

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

E.A.P. DE OBSTETRICIA

**“RESPUESTA DEL TEJIDO TRABECULAR ÓSEO Y CONCENTRACIÓN CALCIO Y
MAGNESIO FRENTE A LA TERAPIA BASADA EN OXITOCINA EN RATAS
OVARIECTOMIZADAS”.**

TESIS

Para optar el Título Profesional de LICENCIADO EN OBSTETRICIA

AUTOR

CABELLO ALDAVE, FREDDY WERNER

RIOS NUÑEZ, JOSÉ ANTONIO

ASESORA:

DR. ZAIDA ZAGACETA GUEVARA

Lima – Perú

2014

Dedicatoria

Dedicamos este trabajo principalmente a Dios por habernos dejado llegar hasta este momento de nuestra formación profesional.

Agradecimientos

A nuestros familiares que nos dan su apoyo incondicional y cariño fraterno, a nuestra asesora que nos apoyó en la elaboración de esta investigación, a los doctores Manuel Leyva y Daisy Flores Cortez por apoyarnos en la investigación, muchísimas gracias a todas las personas que confiaron y apoyaron en nuestra investigación y sin ellas no habríamos logrado esta meta.

Dicamos este trabajo principalmente a Dios por habernos dejado llegar hasta este momento de nuestra formación profesional.

RESUMEN	4
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN	7
CAPITULO II: MATERIALES Y MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN	19
CAPITULO III: RESULTADOS	25
CAPITULO IV: DISCUSIONES	27
CAPITULO V: CONCLUSIONES	29
CAPITULO VI: RECOMENDACIONES	31
CAPITULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXOS	35

RESUMEN

Con la finalidad de determinar el efecto terapéutico de la oxitocina sobre el tejido trabecular, y registrar en sangre el comportamiento de analitos relacionado al metabolismo óseo en ratas ovariectomizadas, se realizó una investigación experimental, cuantitativa, prospectiva, y de corte transversal; con una población de 37 ratas agrupadas: grupo control ovariectomizadas (n=7), grupo ovariectomizadas con administración de oxitocina de 10 UI/kg (n=8), grupo ovariectomizadas con administración de oxitocina de 100 UI/kg (n=8), grupo ovariectomizado con administración de ácido Alendrónico 2 mg/kg (n=7) y un grupo de no ovariectomizado (n=7) que cumplieron con los criterios de la experimentación (con un nivel de confianza del 95% y error del 5%). Los animales ovariectomizados recibieron dosis diarias de oxitocina (10UI/kg y 100UI/kg según el grupo) y ácido alendrónico (2mg/kg) por vía oral. Para la recolección de la información se extrajo muestras de sangre (3cc por vía intracardiaca) así como la histomorfometría del fémur distal para valorar condroblastos. La investigación demostró una notable recuperación en el número de osteoblastos tanto en el grupo ovariectomizado con administración de Oxitocina de 10UI/kg y en el grupo ovariectomizado con administración de ácido alendrónico (80.67 ± 8.02 ; 81.67 ± 1.53 respectivamente); en cambio con el grupo ovariectomizado con administración de oxitocina (100UI/kg) se observó que efecto no fue el mismo ya que solo estaba aumentado ligeramente (69.67 ± 8.51), Con respecto al grupo control ovariectomizado (65.0 ± 20.30). Además, el contenido mineral en sangre registró variaciones significativas en calcio y magnesio. Se concluye que existen diferencias significativas en el peso corporal, además de ligeros cambios en el contenido mineral óseo entre los diferentes lotes, como también en la histomorfometría en la que se observó un aumento significativo del número de condroblastos, lo cual favorece la remodelación ósea.

Palabras claves: Ratas ovariectomizadas, efecto terapéutico, analitos, oxitocina, ácido alendrónico.

Abstract

In order to determine the therapeutic effect of oxytocin on the trabecular tissue, blood and record the behavior of analytes related to bone metabolism in ovariectomized rats, we realized one investigation which is experimental, quantitative, prospective and transversal. This investigation had as population of 37 grouped rats: group ovariectomized control (n = 7), group ovariectomized with oxytocin 10 IU / kg (n = 8), group ovariectomized with oxytocin 100 IU / kg (n = 8), ovariectomized group with administration of Ac. Alendronic 2 mg / kg (n = 7) and a group of non-ovariectomized (n = 7) that had an inclusion and an exclusion criteria (with a confidence level of 95% and 5% error). Ovariectomized animals received daily doses of oxytocin (10UI/kg and 100UI/kg by group) and alendronic acid (2mg/kg) by orogastric route. To collect information extracted blood samples (3cc intracardially) and histomorphometry of the distal femur to assess chondroblasts extracted. The research showed a significant recovery in the number of osteoblasts in both ovariectomized group 10UI/kg administration of oxytocin and the ovariectomized group alendronate administration (80.67 ± 8.02 , 81.67 ± 1.53 respectively), whereas the group ovariectomized with oxytocin (100UI/kg) found that effect was not the same as it was only slightly increased (69.67 ± 8.51) regarding the ovariectomized control group (65.0 ± 20.30). In addition, the mineral content in the blood showed significant changes in calcium and magnesium. In conclusion, there are significant differences in the weight, plus slight changes in bone mineral content between batches, as well as histomorphometry in which a significant increase in the number of chondroblasts observed, which favors bone remodeling.

Key Words: Ovariectomized rats, therapeutic effect, analytes, oxytocin, alendronic acid.

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se considera a la osteoporosis (OP) una enfermedad de salud pública que está en crecimiento por el continuo envejecimiento de nuestra población mundial. Actualmente es un problema importante en nuestro país, encontrándose en el grupo de enfermedades no transmisibles sobre las cuales se hace necesario un trabajo intersectorial incisivo y de corte educacional para generar cambios de comportamiento en lo relacionado al cuidado de la salud, hábitos alimentarios y actividad física a lo largo de la vida.^[1] Dentro del marco mundial afecta a unas 200 millones de personas actualmente, y un 30 a 50% de las mujeres posmenopáusicas la padecen. En estas mujeres el riesgo de morir por una fractura de cadera es igual al riesgo de morir por cáncer de mama y mayor al riesgo de cáncer de endometrio.
[1]

Uno de los factores de riesgo más importante en la osteoporosis es la menopausia, durante este periodo, caracterizado por un déficit estrogénico, existe un aumento de la reabsorción ósea y en menor medida una disminución de la formación de hueso. La osteoporosis tipo I (posmenopáusica) está asociada a compresiones vertebrales y fracturas de cadera, que ocurren en mujeres entre 15 y 20 años después de la menopausia.^[1]

En Latinoamérica, la fractura más frecuente en pacientes con osteoporosis es la de localización vertebral, una prevalencia de 11,18% (IC95%= 9,23-13,4) tal como se da cuenta en el LAVOS (Latin American Vertebral Osteoporosis Study, Clark, 2009). Estos resultados son similares a los de los estudios realizados en Pekín (China), en algunas regiones de Europa y un poco menores que los encontrados en EE. UU usando la misma metodología. En el estudio LAVOS se evaluaron 1.922 mujeres de 50 años o más, provenientes de Argentina, Brasil, Colombia, México y Puerto Rico.^[2]

La prevalencia fue similar en los cinco países y aumenta exponencialmente con la edad desde 6.9% (95% CI 4.6–9.1) en mujeres de 50–59 años a 27.8% (95% CI 23.1–32.4) en aquéllas con 80 años o más ($p < 0.001$).^[2]

En América Latina y Asia se producen una de cada cuatro fracturas de cadera de las ocurridas en el mundo. El número aumentaría a una de cada dos fracturas en el 2050 con un costo anual de aproximadamente U\$S 13.000.000.000. ^[2]

En el Perú según la Sociedad de Osteoporosis y enfermedades óseas (2012), indica una tasa de osteoporosis del 7% en mujeres de 40 a 60 años y una tasa de 30 % en mujeres mayores de 60 años; Essalud calcula que el 12 a 16 % de mujeres peruanas mayores de 50 años sufrirá una fractura de cadera al año. ^[2]

Está establecido (Según Brown, 2002; Melton, 2003; Fortes 2008 y Tosteson, 2009), que el incremento anual de la población mayor de 65 años es de 1%, y la tasa de mortalidad consecutiva a la fractura de cadera es promedio 20% en el primer año de ocurrida, que el 10% de las pacientes quedan dependientes luego de una fractura, que el 19% requiere cuidados domiciliarios y entre el 30 y el 50% pueden retomar sus actividades habituales. ^[3]

Recientes trabajos demuestran que la mortalidad consecutiva a la fractura de cadera luego del año desciende ligeramente, pero permanece elevada aun pasando los 5 y hasta los 10 años que fueron investigados (Bliuc, 2009). Es la principal causa de morbilidad en adultos mayores por incapacidad y hospitalizaciones ^[3].

Existen varios métodos disponibles para la medición no invasiva de la masa ósea y diagnóstico de osteoporosis. La densitometría (DXA) es el método preferido para medir la densidad ósea porque, con una mínima radiación, da mediciones precisas en sitios importantes desde el punto de vista clínico.

Sin embargo, diversos autores mencionan que esta prueba tiene falta de sensibilidad, sosteniendo que esta técnica solo tiene un valor indicativo osteológico que no va más allá de la confirmación de una osteopenia, ya que realiza una absorciometría de proyección de estructuras volumétricas óseas en solo dos dimensiones, sin valorar su verdadera resistencia. Así mismo, en estudios experimentales con animales, se han encontrado correlaciones muy significativas de este método con lesiones histológicas e histomorfométricas, y con los análisis químicos del contenido mineral del hueso. Por tanto, la búsqueda de tratamientos alternativos para combatir esta enfermedad que es un problema de salud pública, ha cobrado mayor importancia en los últimos años en todo el mundo. ^[5]

La osteoporosis, es un problema de salud pública global, que continúa creciendo con el progresivo envejecimiento de las poblaciones y en especial perjudica a mujeres posmenopáusicas por la deprivación hormonal. ^[3]

Las escasas alternativas para su tratamiento hacen que nos enfoquemos en el presente proyecto para contribuir en la búsqueda de nuevas alternativas contra esta enfermedad.

El metabolismo óseo es la combinación de la resorción ósea por los osteoclastos y la formación de hueso por los osteoblastos. Considerando que el aumento en la resorción ósea se considera como el principal contribuyente de la pérdida de hueso que puede conducir a osteoporosis, esta pérdida es acompañada por aumento de adiposidad en la médula ósea.

Elab y colaboradores, en su estudio “*La Oxitocina controla la diferenciación de células madre mesenquimatosas humanas y revierte la osteoporosis*” en la universidad de Niza, en donde se identificaron por análisis la vía del receptor de oxitocina como un regulador potencial de los osteoblastos y el equilibrio de los adipocitos multipotentes derivadas del tejido adiposo humano (hMADS) y mediante ello revierte la osteoporosis, usan tanto la oxitocina como la carbetocina (un análogo de la oxitocina). La inyección subcutánea de oxitocina revierte la pérdida ósea en ratones ovariectomizadas, reduce la adiposidad en la médula ósea. Clínicamente, los niveles plasmáticos de oxitocina son significativamente más bajos en las mujeres posmenopáusicas con osteoporosis en desarrollo que en los individuos sanos. Tomados en conjunto, estos resultados sugieren que los niveles plasmáticos de oxitocina representan un marcador diagnóstico novedoso para la osteoporosis y que la administración de oxitocina es prometedora como una terapia potencial para la enfermedad. ^[11]

Bremm y colaboradores en el año 2004, en su estudio “*Osteoporosis experimental en ratas ovariectomizadas: densitometría ósea y concentración de minerales en sangre y cenizas de hueso*”, utilizaron 40 ratas hembras de la cepa Wistar, de 60 a 70 días de edad, conformándose dos grupos un de ovariectomizadas y el otro sin cirugía; se concluyó reafirmando la idoneidad del modelo experimental de osteoporosis propuesto, en virtud de que en las ratas ovariectomizadas y bajo sus condiciones de trabajo, se hallaron diferencias significativas en el peso corporal, calcio, magnesio sérico, fósforo inorgánico y manganeso del tejido óseo. No se observaron cambios del contenido mineral óseo entre ambos lotes, pero la densidad mineral ósea disminuyó significativamente en la región lumbar y femoral. ^[12]

Hazañas Ruiz y colaboradores en el año 2005, en su “Estudio Histomorfométrico del hueso diafísario en la rata” concluyen con los resultados del producto de los cortes longitudinales y transversales, son favorables para observar mejor la remodelación ósea habiendo un equilibrio entre el número de osteoblastos y osteoclastos, agregando que estos son los mejores cortes para poder observarlos (osteoblastos y condroblastos) en cada lamina según sus procedimientos usados en este estudio. ^[5]

Trulls y colaboradores en el 2004, en su estudio “Respuesta del Tejido Óseo y la Concentración de Minerales en la Terapia de Reemplazo Hormonal en Ratas ovariectomizadas”, utilizaron 45 ratas Wistar de 4 meses de edad, separando dos lotes castrados y control, recibieron dosis de benzoato de estradiol y coproato de hidroxiprogesterona; se concluye el estudio, por medio de la histomorfometría, que existe una buena recuperación del espesor trabecular en la metafisis tibial de los animales tratados con hormonas, cuyos parámetros resultaron similares a los testigos ($43,47 \pm 2,87$ y $43,09 \pm 7,49\mu\text{m}$ respectivamente). En cambio, en el resto de los animales castrados el espesor trabecular permaneció disminuido ($30,93 \pm 5,25\mu\text{m}$, $p < 0,05$). El contenido mineral del hueso no registró variaciones significativas entre lotes, pero en sangre se verificaron disminuciones significativas de magnesio en ambos lotes castrados, así como de fosfatasa alcalina en los tratados hormonalmente. ^[14]

Bremm y colaboradores en su investigación “Minerales en Sangre y Tejido Óseo de Ratas Ovariectomizadas Tratadas con Alendronato”, utilizando 33 ratas de la cepa Wistar de 4 meses de edad y una duración del ensayo de 12 meses, se les dosifico a las ratas con 0,2 mg/animal de alendronato vehiculizado en el agua de beber, concluyen que con el análisis dado por ANOVA sobre los valores en sangre y tejido óseo no surgen diferencias significativas para ninguno de los parámetros determinados. Al realizar el análisis multivariante de la variancia.

No se observaron diferencias significativas entre los tres tratamientos considerados, resultado coincidente con lo observado en el análisis de componentes principales y en el análisis ANOVA realizado para cada variable en particular ^[15]

Blanusa y colaboradores en el estudio “Los Parámetros Cinéticos del Metabolismo del Calcio y la Histomorfometría Fémur en Ratas. Influencia del Sexo y la Edad”, El objetivo de este estudio fue establecer la influencia de la edad y el sexo de los parámetros cinéticos e histomorfométricos del metabolismo del calcio. Los valores normales de los parámetros cinéticos se determinaron en ratas adultas normales de diferentes edades (4 - 20 meses) y de ambos sexos. Se evaluó la excreción urinaria y la medición histomorfométrica del fémur de cada rata, como resultado, los valores más bajos se registraron en los machos adultos. Los parámetros histomorfométricos de los fémures no mostraron pérdida ósea en la edad examinada. En estos resultados, se muestra que las diferencias entre los sexos existe una reposición de calcio más rápida, una más alta constante de tasa de excreción de calcio, más alta la degradación del colágeno y una mayor densidad ósea en ratas hembra adultas. ^[16]

Shirai y colaboradores en su estudio “Efecto de la Suplementación de Calcio en la Dinámica del Hueso del Maxilar, Mandíbula y Tibia Proximal en la Osteoporosis Experimental” se concluyó que las ratas ovariectomizadas con altas dosis de calcio en comparación de las que se suministraba calcio en bajas dosis, hubo un aumento de volumen de hueso y parámetros temporalmente, el aumento de la formación ósea en 1 semana después de alimentarse con dieta alta en calcio se observaron en el maxilar superior, pero estos cambios no se observaron en el tibia proximal y la mandíbula ^[17]

La osteoporosis (Según OMS, 2009) es “Una enfermedad sistémica del esqueleto que se caracteriza por disminución de la masa ósea y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, que conlleva al aumento de la fragilidad ósea con el consecuente incremento en el riesgo de fracturas”.

La osteoporosis (OP), es una enfermedad caracterizada por una disminución de la masa ósea debida al adelgazamiento de la cortical y de las trabéculas e incluso a su desaparición ^[6,7].

Es además reconocida como una enfermedad específica desde épocas remotas, habiendo sido descrita ya por Hipócrates. Sin embargo, sólo en los últimos 50 años se le ha conferido especial importancia, despertando su estudio un particular interés por la elevada magnitud del problema a nivel poblacional; hoy se estima que es la enfermedad crónica más prevalente en todo el mundo. Es una enfermedad ósea más común observada en la práctica clínica. ^[4]

Los factores de riesgo para osteoporosis podemos relacionarlo en cuatro categorías principales: 1. Edad; 2. Factores ambientales; 3. Factores endocrinos; 4. Características físicas del hueso. Con respecto a la edad la disminución de la masa ósea hace que la osteoporosis sea una enfermedad propia del último tercio de la vida. ^[1]. Para el presente trabajo es importante este factor, ya que debido a los antecedentes nos sugiere trabajar con ratas con una edad de por lo menos 55 a 60 días (para el trabajo se obtendrán ratas de 45 días de edad, pero se inducirá la osteoporosis a los 10 días de adaptación), ya que a esta edad mantiene un nivel hormonal (estrógenos y progesteronas) elevado y adecuado para inducir la osteoporosis ^[12]

Encontramos factores ambientales, en los que los factores dietéticos juegan un papel importante, como en el caso del calcio que es necesario para que la masa ósea alcanzada al final del desarrollo sea adecuada. En la vida adulta su carencia facilita la pérdida ósea. Los enfermos con hipercalciuria idiopática tienen valores bajos de masa ósea, seguramente en relación con el balance negativo de calcio que determina la hipercalciuria. En el presente trabajo no se incluirá el calcio en la dieta de los roedores, ya que algunos antecedentes de trabajos realizados no demuestran variaciones en los resultados de calcio sérico.

También encontramos la vitamina D, su déficit dificulta la absorción intestinal de calcio. Sus niveles tienden a estar reducidos en los ancianos. Está déficit está relacionado también con los niveles bajos en estrógenos y progesterona. Además es importante saber que esta vitamina está contenida en el medicamento (ácido Alendrónico) que se utilizará en uno de los grupos del trabajo experimental.

Otros factores dietéticos. Se ha dicho que, por distintas razones, tanto el déficit como el exceso de fosfato o de proteínas predisponen a la osteoporosis. También el exceso de sal puede facilitar la osteoporosis, ya que la natriuresis aumenta las pérdidas de calcio en la orina.

También se presentan factores endocrinos, entre ellos los factores hormonales, como la hormona tiroidea, paratohormona, glucocorticoides, diabetes. Deficiencia de estrógenos en la mujer o de testosterona en el hombre^[9].

La depleción de estrógenos a la menopausia se sigue de una pérdida de masa ósea acelerada, que predispone a la osteoporosis. Algo similar cabe decir de otras situaciones de hipogonadismo en ambos sexos.^[6]

Enfermedades crónicas: Gastrectomía, malabsorción, hepatopatías crónicas, hemopatías malignas, enfermedades inflamatorias (La artritis reumatoide suele acompañarse de osteoporosis).^[8]

El tejido óseo está bajo constante remodelación, reemplazando el hueso viejo por hueso nuevo. La remodelación ósea es llevada a cabo por los osteoclastos que son las células encargadas de la destrucción (resorción) del tejido viejo, y por los osteoblastos, que sintetizan el tejido nuevo.

En la remodelación ósea, la reabsorción y formación ósea están estrechamente acopladas en zonas delimitadas que son llamadas unidades multicelulares básicas (BMUs).^[9]

Formulación del problema

¿Existe alguna respuesta del tejido trabecular óseo y concentración de calcio y magnesio frente a la terapia basada en oxitocina en ratas ovariectomizadas?

Definición de términos

- Oxitocina: es una hormona relacionada con los patrones sexuales y con la conducta maternal y paternal que actúa también como neurotransmisor en el cerebro.
- Ácido Alendrónico: El Ácido Alendrónico se usa para tratar y prevenir la osteoporosis en las mujeres después de la menopausia; así como también en hombres y mujeres que están tomando corticosteroides (un tipo de medicamentos que puede ocasionar osteoporosis en algunas personas).

- Osteoblastos: Son células del hueso, sintetizadoras de la matriz ósea, por lo que están involucradas en el desarrollo y el crecimiento de los huesos. El desarrollo de los osteoblastos se ve influenciado por distintos factores que estimulan su formación como la hormona paratiroidea y la vitamina D. Se encargan del mantenimiento, el crecimiento y la reparación del hueso.
- Osteoclastos: Células responsables de la resorción de la matriz ósea. Los osteoclastos se forman por la fusión de varias células mononucleares derivadas de una célula madre sanguínea de la médula ósea, mostrando muchas propiedades de los macrófagos, formando parte del sistema monocítico macrofágico.

Es decir los osteoclastos son las células encargadas de la destrucción (resorción) del tejido viejo o dañado.

- Analitos: Es el componente (elemento, compuesto o ion) de interés analítico de una muestra. Son especies químicas cuya presencia o concentración se desea conocer. El analito es una especie química que puede ser identificado y cuantificado, es decir, determinar su cantidad y concentración en un proceso de medición química.
- Densitometría ósea: Es una prueba para determinar la densidad mineral ósea.
- Viruta: Es un fragmento de material residual con forma de lámina curvada o espiral que es extraído mediante un cepillo u otras herramientas, tales como brocas, al realizar trabajos de cepillado, desbastado o perforación, sobre madera o metales. Este material es utilizado además para mantener a los roedores del experimento a una temperatura adecuada.

- Ratonina: Alimento balanceado y adecuado para roedores en experimentación.

Objetivos

Objetivo general.

- Determinar la respuesta del tejido trabecular óseo y concentración de calcio y magnesio frente a la terapia con oxitocina en ratas ovariectomizadas (Lima octubre – diciembre del 2013).

Objetivo específico.

- Determinar la respuesta del tejido trabecular óseo y concentración de calcio y magnesio frente a la administración de Oxitocina (10 UI/kg) en ratas ovariectomizadas.
- Determinar la respuesta del tejido trabecular óseo y concentración de calcio y magnesio frente a la administración de Oxitocina (100 UI/kg) en ratas ovariectomizadas.
- Determinar la respuesta del tejido trabecular óseo y concentración de calcio y magnesio frente a la administración de Ácido Alendrónico (2mg/kg) en comparación con la administración de Oxitocina (10UI/kg y 100UI/kg)

Hipótesis

- Hipótesis nula: La oxitocina como terapia en ratas ovariectomizadas no mejora la respuesta del tejido trabecular óseo y la concentración de calcio y magnesio.
- Hipótesis alternativa: La oxitocina como terapia en ratas ovariectomizadas mejora la respuesta del tejido trabecular óseo y la concentración de calcio y magnesio.

CAPITULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de investigación

MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN

Método cuantitativo

TIPO DE INVESTIGACIÓN

Investigación Experimental

POBLACIÓN Y MUESTRA

Población

- 37 Ratas hembras de raza Holtzman de 45 días de edad, con un peso promedio de 132 gramos.

Muestra

- 1 Grupo de Ratas Holtzman ovariectomizadas con administración de oxitocina 10UI/Kg.
→ (08 unid.)
- 1 Grupo de Ratas Holtzman ovariectomizadas con administración de oxitocina 100UI/Kg.
→ (08 unid.)
- 1 Grupo de Ratas Holtzman ovariectomizadas sin administración de medicamento (Control).
→ (07 unid.)
- 1 Grupos de Ratas Holtzman no ovariectomizadas
→ (07 unid.)
- 1 Grupos de Ratas Holtzman ovariectomizadas con administración de ácido Alendrónico (2 mg/kg).
→ (07 unid.)

Unidad de Análisis

- 1 Grupo de Ratas Holtzman ovariectomizadas con administración de oxitocina 10UI/Kg.
- 1 Grupo de Ratas Holtzman ovariectomizadas con administración de oxitocina 100UI/Kg.
- 1 Grupos de Ratas Holtzman ovariectomizadas con administración de Ac. Alendrónico 2mg/kg.
- 1 Grupo de Ratas Holtzman ovariectomizadas sin administración de medicamento.

Unidad de Muestra

Ratas Holtzman Ovariectomizadas

MÉTODO E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Para la investigación se utilizaron 37 ratas hembras de raza Holtzman adquiridas en el Instituto Nacional de Salud (INS), con 45 días de vida y un peso promedio de 132g. Para la investigación, se tuvo en cuenta las normas de mantenimiento del bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde los roedores se encontraron bajo condiciones controladas de temperatura (20°C) y recibieron alimentación balanceada de acuerdo al peso (Ratonina 400 g/kg, adquirido en el INS), agua y viruta diariamente, así como las máximas medidas de limpieza. Así mismo, cabe señalar que cada roedor tuvo su propia jaula con comedero y bebedero individual evitando de esta manera agredirse entre ellas. Los roedores fueron manipulados con cuidados especiales para minimizar el sufrimiento y evitar reducir el número de ratas utilizadas.

Cada roedor fue pesado y agrupado antes de ser ovariectomizadas. Se formaron 5 grupos: Ratas No ovariectomizadas (7), ratas control ovariectomizadas (7), ratas en tratamiento con oxitocina 100 UI/kg (8), ratas en tratamiento con oxitocina 10 UI/kg (8) y ratas en tratamiento con ácido alendrónico (2 mg/kg).

Se realizaron exámenes hematológicos para medir analitos de calcio y magnesio; así como también la histomorfometría de fémur distal y poder valorar la cantidad de condroblastos comprobando si hay o no una mejoría en la remodelación ósea en el grupo objetivo.

PROCEDIMIENTO DE RECOPIACIÓN DE DATOS

Las 37 ratas de raza Holtzman ovariectomizadas bilateralmente, fueron anestesiadas con ketamina (0.2ml) por vía intraperitoneal, este procedimiento estuvo en primer lugar asesorado por nuestra coasesora la doctora Daisy Flores quien nos adiestro en las primeras 5 cirugías, luego empezamos hacer la cirugía a las ratas restantes. Diez días posteriores a la cirugía, se inició la administración de medicamentos a cada grupo. Al grupo de ratas no ovariectomizadas y al grupo de ratas control ovariectomizadas se les administró 1ml/100 g de NaCl 0,9% por vía orogástrica.

El grupo de ratas con tratamiento, se les administrará ácido Alendrónico 10mg/kg (concentración 2mg/Kg) por vía orogástrica, los 2 grupos restantes recibieron Oxitocina (10 UI/ml), de los cuales un grupo recibió Oxitocina 100 UI/kg y el otro Oxitocina 10 UI/kg por vía intradérmica. Cada 10 días se procedió a pesarlas nuevamente para ajustar la dosis. La administración de medicamento se realizó diariamente durante un mes (30 días calendario), en todo el procedimiento un hubo cegamiento porque hubo se conocía el tipo específico de intervención que se le hacía a cada rata, es decir la administración del fármaco específico a cada grupo; además se utilizo la misma marca comercial de oxitocina a todas las ratas de la experimentación.

Las muestras de sangre con fines analíticos se extrajeron 3cc de sangre a cada rata por vía intracardiaca, mediante jeringas (sin heparina), la cual se procedió a centrifugar en el equipo de modelo MX8624 (**Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos**) de 24 tubos de 10ml c/u (16mm x 100mm) con velocidad variable (1000-3400rpm) durante 10 minutos; cuidadosamente se separó y se colocó el suero obtenido en tubos de recolección.

La determinación de Ca^{++} y Mg^{++} en suero se realizó en el Laboratorio hematológico del "**Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé**", mediante el equipo **AGA Electrolitos A15**. Así mismo, se necesitó de los reactivos de calcio arsenazo y del reactivo de magnesio respectivamente para cada ion que fueron adquiridos como donación por la Gerencia General del Laboratorio INMUNOCHEM.

La elaboración de las láminas histológicas se realizó en el laboratorio patológico del **Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé**, bajo el asesoramiento en este procedimiento y apoyo del doctor Manuel Leiva. Los estudios histopatológicos fueron realizados con los fémures distales fijadas en formol neutro al 10 % y descalcificaron con una solución de Citrato de Sodio y Ácido Fórmico; luego se realizó cortes de 5 a 7um de espesor, que fueron coloreados con Hematoxilina–Eosina (H-E), mediante ello se observó los campos para poder observar la cantidad de osteoblastos en cada campo obtenido de las ratas con la terapia de oxitocina y compararlos con la cantidad de osteoblastos de las ratas ovariectomizadas sin terapia de oxitocina.

La Histomorfometría se realizó en el Laboratorio de patología del **Hospital Nacional Amigo de la Madre y el Niño SANTA ROSA**. El microscopio fue calibrado para lograr una buena iluminación, utilizándose una imagen de campo vacío para calibrar la misma. Las imágenes debieron tener al menos una resolución de 640 x 480 pixeles de tamaño y 32 bits de color.

TECNICA DE PROCESAMIENTO DE DATOS

Media Aritmética

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n a_i = \frac{a_1 + a_2 + \dots + a_n}{n}$$

Se utiliza la letra **X** con una barra horizontal sobre el símbolo para representar la media de una muestra (\bar{X}).

En otras palabras, es la suma de **n** valores de la variable y luego dividido por **n**: donde **n** es el número de sumandos, o en el caso de estadística el número de datos.

Desviación Estándar

La desviación estándar o desviación típica (denotada con el símbolo σ o s , dependiendo de la procedencia del conjunto de datos) es una medida de centralización o dispersión para variables de razón (ratio o cociente) y de intervalo, de gran utilidad en la estadística descriptiva.

La desviación estándar es una medida del grado de dispersión de los datos con respecto al valor promedio. Dicho de otra manera, la desviación estándar es simplemente el "promedio" o variación esperada con respecto a la media aritmética.

La desviación estándar (σ) mide cuánto se separan los datos.

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

ANOVA

El análisis de varianza (ANOVA) de un factor nos sirve para comparar varios grupos en una variable cuantitativa. Esta prueba es una generalización del contraste de igualdad de medias para dos muestras independientes. Se aplica para contrastar la igualdad de medias de tres o más poblaciones independientes y con distribución normal. Supuestas “k” poblaciones independientes, las hipótesis del contraste son siguientes:

1. $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$ *Las medias poblacionales son iguales*
2. $H_1: \text{Al menos dos medias poblacionales son distintas}$

Para realizar el contraste ANOVA, se requieren “k” muestras independientes de la variable de interés. Una variable de agrupación denominada factor y clasifica las observaciones de la variable en las distintas muestras, que en esta investigación son los grupos de ratas ovariectomizadas.

CAPITULO III: RESULTADOS

Tabla 1. Valores séricos obtenidos para los diferentes analitos ($\bar{x} \pm DE$)

Parámetros	Control ovariectomizadas	Control No ovariectomizado	Oxitocina 100 UI/kg	Oxitocina 10 UI/kg	Alendronato
	(n=7)	(n=7)	(n=8)	(n=8)	(n=7)
Calcio (mmol/L)	0.58±0.13	0.60±0.31	0.55±0.05	0.62±0.07	0.52±0.04
Magnesio (mmol/L)	2.15±0.30	2.17±0.25	2.13±0.15	2.23±0.40	2.04±0.18

En la Tabla 1, muestra los valores de los analitos determinados en suero sanguíneo. En donde 2 de los grupos con tratamiento se obtuvo una disminución de los valores de calcio y Magnesio en comparación con el grupo control ovariectomizado. Sin embargo se observa un ligero aumento de ambos analitos en el grupo con tratamiento de oxitocina (10UI/kg) en comparación con el grupo control y con los otros dos grupos con medicamento (OVX con oxitocina 100UI/kg y OVX con Ac. Alendrónico 10mg/kg).

Tabla 2. Peso inicial y final de cada lote (gramos)

	Control ovariectomizadas		Control No ovariectomizado		Oxitocina 100 UI/kg		Oxitocina 10 UI/kg		Alendronato	
	(n=7)		(n=7)		(n=8)		(n=8)		(n=7)	
	Día 0	Día 30	Día 0	Día 30	Día 0	Día 30	Día 0	Día 30	Día 0	Día 30
\bar{x}	130.71	232.86	131.43	214.29	133.75	242.50	133.13	215.63	130.71	210.00
DE	8.86	22.88	10.29	18.13	10.26	19.09	11.32	12.94	6.73	20.82
V	78.57	523.71	105.95	328.57	105.36	324.29	128.13	167.41	45.24	433.33

\bar{x} = Media aritmética, DE = Desviación estándar, V = varianza

Con respecto al peso corporal, aumentó en todos los grupos de estudio (Tabla 2), siendo el de mayor aumento en el grupo de oxitocina de 100UI, seguido por el grupo control ovariectomizado. El peso corporal aumentó progresivamente en el grupo de ratas ovariectomizadas, llegando a ser significativo ($p < 0,05$) hacia el final del ensayo. Este aumento de peso se debe a la disminución de estrógenos producto de la ovariectomía, lo cual permite la acumulación de grasa.

Tabla 3. Condroblastos por campo por cada rata separadas por grupos

	Control ovariectomizadas	Control No ovariectomizado	Oxitocina 100 UI/kg	Oxitocina 10 UI/kg	Alendronato
\bar{x}	65.00	79.00	69.67	80.67	81.67
<i>DE</i>	20.30	21.66	8.51	8.02	1.53

\bar{x} = Media aritmética, DE = Desviación estándar

Utilizándose como criterio para descartar la hipótesis nula un límite de confianza del 95 %.El ANOVA halló diferencias significativas con relación al tratamiento en los diferentes grupos de ratas no ovariectomizadas con un mayor número de células osteoblásticas en el grupo al que se le administró oxitocina con 10 UI/Kg.

CAPITULO IV: DISCUSIONES

- En la investigación se demostró que el tratamiento con oxitocina fue muy efectivo con respecto a una osteoporosis causada por los ovarios removidos en ratas en comparación con el Alendronato, puesto que Picot y cols., hicieron una investigación del remplazo hormonal pero con el alendronato, el cual en esta investigación se pudo observar que con el tratamiento de oxitocina hay una mejor remodelación ósea.
- Elabd y cols., presentaron en su investigación que con una terapia oxiótica y un análogo de la oxitocina y demostraron la asociación entre esta terapia y aumento de condroblastos, y en nuestra investigación con las dosis que se estableció (10 UI Y 100 UI de oxitocina). se comprobó que la terapia de la oxitocina tiene una respuesta positiva en cuanto a la remodelación ósea, ya que hay un aumento de osteoblastos.
- Los modelos experimentales que se usaron en esta investigación fueron tomados como ejemplo de los diversas investigaciones como por ejemplo las que hizo Bremm para poder observar los analitos que se encontraban en las ratas de su investigación, además se denota el uso de la técnica de la histomorfometría para poder calcular las osteoblastos de los huesos difásicos que también nos hablan en otra investigación de Bremm, que en estas muestras y con sus respectivos cortes, la muestra obtenida es la mejor para poder obtener un buen resultado.
- En esta experimentación no hubo una suplementación de calcio como se describe en el procedimiento experimental porque se tomó la idea de la investigación de Shirai y su suplementación de calcio en ratas ovariectomizadas, que en un tiempo de experimentación y en una dosis establecida no hubo cambios en la remodelación ósea, por ello no se tomó

una dieta para suplementar el calcio en ratas ovariectomizadas, porque se quería demostrar la remodelación por acción de la oxitocina.

Limitaciones del estudio

Las limitaciones que se pudo encontrar en esta investigación fue la crianza de las ratas que se hizo de manera muy rigurosa, y estableciéndose muy bien el cronograma para no fallar en sus dietas, y el acordar con las diversas instituciones que nos brindaron su ayuda para poder analizar las muestras obtenidas y poder medirlas para obtener el resultado esperado.

CAPITULO V: CONCLUSIONES

- La respuesta del tejido trabecular óseo y concentración de calcio y magnesio con la administración de oxitocina en la investigación se dio de manera positiva, encontrándose que si existe remodelación ósea en las ratas ovariectomizadas, (Tabla 3) además existe un ligero aumento de los analitos (calcio y magnesio) en las ratas a quienes se le suministró la oxitocina. (Tabla 1)
- La respuesta del tejido trabecular óseo y concentración de calcio y magnesio en el grupo de ratas ovariectomizadas con una dosis de 10 UI de oxitocina, se observó que los analitos como el calcio (0.62 ± 0.07) es ligeramente superior al grupo control de ovariectomizadas (0.58 ± 0.13) y las no ovariectomizadas (0.60 ± 0.31), así mismo con el magnesio encontrado en sangre del grupo con una dosis de 10 UI de oxitocina (2.23 ± 0.40) es elevado en comparación a las ovariectomizadas control y las no ovariectomizadas (2.15 ± 0.30 y 2.17 ± 0.25 respectivamente), en el recuento de osteoblastos nos indica que hay un aumento, en las ratas que recibieron un dosis de 10 UI de oxitocina (80.67) en comparación con las ratas control ovariectomizadas y las que no fueron ovariectomizadas (65.00 y 79.00 respectivamente). (Tabla 1 y tabla 3)
- La respuesta del tejido trabecular óseo y concentración de calcio y magnesio en el grupo de ovariectomizadas con una dosis de 100 UI de oxitocina, se observó que los analitos como el calcio (0.55 ± 0.05) es ligeramente inferior al grupo control de ovariectomizadas (0.58 ± 0.13) y las no ovariectomizadas (0.60 ± 0.31), con el magnesio encontrado en sangre del grupo con una dosis de 100 UI de oxitocina (2.13 ± 0.15) es menor en comparación a las ovariectomizadas control y las no ovariectomizadas (2.15 ± 0.30 y 2.17 ± 0.25 respectivamente), en el recuento de osteoblastos nos indica que hay un aumento en las ratas que recibieron un dosis de

100 UI de oxitocina (69.67) en comparación con las ratas control ovariectomizadas (65.00), pero no con el grupo de no ovariectomizadas (79.00 respectivamente). (Tabla 1 y tabla 3).

- La respuesta del tejido trabecular óseo y concentración de calcio y magnesio con administración de ácido alendrónico, con respecto a los analitos de calcio (0.52 ± 0.04) en comparación con las dosis de oxitocina de 10 UI (0.62 ± 0.07) fue menor, pero mayor con respecto a la de 100 UI (0.55 ± 0.05), caso similar con el magnesio en sangre, se encuentra que en aplicación de ácido alendrónico (2.04 ± 0.18), fue menor que con la oxitocina de 10 UI (2.23 ± 0.40) y también con la dosis de 100 UI (2.13 ± 0.15). En la remodelación ósea, con respecto al conteo de osteoblastos el ácido alendrónico (81.67) fue ligeramente mayor en comparación con la dosis de 10 UI (80.67) y mucho mayor con la dosis de 100 UI (69.67). (Tabla 3)
- El peso de las ratas de experimentación en un comienzo, tenían un peso casi similar (110 gramos), pero al final de la experimentación se observó que hubo un aumento del peso en las ratas ovariectomizadas (232.86) pero el peso de las ratas que recibieron una dosis de oxitocina de 10 UI (215.63) fue menor al igual que con el alendronato (210.00) pero se encontró que fue mayor el peso en las que recibieron dosis de 100 UI (242.50). (Tabla 2)
- Es necesario hacer la observación que el grupo de ratas ovariectomizadas con administración de Oxitocina (100UI/kg), no solo fue el grupo que obtuvo un mayor peso, sino que fue de manera incierta el único grupo al que le produjo alopecia en los últimos días de tratamiento.

CAPITULO VI: RECOMENDACIONES

- Incentivar a la investigación con nuevos tratamientos para poder disminuir los índices de osteoporosis a nivel nacional y mundial, así mismo observar el costo efectividad del medicamento, a menor costo será más accesible para nuestro país.
- Profundizar la investigación con aumento de la muestra, en las mismas condiciones para poder plantear definitivamente la dosis exacta de oxitocina que se pueda usar para el tratamiento de la osteoporosis, y obtener resultados óptimos sin efectos secundarios.
- Enfatizar los hallazgos de esta investigación para poder, en un futuro, aplicarlo en seres humanos y así poder disminuir la osteoporosis en el mundo.
- Difundir la información obtenida en la investigación en instituciones que velan por este problema de salud pública, que es la osteoporosis, para poder en un futuro poder investigar los efectos en humanos.

CAPITULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Salazar M, K.** “Osteoporosis: Un Problema Mayor De Salud Pública”, julio. 2008, vol. 17 no. 32 p. 75-79. ISSN 1409 – 1429
2. **Consenso Iberoamericano de Osteoporosis SIBOMM 2009.** “Osteoporosis: Prevención, Diagnóstico y Tratamiento.”
3. **González, L.A, Vásquez, G.M; Molina, J.F.** “Epidemiología de la osteoporosis”. REVISTA COLOMBIANA DE REUMATOLOGÍA VOL. 16 No. 1, Marzo 2009, pp. 61-75. 2009.
4. **Consenso de la Sociedad Norteamericana de Menopausia.** “Manejo de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas”. Revista del climaterio 2008;11(63):111-29.
5. **S. Hazañas Ruiz I., Méndez Perez A., Solano Garcia y M. J. Mora Huzman.** “Estudio Histomorfométrico Del Hueso Diafisario En La Rata”. *RevEspCirOsteoart* 1993; 28: 315-321
6. **Ferrera L.A. Medicina Interna.** 14° Edición 2000. Pag. 1068.
7. **Harrison. Robert Lindsay, Felicia Cosman.** *Medicina Interna.McGraw-Hill,* 2006. Pag.2499
8. **Gonzalo Valdivia C.,** *Epidemiología de la Osteoporosis.Boletín de la Escuela de Medicina.Vol 37. N°1-2, 2008.Universidad Católica de Chile.*
9. **Cárdenas A., Raúl G., Aldrete J.** *Medicina Interna. McGraw-Hill.*Edición 2003. Pag.143
10. **Juliana Mazzonetto T.** “Comparación entre dos protocolos experimentales para promover la osteoporosis es el hueso maxilar y la tibia proximal de ratas” .*Brasil* 2003, 17(4):302-6.

11. Elabd C, Basillais A, Beaupied H, Breuil V, Wagner N, Scheideler M, Zaragosi LE, Massiera F, Lemichez E, Trajanoski Z, Carle G, Euler-Ziegler L, Ailhaud G, Benhamou CL, Dani C, Amri EZ. *“La Oxitocina controla la diferenciación de células madre mesenquimatosas humanas y revierte la osteoporosis”*. Universidad de Niza. Francia, 2010.
12. Brem, J.J.; Trulls, H.E.; LanariZubiaur, A.E.; Ortíz de Rus, L.M.; Pochón, D.O.; Picot, J.A.; Brem, J.C.: *“Osteoporosis experimental en ratas ovariectomizadas: densitometría ósea y concentración de minerales en sangre y cenizas de hueso”*. Rev. vet. 15:2, 56–61, 2004.
13. Patricia M. Mandalunis. *Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires. Actualización en Osteología Vol. 2(1): 16-18, 2006.*
14. Brem, J.J.1; Trulls, H.E.1; Picot, J.A.1; Ortiz de Rus, M.E.1; Lorente, J.A.2; Ortega, H.H.2; Brem, J.C.1. *“Respuesta Del Tejido Óseo Y La Concentración De Minerales En La Terapia De Reemplazo Hormonal En Ratas Ovariectomizadas”*. Rev. vet. 16: 2, 69–73, 2005.
15. Brem, Juan J. - Trulls, Horacio E. - Ortíz de Rus, María L. - Picot, José A. Brem, José C. *“Minerales en sangre y tejido óseo de ratas ovariectomizadas tratadas con Alendronato”*. V-065. Universidad Nacional del Noreste. Argentina 2006.
16. Blanusa M, Bogunović M, Matković V. *“Los Parámetros Cinéticos del Metabolismo del Calcio y la Morfometría Fémur en Ratas. Influencia del Sexo y la Edad”*. Aug; 375 (3):233-8.
17. Laib A, Kumer JL, Majumdar S, Lane NE. *“The temporal changes of trabecular architecture in ovariectomized rats assessed by MicroCT”*. 2001;12(11):936-41.

18. Shirai H, Sato T, Oka M, Hara T, Mori S. *“Effect of calcium supplementation on bone dynamics of the maxilla, mandible and proximal tibia in experimental osteoporosis”*. Vol. 2002; 29:287-94.

ANEXOS

HISTOMORFOMETRÍA

INSTRUMENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS QUE OBTENDRÁ MEDIANTE LA LECTURA DEL NÚMERO DE OSTEÓBLASTOS POR CAMPO EN FÉMUR DISTAL DE RATA.

GRUPO CONTROL OVARECTOMIZADAS

1er campo	2do Campo	3er Campo	4to Campo	5to Campo

GRUPO NO OVARECTOMIZADAS (Con Simulación de Corte)

1er campo	2do Campo	3er Campo	4to Campo	5to Campo

GRUPO CON TTO: OXITOCINA 100 UI/Kg

1er campo	2do Campo	3er Campo	4to Campo	5to Campo

GRUPO CON TTO: OXITOCINA 10 UI/Kg

1er campo	2do Campo	3er Campo	4to Campo	5to Campo

GRUPO CON TTO: ACIDO ALENDRÓNICO 2mg/kg

1er campo	2do Campo	3er Campo	4to Campo	5to Campo

Obs: La lectura se realizará en 5 campos diferentes a los cuales se calculará los promedios aritméticos y desviación estándar por grupo seleccionado. (Tabla 3).

VALORES SÉRICOS QUE SE OBTENDRÁN PARA LOS DIFERENTES ANALITOS.

GRUPO CONTROL OVARECTOMIZADAS					
N°	REGIÓN MARCADA	CÓDIGO	CALCIUM ARSÉNICO	CALCIO IÓNICO	MAGNESIUM
1.1	Pata Posterior Derecha	PPD			
1.2	Oreja Izquierda	OI			
1.3	Lomo	L			
1.4	Pata Delantera Derecha	PDD			
1.5	Pata Posterior Izquierda	PPI			
1.6	Pata Delantera Izquierda	PDI			
1.7	Oreja Derecha	OI			
	\bar{x}				

GRUPO NO AVARECTOMIZADAS (Con Simulación de Corte)					
N°	REGIÓN MARCADA	CÓDIGO	CALCIUM ARSÉNICO	CALCIO IÓNICO	MAGNESIUM
2.1	Lomo	L			
2.2	Pata Posterior Izquierda	PPI			
2.3	Cabeza	CA			
2.4	Pata Delantera Izquierda	PDI			
2.5	Blanco	B			
2.6	Cola	CO			
2.7	Pata Posterior Derecha	PPD			
	\bar{x}				

N°	REGIÓN MARCADA	CÓDIGO	CALCIUM ARSÉNICO	CALCIO IÓNICO	MAGNESIUM
3.1	Lomo	L			
3.2	Pata Delantera Derecha	PDD			
3.3	Pata Delantera Izquierda	PDI			
3.4	Blanco	B			
3.5	Cola	CO			
3.6	Pata Posterior Derecha	PPD			
3.7	Pata Posterior Izquierda	PPI			
3.8	Cabeza	CA			
	\bar{x}				

N°	REGIÓN MARCADA	CÓDIGO	CALCIUM ARSÉNICO	CALCIO IÓNICO	MAGNESIUM
4.1	Blanco	B			
4.2	Cola	CO			
4.3	Oreja Izquierda	OI			
4.4	Oreja Derecha	OD			
4.5	Pata Posterior Izquierda	PPI			
4.6	Pata Delantera Izquierda	PDI			
4.7	Pata Delantera Derecha	PDD			
4.8	Cabeza	CA			
	\bar{x}				

N°	REGIÓN MARCADA	CÓDIGO	CALCIUM ARSÉNICO	CALCIO IÓNICO	MAGNESIUM
5.1	Cola	CO			
5.2	Lomo	L			
5.3	Blanco	B			
5.4	Cabeza	CA			
5.5	Pata Delantera Izquierda	PDI			
5.6	Oreja Derecha	OD			
5.7	Oreja Izquierda	OI			
	\bar{x}				

\bar{x} : Media Aritmética

Obs.: Una vez obtenido los resultados, se calculará los promedios y desviación estándar (Tabla 1).