados en comparación con la asociación de dexametasona y Vitamina E (vo) (tabla 3.). En el día 21, dexametasona asociada con vitamina E (ip) presentó niveles más elevados comparado con el grupo que se administró dexametasona($p<0,05$) (tabla 3.). En un estudio realizado por Seo y Col, reportaron mayor viabilidad de osteocitos en los grupos que recibieron tocoferol lo cual podría incrementar la viabilidad ósea.(43) Estos resultados son similares con nuestros resultados experimentales los cuales indican que existe beneficio en la asociación de dexametasona con vitamina E en cuanto a los niveles de osteocitos.

Al analizar trabéculas óseas al día 7, se obtuvo mejores resultados al asociar dexametasona con Vitamina E (vía intraperitoneal) en comparación con el grupo tratado con dexametasona. En el día 14, se observó que dexametasona junto con vitamina E (vía oral) presentó abundantes trabéculas óseas en comparación con solo dexametasona (tabla 4.). En el día 21, se evidenció un mayor porcentaje de trabéculas óseas abundantes en aquellos pertenecientes a dexametasona con vitamina E (vo) en comparación con los demás grupos. (tabla 4.). De acuerdo con los estudios realizados por Zhoy M y col, reportaron que la intervención con dexametasona resultó en trabéculas escasas y desordenadas, con un aumento de lagunas óseas vacías.(44) Asi mismo, un grupo que recibió tocoferol asociado a pentoxifilina tuvo mayor cantidad de trabéculas óseas lo que indica que el hueso estaría relativamente consolidado.(43)

Se conoce que los radicales libres suprimen la diferenciación de osteoblastos(45) y con ello benefician el proceso de resorción ósea activando células como osteoclastos.(46) Por lo que se considera que el estrés oxidativo provoca un desequilibrio en el proceso de formación ósea. un estudio reportó que alfa-tocoferol obtuvo resultados favorables sobre la calidad de

formación de hueso nuevo en modelos de distracción osteogénica.(47) también existe estudios que reportan un menor tiempo de reparación de tejido óseo.(47,48)

Las concentraciones séricas de fosfatasa alcalina (ALP) no presentaron diferencias significativas entre los grupos al 7mo día, pero si se observó diferencias a los 14 y 21 días. **(tabla 5)** El grupo de dexametasona presentó niveles bajos de ALP en los primeros 7 días, pero alcanzó el nivel más alto al día 15**(Figura 13.)**. Esto podría ocurrir debido a los efectos de la dexametasona, que induce un aumento ALP en sangre y no en tejido osteoide ayudando a la mineralización del tejido. Por ello Conocer los niveles de fosfatasa alcalina se ha considerado uno de los posibles parámetros para poder conocer en qué momento podría estar afectándose el proceso de regeneración del tejido óseo. Como nos menciona Miao y col en el 2002(49) mediante su estudio preclínico evidenció la actividad de la fosfatasa alcalina a nivel del tejido óseo principalmente en hueso y cartílago de roedores, indicando que en zonas de formación de nuevo hueso se identifica alta actividad de fosfatasa alcalina a nivel osteoide. Liu Y et al(50) mostraron resultados comparables al realizar un estudio preclínico en ratas Sprague Dawley a las cuales se les administró dexametasona durante 12 semanas reportaron que encontraron los niveles elevados de ALP (24,5 +-21,2 ukg/100mL) comparado con el grupo control.

Los hallazgos del análisis de calcio sérico del grupo que fue tratado con Dexametasona asociado con vitamina E son diferentes comparado con el grupo que recibió solo dexametasona a los 7, 14 y 21 días **(tabla 6)**. Los niveles de Calcio elevados podrían estar relacionado con la actividad de los osteoclastos(51), debido a que el incremento de osteoclastos promueve la reabsorción ósea y reduce los minerales en tejido óseo, conllevando al incremento de calcio y fosforo en sangre y no en el tejido óseo. El calcio y fosforo son minerales importantes en nuestro organismo, específicamente en el tejido óseo, pero se va a ver alterado enfermedades óseas como osteoporosis que tienen alta incidencia de hipercalciuria.(52) Liu Y et al. reportaron niveles de Calcio de 9,5 +- 0,7($p>0,05$) en comparación con el control a las 12 semanas, (50) estos resultados son distintos a nuestro estudio en los que se evidencia que el Calcio sérico incrementa al transcurrir los días (**Figura 14**). En nuestro estudio el grupo que fue tratado con dexametasona incrementó los niveles de calcio mientras transcurría el tiempo, incluso el día 21 se encuentra en mayor concentración

(Figura 14). Por otro lado, el grupo de Vitamina E con la asociación de Dexametasona disminuye sus niveles al día 14 pero vuelve a estabilizar sus niveles **(Figura 14).** Esto nos podría dar una evidencia que la vitamina E puede cumplir el papel de proteger ante los efectos adversos de la dexametasona.

Con relación a datos radiográficos mostraron una menor radiopacidad en el sitio de la osteotomía en la mandíbula de las ratas tratadas con dexametasona en comparación con los controles; sin embargo, la asociación a mostrados mejores niveles de radiopacidad a los días 14 y 21(**Fig 15-17**). Estos hallazgos podrían sugerir que la vitamina E ejerce un efecto protector en el proceso de regeneración ósea, al eliminar radicales libres y prevenir la activación excesiva de los osteoclastos, lo que evitaría un desequilibrio entre la formación y reabsorción ósea(53). Similares fueron los resultados que encontró Jiu Li, en ratas Sprague-Dawley que recibieron dexametasona. (50) También Kurklu et al., mediante su estudio preclínico de distracción osteogénica, indicó que obtuvo resultados favorables en la calidad de hueso nuevo en el grupo que recibió a-tocoferol(47). Akay H. et al en el 2019 que evaluó la formación de tejido óseo en un modelo de distracción ósea en conejos que recibieron Vitamina E mostraron mejores niveles de radiopacidad a los 21 días y 30 días(11). Diferentes resultados muestran Tennant et al 2017 en el que reportó diversas dosis de administración de tocoferol no tuvieron efecto en el tejido óseo(54).

La vía de administración podría influir en su eficacia terapéutica, especialmente en contexto de regeneración ósea. la administración por vía oral es una forma conveniente, permitiendo absorción sistémica a través del tracto gastrointestinal. Esta vía es adecuada para tratamientos prolongados y puede mantener niveles estables de vitamina E en el organismo; sin embargo, esta vía puede verse afectada por factores como absorción intestinal y metabolismo hepático.(55) Por otro lado, la administración intraperitoneal permite una absorción más rápida y directa, lo cual puede resultad en una mayor biodisponibilidad y efecto terapéutico más inmediato(56). En nuestro estudio se evidencia que la vía de administración puede influir en los resultados, sin embargo, ambas vías de administración mostraron beneficios al asociarlo a la dexametasona comparado con la administración de solo dexametasona. Existen estudios que indican que la vía intraperitoneal puede proporcionar concentraciones más favorables del antioxidante en el sitio de acción, lo cual es crucial para poder evidenciar el

efecto protector y regenerativo de tejidos dañados, existen estudios como los de Sarisozen y col los cuales no obtuvieron beneficios mayores.(48) Pero otros autores mostraron beneficios en la curación ósea utilizando vitamina E por vía intraperitoneal. (11,56,57). Así mismo existen estudios en los cuales se administró vitamina E por vía oral y mostraron resultados beneficiosos a nivel del tejido óseo en proceso de curación. (43,58–60). La vía oral puede beneficiarnos en tratamientos a largo plazo y la vía intraperitoneal podría ayudarnos en términos de biodisponibilidad y eficacia inmediata.

Los efectos no contribuyentes en el proceso de regeneración ósea en los grupos tratados podrían ocurrir debido a la medicación con dexametasona como lo reporta De Lima en el 2020 en su estudio evaluó el efecto de la dexametasona dosis única previo a la extracción dental para conocer el proceso de reparación en alveolos posterior a la exodoncia y encontró que una única dosis de 12mg de dexametasona afecta las primeras etapas del proceso de regeneración ósea(8).

Es importante conocer que durante el proceso no convencional de la regeneración ósea debido a una lesión a nivel del tejido implica el desarrollo de estrés oxidativo a nivel del hueso. la producción de radicales libres podría ocasionar estrés oxidativo y conllevaría a la peroxidación de lípidos, provocando la inhibición de la diferenciación de los odontoblastos y contribuir con la reabsorción ósea.(45,46) Si hay una producción excesiva de radicales libres el organismo no tiene la capacidad de enfrentar ocasionado daño en tejido óseo al producirse la reabsorción (61). Por otro lado, se conoce las propiedades antioxidantes de la Vitamina E, esto debido a la eliminación de radicales peróxidos lipídicos(62) lo que le estaría proporcionando su actividad protectora en el tejido óseo.

CAPITULO VI: CONCLUSIONES.

1. La vitamina E, en combinación con dexametasona, mostró efectos positivos en el proceso de regeneración ósea.
2. La vitamina E, en combinación con dexametasona, mostró un potencial significativo para mitigar los efectos adversos de la dexametasona sobre los osteoblastos.
3. La administración dexametasona junto con vitamina E en un modelo de osteotomía inducido en ratones evidencia mayor cantidad de células osteoprogenitoras en el proceso de regeneración ósea a los siete, 14 y 21 días.
4. Los tratamientos de dexametasona con vitamina E en un modelo de osteotomía inducido en ratones evidencia niveles menores de fosfatasa alcalina y calcio en el proceso de regeneración ósea a los siete, 14 y 21 días.
5. La asociación de dexametasona con vitamina E en un modelo de osteotomía inducido en ratones evidencia mejor radiopacidad en el proceso de regeneración ósea a los 21 días.
6. La vía de administración no fue un efecto determinante en el proceso de regeneración ósea.

CAPITULO VII.: REFERENCIAS BIBLIOGRÀFICAS
Bibliografía

1. Almeida R, Lemos C, de Moraes S, Pellizzer E, Vasconcelos B. Efficacy of corticosteroids versus placebo in impacted third molar surgery: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Int J Oral Maxillofac Surg. 2019; 48(1):118–31.

2. Cho H, Lynham A, Hsu E. Post-operative interventions to reduce inflammatory complications after third molar surgery: Review of the current evidence. Int J Lab Hematol. 2017; 62(4):412–9.

3. Naik A, Xie C, Zuscik MJ, Kingsley P, Schwarz EM, Awad H, et al. Reduced COX-2 expression in aged mice is associated with impaired fracture healing. J Bone and Mineral Research. 2009; 24(2):251–64.

4. Zhang X, Schwarz E, Young D, Edward Puzas J, Rosier RN. Cyclooxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. J Clinic Investigation. 2002; 109(11):1405–15.

5. Jiang Q. Natural forms of vitamin E: Metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. Free Radic Biol Med. 2014; 72:76–90.

6. Shang N, Wu J. Nutrients for Bone Health. Vol. 3, Encyclopedia of Food Chemistry. Elsevier; 2019; 3:349–356.

7. Jimi E. Vitamin Status and Mineralized Tissue Formation. Curr Oral Health Rep. 2019; 6(2):110–9.

8. de Lima T, de Ribeiro A, Santos V, de Costa O, Marques D, Queiroz T, et al. Effects of different pre-operative doses of dexamethasone on alveolar repair in rats. Arch Oral Biol. 2020; 110:104624.

9. Savvidis M, Papavasiliou K, Taitzoglou I, Giannakopoulou A, Kitridis D, Galanis N, et al. Postoperative Administration of Alpha-tocopherol Enhances Osseointegration of

Stainless Steel Implants: An In Vivo Rat Model. Clin Orthop Relat Res. 2020; 478(2):406–19.

10. Mergoni G, Vescovi P, Passerini P, Maestri R, Corradi D, Sala R, et al. Effects of zoledronic acid and dexamethasone on early phases of socket healing after tooth extraction in rats: A preliminary macroscopic and microscopic quantitative study. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2019;24(3):e339–45.

11. Akçay H, Kuru K, Tatar B, Şimşek F. Vitamin E Promotes Bone Formation in a Distraction Osteogenesis Model. J Craniofac Surg. 2019; 30(8):2315–8.

12. Vicentini C, Ramacciato J, Groppo F, Teixeira RG, Motta RHL. Clinical evaluation of two dexamethasone regimens in the extractions of impacted third molars—a randomized clinical trial. Oral Maxillofac Surg. 2018; 22(2):177–83.

13. Semper-Hogg W, Fuessinger M, Dirlewanger T, Cornelius C, Metzger M. The influence of dexamethasone on postoperative swelling and neurosensory disturbances after orthognathic surgery: A randomized controlled clinical trial. Head Face Med. 2017; 13(1):1–9.

14. Ren H, Liang D, Jiang X, Tang J, Cui J, Wei Q, et al. Variance of spinal osteoporosis induced by dexamethasone and methylprednisolone and its associated mechanism. Steroids. 2015; 102:65–75.

15. Ibrahim N, Khamis M, Yunoh M, Abdullah S, Mohamed N, Shuid A. Targeted delivery of lovastatin and tocotrienol to fracture site promotes fracture healing in osteoporosis model: Micro-computed tomography and biomechanical evaluation. PLoS One. 2014; 9(12):1–18.

16. Chin K, Ima-Nirwana S. Effects of annatto-derived tocotrienol supplementation on osteoporosis induced by testosterone deficiency in rats. Clin Interv Aging. 2014; 9:1247–59.

17. Hu K, Olsen BR. The roles of vascular endothelial growth factor in bone repair and regeneration. Bone. 2016; 91:30–8.

18. Loi F, Córdova LA, Pajarinen J, Lin T hua, Yao Z, Goodman SB. Inflammation, fracture and bone repair. Bone. 2016; 86:119–30.

19. Varbara G, Bernardi S, Cutilli T. Anti-inflammatory steroid use in impacted third molar surgery: a systematic review. J Biol Regul Homeost Agents. 2017; 31(4):1095–9.

20. Krishnan K, Kumar S. Role of corticosteroids in oral and maxillofacial surgery. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2018;10(1):208–10.

21. Bastian O, Pillay J, Alblas J, Leenen L, Koenderman L, Blokhuis T. Systemic inflammation and fracture healing. J Leukoc Biol. 2011; 89(5):669–73.

22. Sicco C, Tasso R. Harnessing endogenous cellular mechanisms for bone repair. Front Bioeng Biotechnol. 2017; 5:1–7.

23. Raggatt LJ, Wullschleger M, Alexander K, Wu A, Millard S, Kaur S, et al. Fracture healing via periosteal callus formation requires macrophages for both initiation and progression of early endochondral ossification. American Journal of Pathology. 2014; 184(12):3192–204.

24. Hofstetter W, Egli R. Bone Repair and Fracture Healing. Third Edit. Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier; 2014. 1–7 p.

25. Lopes D, Martins-Cruz C, Oliveira MB, Mano JF. Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies. Biomaterials. 2018; 185:240–75.

26. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. Injury. 2011; 42(6):551–5.

27. Carano R, Filvaroff E. Angiogenesis and bone repair. Drug Discov Today. 2003; 8(21):980–9.

28. Claes L, Recknagel S, Ignatius A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. Nat Rev Rheumatol. 2012; 8(3):133–43.

29. Wong S, Mohamad N, Ibrahim N 'Izzah, Chin K, Shuid AN, Ima-Nirwana S. The molecular mechanism of Vitamin E as a bone-protecting agent: A review on current evidence. Int J Mol Sci. 2019;20(6).

30. Väänänen K. Mechanism of osteoclast mediated bone resorption - Rationale for the design of new therapeutics. Adv Drug Deliv Rev. 2005;57(7):959–71.

31. Guz-mark A, Shamir R, Tikva P, Deficiency VE. Vitamin E. Reference Module in Biomedical Sciences. 2019; 2:2016–9.

32. Moore P, Brar P, Smiga ER, Costello BJ. Preemptive rofecoxib and dexamethasone for prevention of pain and trismus following third molar surgery. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology. 2005; 99(2):1–7.

33. Briot K. Bone and glucocorticoids. Ann Endocrinol (Paris). 2018; 79(3):115–8.

34. Ramamoorthy S, Cidlowski J. Corticosteroids. Rheumatic Disease Clinics of North America. 2016;42(1):15–30.

35. Goddman, Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9th ed. México: editorial Mc Graaw Hill-Interamericana; 1998.

36. Katzung B. Farmacología Básica y Clínica. 10th ed. México: editorial El manual Moderno; 2005. 95–99 p.

37. Saito Y, Nakamura S, Chinen N, Shimazawa M, Hara H. Effects of anti-osteoporosis drugs against dexamethasone-induced osteoporosis-like phenotype using a zebrafish scale-regeneration model. J Pharmacol Sci. 2020; 143(2):117–21.

38. Vitellius G, Trabado S, Bouligand J, Delemer B, Lombès M. Pathophysiology of Glucocorticoid Signaling. Ann Endocrinol. 2018; 79(3):98–106.

39. Cole T, Blendy J, Monaghan AP, Krieglstein K, Schmid W, Aguzzi A, et al. Targeted disruption of the glucocorticoid receptor gene blocks adrenergic chromaffin cell development and severely retards lung maturation. Genes Dev. 1995; 9(13):1608–21.

40. Henneicke H, Gasparini SJ, Brennan-Speranza TC, Zhou H, Seibel MJ. Glucocorticoids and bone: Local effects and systemic implications. Trends in Endocrinology and Metabolism. 2014; 25(4):197–211.

41. He YX, Liu Z, Pan XH, Tang T, Guo BS, Zheng LZ, et al. Deletion of estrogen receptor beta accelerates early stage of bone healing in a mouse osteotomy model. Osteoporosis International. 2012; 23(1):377–89.

42. Li X, Li YS, Li LJ, Xie X, Yang Y, Deng ZH, et al. Overactivated autophagy contributes to steroid-induced avascular necrosis of the femoral head. Exp Ther Med. 2017; 14(1):367–72.

43. Seo MH, Myoung H, Lee JH, Yang HC, Woo KM, Lee SK, et al. Effects of pentoxifylline and tocopherol on an osteoradionecrosis animal model. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery. 2020; 48(7):621–31.

44. Zhou M, Liu L, Xu Y, Jiang J, Liu G, Zhai C. Effects of osteoblast autophagy on glucocorticoid-induced femoral head necrosis. Jt Dis Relat Surg. 2020;31(3):411–8.

45. Ahmad N, Khalid BAK, Luke DA, Nirwana SI. Tocotrienol offers better protection than tocopherol from free radical-induced damage of rat bone. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2005; 32(9):761–70.

46. Suda N, Morita I, Kuroda T, Murota S itsu. Participation of oxidative stress in the process of osteoclast differentiation. BBA - General Subjects. 1993; 1157(2):318–23.

47. Kurklu M, Yildiz C, Kose O, Yurttas Y, Karacalioglu O, Serdar M, et al. Effect of alpha-tocopherol on bone formation during distraction osteogenesis: A rabbit model. Journal of Orthopaedics and Traumatology. 2011; 12(3):153–8.

48. Sarisözen B, Durak K, Dinçer G, Bilgen OF. The effects of vitamins E and C on fracture healing in rats. Journal of International Medical Research. 2002; 30(3):309–13.

49. Miao D, Scutt A. Histochemical localization of alkaline phosphatase activity in decalcified bone and cartilage. J Histochem Cytochem. 2002; 50(3):333–40.

50. Liu Y, Cui Y, Chen Y, Gao X, Su Y, Cui L. Effects of dexamethasone, celecoxib, and methotrexate on the histology and metabolism of bone tissue in healthy Sprague Dawley rats. Clin Interv Aging. 2015; 10:1245.

51. Wang X, Liang T, Zhu Y, Qiu J, Qiu X, Lian C, et al. Melatonin prevents bone destruction in mice with retinoic acid–induced osteoporosis. Molecular Medicine. 2019;25(1).

52. Abdalbary M, Chishti E, Shakhashiro M, Mohamed R, Parikh T, Nassar MK, et al. Impact of urinary calcium excretion on kidney, bone, and cardiovascular systems in patients with bone biopsy proven osteoporosis: a longitudinal long-term follow-up study. Osteoporosis International. 2023; 34(4):763–74.

53. Kasai S, Ito A, Shindo K, Toyoshi T, Bando M. High-Dose α-Tocopherol Supplementation Does Not Induce Bone Loss in Normal Rats. PLoS One. 2015; 10(7):e0132059.

54. Tennant K, Leonard S, Wong C, Iwaniec U, Turner R, Traber M. High-Dietary Alpha-Tocopherol or Mixed Tocotrienols Have No Effect on Bone Mass, Density, or Turnover in Male Rats During Skeletal Maturation. 2017;20(7):700–8.

55. Traber M. Vitamin E Regulatory Mechanisms.2007;27:347–62. Available from: https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093819

56. Turk Y, Halici M, Guney A, Akgun H, Sahin V, Muhtaroglu S. Promotion of fracture healing by vitamin E in rats. Journal of International Medical Research. 2004; 32(5):507–12.

57. Durak K, Sonmez G, Sarisozen B, Ozkan S, Kaya M, Ozturk C. Histological Assessment of the Effect of α-Tocopherol on Fracture Healing in Rabbits. 2003;31(1):26–30.

58. Nguyen T, Eo M, Seo M, Myoung H, Kim SM, Lee J. Effects of pentoxifylline and tocopherol on a rat-irradiated jaw model using micro-CT cortical bone analysis. European Archives of Oto-Rhino-Laryngology. 2019;276(12):3443–52.

59. Shuid A, Mohamad S, Muhammad N, Fadzilah FM, Mokhtar SA, Mohamed N, et al. Effects of α-tocopherol on the early phase of osteoporotic fracture healing. Journal of Orthopaedic Research. 2011; 29(11):1732–8.

60. Shuid AN, Das S, Mohamed IN. Therapeutic effect of Vitamin E in preventing bone loss: An evidence-based review. 2019; 89(5–6):357–70.

61. Sheweita SA, Khoshhal KI. Calcium Metabolism and Oxidative Stress in Bone Fractures: Role of Antioxidants. Curr Drug Metab. 2007;8(5):519–25.

62. Wong S, Mohamad N, Ibrahim N 'Izzah, Chin KY, Shuid AN, Ima-Nirwana S. The Molecular Mechanism of Vitamin E as a Bone-Protecting Agent: A Review on Current Evidence. International Journal of Molecular Sciences 2019;20(6):1453.

CAPITULO VIII: ANEXOS

Anexo 1: Procedimiento para inducción de osteotomía en fémur.

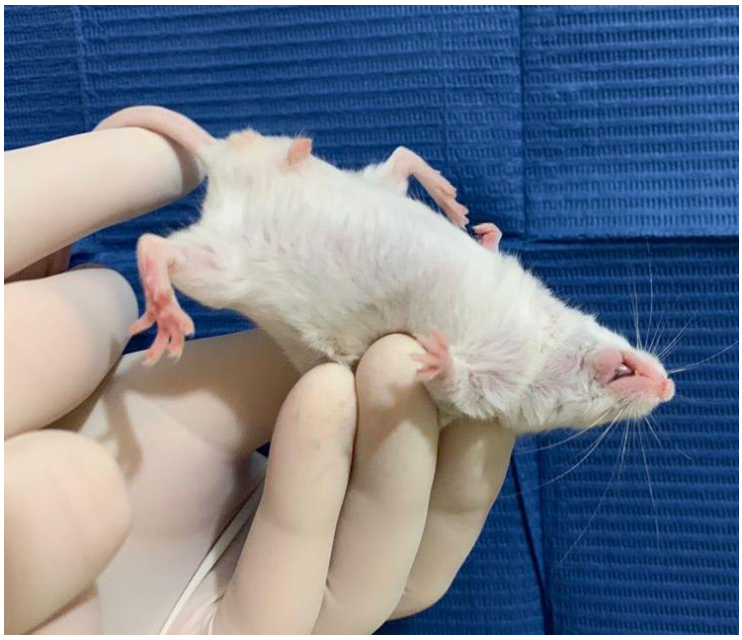


Figura 18: Sujeción de ratón para administración de fármacos para inducir a la anestesia



Figura 19: Administración de medicamentos para anestesia general



Figura 20: zona quirúrgica preparada y delimitada



Figura 21: Exposición de realización de osteotomía en fémur izquierdo de ratón



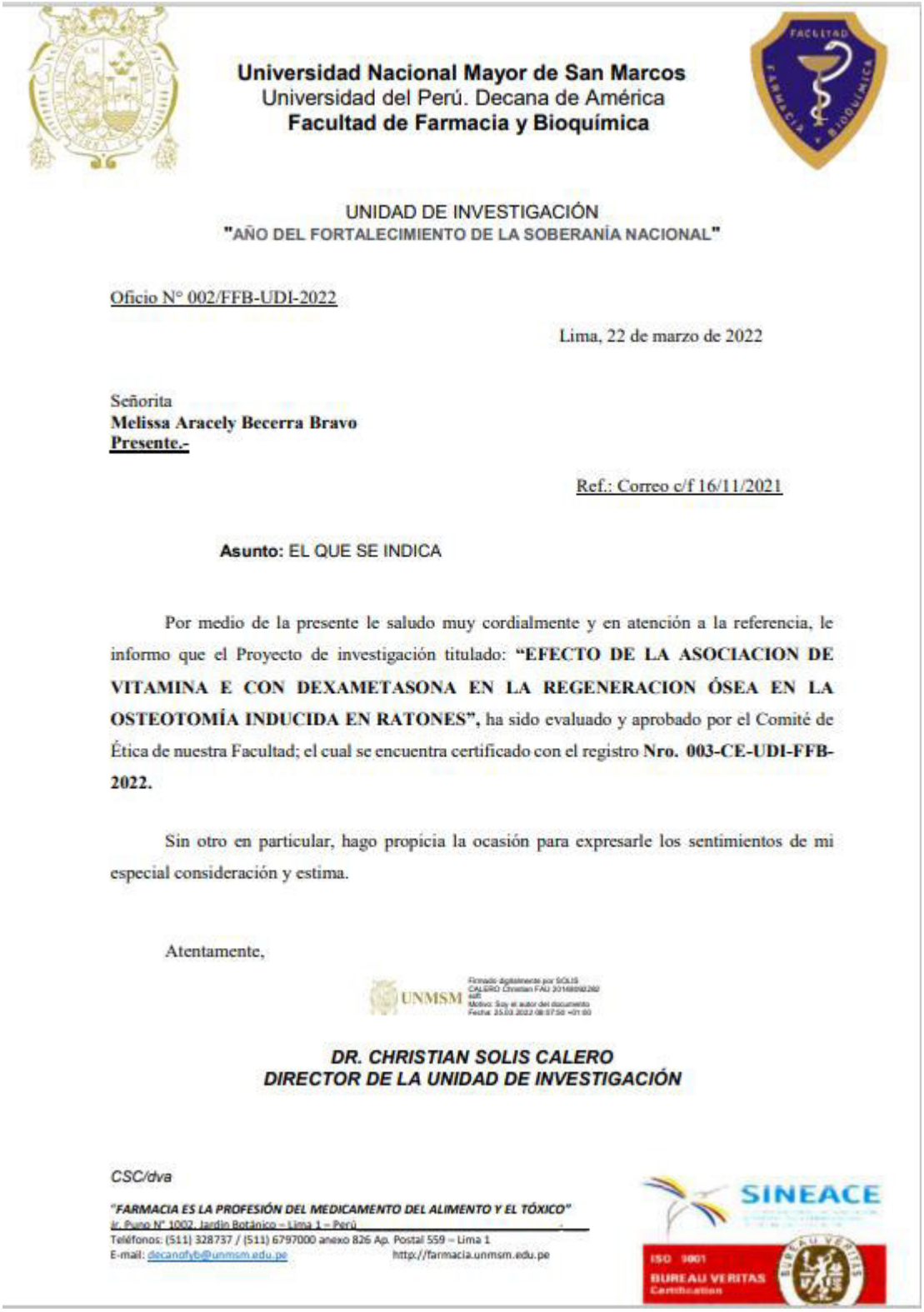
Figura 22: Cierre de herida quirúrgica y sutura por planos

Anexo 2: Recolección de la muestra



Figura 23: Eutanasia y recolección de Fémur izquierdo de ratón Balb/c

Anexo 3: Aprobación de comité de ética



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN
"AÑO DEL FORTALECIMIENTO DE LA SOBERANÍA NACIONAL"

Oficio N° 002/FFB-UDI-2022

Lima, 22 de marzo de 2022

Señorita
Melissa Aracely Becerra Bravo
Presente.-

Ref.: Correo c/f 16/11/2021

Asunto: EL QUE SE INDICA

Por medio de la presente le saludo muy cordialmente y en atención a la referencia, le informo que el Proyecto de investigación titulado: **"EFECTO DE LA ASOCIACION DE VITAMINA E CON DEXAMETASONA EN LA REGENERACION ÓSEA EN LA OSTEOTOMÍA INDUCIDA EN RATONES"**, ha sido evaluado y aprobado por el Comité de Ética de nuestra Facultad; el cual se encuentra certificado con el registro **Nro. 003-CE-UDI-FFB-2022.**

Sin otro en particular, hago propicia la ocasión para expresarle los sentimientos de mi especial consideración y estima.

Atentamente,

UNMSM

DR. CHRISTIAN SOLIS CALERO
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

CSC/dva

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO DEL ALIMENTO Y EL TÓXICO"
Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú
Teléfonos: (511) 328737 / (511) 6797000 anexo 826 Ap. Postal 559 – Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe

SINEACE
ISO 9001 BUREAU VERITAS Certification

Anexo 4: Solicitud permiso para ejecución de proyecto de tesis en el laboratorio experimental de farmacología de la UNMSM

Anexo5. Certificación de Sanidad de Animales para la ejecución de la Tesis

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)
FACULTAD DE MEDICINA

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

Lima, 31 de marzo de 2022

Oficio N° 002 GI - JLAA - 2022

Señor Doctor.
Juan Pedro Matzumura Kasano
Director de la Unidad de Investigación
Facultad de Medicina – U.N.M.S.M.
Presente. -

Asunto: Solicita permiso de ingreso al Bioterio para la Maestrando Melissa Aracely Becerra Bravo.

De mi consideración:

Me dirijo a usted para expresarle mi cordial saludo; y, a la vez, hacer de su conocimiento que la Maestrando Melissa Aracely Becerra Bravo (DNI 77244964) debe realizar la evaluación farmacológica en los animales de experimentación como parte de su Tesis en ejecución: "**EFECTO DE LA ASOCIACION DE VITAMINA E CON DEXAMETASONA EN LA REGENERACION ÓSEA EN LA OSTEOTOMÍA INDUCIDA EN RATONES**", cabe indicar que la Tesista es miembro del grupo de investigación FITOFARMACOS Y SALUD, que lidera el suscrito y además es Asesor de la Tesis.

Señor Vicedecano de Investigación y Posgrado de la Facultad de Medicina, recurro a su Despacho para solicitarle tenga a bien disponer por quien corresponda gestionar el permiso de ingreso para la Maestrando Melissa Aracely Becerra Bravo, los días: (05,12,19,26 29 de abril de 09:00 a 17:00 horas). Reiterarle mi agradecimiento por su apoyo denodado en aras de la Investigación.

Atentamente,

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo
Coordinador del Grupo de Investigación
Fitofármacos y Salud – UNMSM

Adjunta: Documento de aprobación del trabajo de Investigación por el Comité de Etica: Oficio N° 002/FFB-UDI-2022

Av. Grau 755 – Lima 1. Apartado Postal 529 – Lima 100 – Perú Telf. (511) 3283237 – (511) 3283238
(511) 3283232 – (511) 3282749 – (511) 3283236 – Decanato Telefax: (511) 3283231
Web: www.unmsm.edu.pe/ -E-mail de Biblioteca: bibmed@sanfer.unmsm.edu.pe
E-mail: decanatofm@sanfer.unmsm.edu.pe

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLOGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 065- 2022

Producto	: Ratón Albino	Lote N°	: R – 25- 2022
Especie	: *Mus músculus*	Cantidad	: 100
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 1 mes ½
Peso	: Mayor a 25 gr.	Sexo	: machos
Guia de Remisión	: 039535	Destino	: Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Fecha	: 15-12-2021		

El Médico Veterinario, que suscribe, **Jorge Ruiz Alarcón** Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias •.

•Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 14 de junio del 2022

(Fecha de emisión del certificado)

M.V. Jorge Ruiz Alarcòn.
C.M.V.P. 5052

NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.