



**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 regenerador óseo del extracto acuoso liofilizado  
de hojas de “*Aloe vera*” (sábila) sobre la osteotomía  
mandibular inducida en cobayo**

**TESIS**

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

**AUTOR**

César Ivanovich FRANCO QUINO

**ASESOR**

Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Lima, Perú

2016



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

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

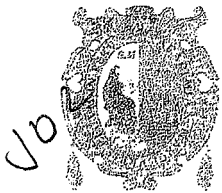
Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan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

## Referencia bibliográfica

---

Franco C. Efecto regenerador óseo del extracto acuoso liofilizado de hojas de “*aloe vera*” (sábila) sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2016.

---



# 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

12  
2(2)  
60

Siendo las 8:00 a.m. del 27 de abril de 2016 se reunieron en la sala de profesores del Decanato de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador de tesis, presidido por el Dr. Víctor Luis Izaguirre Pasquel e integrado por los siguientes miembros: Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (Asesor) Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera, Dr. Víctor Manuel Chumpitaz Cerrate, Mg. Karim Lizeth Jiménez Aliaga; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **“EFECTO REGENERADOR ÓSEO DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE HOJAS DE “ALOE VERA” (SÁBILA) SOBRE LA OSTEOTOMÍA MANDIBULAR INDUCIDA EN COBAYO”** presentado por el Bachiller en Odontología **CÉSAR IVANOVISH FRANCO QUINO**.

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 el graduando.

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

*Diecinueve (19) - Excelente*

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Bachiller en Odontología **CÉSAR IVANOVISH FRANCO QUINO**, el Grado Académico de **Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental**.

Se extiende el acta en Lima, a las *9:30* hrs. del 27 de abril de 2016.

Siendo las *10:00* hrs. se levanta la sesión.

Dr. Víctor Luis Izaguirre Pasquel (P.P., T.P. 20H) Presidente

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

Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera (P.P. T.C.) Miembro

Dr. Víctor Manuel Chumpitaz Cerrate (Aux. T.C.) Miembro

Mg. Karim Lizeth Jiménez Aliaga (Aux. T.C.) Miembro

Observaciones:

**A Dios,**

Por guiar nuestras vidas,  
al permitir enlazar y compartirla  
con personas maravillosas.

**A mis padres, Maximiliana y Sebastian:**

Gracias por inculcarme valores con el ejemplo;  
por el apoyo, cariño y confianza incondicional.

**A mis abuelos, Maxi y Germán:**

Por el infinito cariño y los sabios consejos.

**A mis hermanas Lizbeth, Vicky:**

Por los grandes momentos de alegría.

**A mis amigos**

Por motivarme a seguir adelante pese a las dificultades.

**A la UNMSM**

Por los mejores años de mi vida,  
por permitirme conocer personas maravillosas.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi asesor, Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo, docente principal de la cátedra de Farmacología en la Facultad de Medicina Humana – UNMSM; por su amistad, valiosa asesoría y dedicación en la elaboración del presente proyecto.

Al Dr. Victor Manuel Chumpitaz Cerrate, docente auxiliar de la cátedra de Farmacología en la Facultad de Odontología – UNMSM e Investigador Titular de la CSI-UNMSM, por su amistad y apoyo brindado durante el desarrollo de la presente investigación.

Al Dr. Victor Luis Izaguirre Pasquel, docente principal en la Facultad de la Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM, por las sugerencias en la redacción de la presente investigación.

Al C.D. Esp. Adrian Mallma Medina, profesor auxiliar de la cátedra de Patología e Histología en la Facultad de Odontología – UNMSM, por su amistad y el apoyo brindado durante el desarrollo de la presente investigación.

Al C.D. Eliberto Ruiz Ramirez, docente en la Facultad de Odontología – UNMSM, por su amistad y el apoyo brindado durante el desarrollo de la presente investigación.

Al Q.F. Miguel Abregu Flores, Jefe de producción en Laboratorios Médico-Biológicos H. Colichón SAC por brindarnos las facilidades en la preparación y liofilización de la muestra.

A los miembros del Jurado examinador y evaluador.



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

Resumen	i
Abstract	ii
<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN</b>	<b>01</b>
1.1. Situación problemática	01
1.2. Formulación del problema	02
1.3. Hipótesis	02
1.4. Justificación	02
1.4.1. Justificación teórica	02
1.4.2. Justificación práctica	03
1.5. Objetivos	04
1.5.1. Objetivo general	05
1.5.2. Objetivos específicos	05
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b>	<b>06</b>
2.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación	06
2.2. Antecedentes de la investigación	06
2.3. Bases teóricas	09
2.3.1. Cicatrización	09
2.3.2. Cicatrización de tejido blando	10
2.3.3. Cicatrización ósea	12
2.3.4. <i>Aloe vera</i>	15
2.3.4.1. Taxonomía	15
2.3.4.2. Variedades	15
2.3.4.3. Principios activos	16
2.3.5. Bifosfonatos	16
2.3.5.1. Alendronato	16
2.3.5.2. Mecanismo de acción	16
2.3.5.3. Indicaciones	17
2.4. Definición de términos	17

CAPÍTULO III: Metodología	18
3.1. Tipo de estudio	18
3.2. Diseño de investigación	18
3.3. Unidad de análisis	18
3.4. Población de estudio	18
3.5. Tamaño de la muestra	18
3.6. Selección de la muestra	18
3.7. Técnicas de recolección de datos	19
3.7.1. Preparación del extracto acuoso de <i>Aloe vera</i>	19
3.7.2. Diseño experimental	19
3.7.3. Método de inducción de osteotomía	20
3.7.4. Método de obtención de biopsias quirúrgicas	21
3.7.5. Procesamiento de muestras	21
3.7.6. Método del recuento celular por campo	21
3.7.7. Método de la cuantificación de los niveles de fosfatasa alcalina	21
3.8. Consideraciones éticas	21
3.9. Análisis e interpretación de datos	22
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	23
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	37
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	42
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	43
CAPITULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXOS	51

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Pruebas de normalidad de la regeneración ósea en osteotomía mandibular en cobayo.	24
<b>Tabla 2:</b> Recuento de linfocitos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	25
<b>Tabla 3:</b> Recuento de osteoblastos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	27
<b>Tabla 4:</b> Niveles de fosfatasa alcalina posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	29
<b>Tabla 5:</b> Recuento de osteoclastos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	31
<b>Tabla 6:</b> Recuento de fibroblastos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	33
<b>Tabla 7:</b> Recuento de osteocitos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	35

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Comparación del recuento de linfocitos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	26
<b>Figura 2:</b> Comparación del recuento de osteoblastos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	28
<b>Figura 3:</b> Comparación de los niveles de fosfatasa alcalina posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	30
<b>Figura 4:</b> Comparación del recuento de osteoclastos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	32
<b>Figura 5:</b> Comparación del recuento de fibroblastos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	34
<b>Figura 6:</b> Comparación del recuento de osteocitos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.	36

## **LISTA DE ANEXOS**

Anexo 1: Taxonomía del <i>Aloe vera</i> .	52
Anexo 2: Procedimiento quirúrgico para la osteotomía mandibular en cobayo.	53
Anexo 3: Evaluación histológica de la osteotomía mandibular en cobayo.	55
Anexo 4 : Operacionalización de variables.	60

## RESUMEN

**Introducción:** El acemanano presente en las hojas de *Aloe vera*, es un polisacárido que posee una gran actividad en la regeneración celular y modulación del sistema inmune. **Objetivo:** Determinar el efecto regenerador óseo del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Aloe vera* (Sábila) sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo. **Diseño:** Experimental. **Lugar:** Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina Humana - UNMSM. **Intervenciones:** Se utilizó 40 cobayos machos con un peso corporal  $1000 \pm 120$ g, se formó 5 grupos aleatoriamente de 8 animales; grupo I: Suero fisiológico al 0,9% (2mL/kg), grupo II: alendronato (0.5mg/kg), los grupos III, IV y V: extracto acuoso liofilizado de hojas de *Aloe vera* a dosis de 50mg/kg, 250mg/kg y 500mg/kg, respectivamente. Los cobayos fueron sometidos a osteotomía mandibular unilateral. **Principales medidas de resultados:** Recuento de células por campo, niveles de fosfatasa alcalina. **Resultados:** Se evidencia incremento significativo de fosfatasa alcalina, osteoclastos y osteocitos ( $p < 0,05$ ) a los 15 y 30 días en los grupos que recibieron alendronato y *Aloe vera*; también aumento de fibroblastos a los 15 días en los grupos III y IV; no se encontró diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) en el recuento de linfocitos ni osteoblastos a los 15 y 30 días. **Conclusiones:** El extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* posee efecto regenerador óseo.

**Palabras clave:** Regeneración ósea, *Aloe vera*, alendronato

**ABSTRACT**

**Introduction:** The acemannan present in the leaves of *Aloe vera*, is a polysaccharide having a high activity in cell regeneration and modulating the immune system. **Objective:** To determine bone regenerative effect of the lyophilized aqueous extract of leaves of *Aloe vera* on the mandibular osteotomy induced in guinea pigs. **Design:** Experimental. **Location:** Laboratory of Pharmacology, Faculty of Human Medicine - UNMSM. **Interventions:** 40 male guinea pigs was used with a  $1000 \pm 120$ g body weight, 5 groups of 8 animals randomly formed; Group I: 0.9% physiological saline (2mL/kg), group II: Alendronate (0.5mg/kg), the groups III, IV and V: lyophilized aqueous extract of *Aloe vera* leaves at doses of 50mg/kg, 250mg/kg and 500mg/kg respectively. The guinea pigs were undergoing unilateral mandibular osteotomy. **Main outcome measures:** Count cells per field, and alkaline phosphatase levels. **Results:** Significant increase in alkaline phosphatase, osteoclasts and osteocytes ( $p < 0.05$ ) at 15 and 30 days in the groups receiving alendronate and *Aloe vera* is evident; fibroblasts also increased to 15 days in groups III and IV; no significant difference ( $p > 0.05$ ) was found in the lymphocyte count or osteoblasts at 15 and 30 days. **Conclusions:** The dried aqueous extract of *Aloe vera* has bone regenerative effect.

**Keywords:** Bone regeneration, *Aloe vera*, alendronate

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Situación problemática

El hueso es un tejido con capacidad de regenerarse completamente, se encuentra en un proceso dinámico de remodelación, el cual consiste en la reabsorción ósea y posterior aposición ósea, son mediados por los osteoclastos y osteoblastos, respectivamente (Raja et al., 2016); la regeneración ósea comprende 3 etapas: inflamatoria, reparativa y de consolidación (Peral et al., 2008); durante este proceso participan células, matriz extracelular y señales osteoinductivas (Fernandez et al., 2006); asimismo, la fase inflamatoria está asociada a una hipoxia tisular local que estimula la migración de fibroblastos, células endoteliales, células inmunitarias, macrófagos; favoreciendo la formación de callo óseo blando (Elbackly et al., 2014).

Los procesos infecciosos, traumatismos o resecciones oncológicas producen defectos óseos, generando problemas funcionales y estéticos; por ello se ha estudiado diversas técnicas como distracción ósea, colgajos vascularizados, o aplicación de biomateriales (Peral et al., 2008); asimismo, la regeneración ósea posterior a una fractura u osteotomía, incrementa los mecanismos de formación ósea donde participan principalmente células osteoprogenitoras y osteoblastos; la capacidad regenerativa puede ser determinada mediante el diagnóstico del campo, recuento de células; así como pruebas de densitometría ósea (Aguirre E., 2013).

Para el tratamiento de enfermedades óseas, con frecuencia se utiliza agentes desarrollados para la osteoporosis (Orwoll et al., 2014), principalmente los que incrementan la masa y la densidad cortical como los bifosfonatos y suplementos de calcio – vitamina D (Lupsa et al., 2015); asimismo, la calcitonina participa en la homeostasis del calcio, inhibiendo la reabsorción ósea (Turner et al., 2011).

En este contexto la regeneración ósea es un proceso extendido donde participan células y factores de señalización, que favorezcan la reparación y regeneración; para ello se requiere reducción en el rechazo tisular, reducción



de la inflamación, inducción de las células madre, estimula la angiogénesis y permitir la maduración y formación mineral (Perez et al., 2015).

## **1.2. Formulación del problema**

¿Cuál es el efecto del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Aloe vera* (Sábila) en la regeneración ósea sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo?

## **1.3. Hipótesis**

El extracto acuoso liofilizado de hojas de *Aloe vera* presenta efecto regenerador óseo sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo

## **1.4. Justificación teórica**

El *Aloe vera* presenta entre sus componentes vitaminas como A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C, E; minerales como calcio, magnesio, sodio, potasio, zinc, entre otros; asimismo, contiene azúcares complejos como los mananos; aminoácidos, polifenoles (Alarcón et al., 2013); antraquinonas (Franco et al., 2016) cromonas, fitosteroles, lectinas, saponinas, terpenoides, así como la enzima superóxido dismutasa presente en el gel y la hoja (Mulay et al., 2013).

El *Aloe vera* desempeña un papel importante en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades: insomnio, quemaduras, colitis ulcerosa, psoriasis y cicatrización de heridas (Matti et al., 2010); actividad antiséptica (Mulay et al., 2013); además, se atribuye que el gel del *Aloe vera* posee efectos antiinflamatorios, favorece la fibroplasia, síntesis y maduración de colágeno (Chithra et al., 1998).

El acemanano es un polisacárido presente en las hojas del *Aloe vera* (Bone et al., 2013), posee potente actividad en la regeneración celular y modulación del sistema inmune (Alonso et al., 2012), estimula la proliferación de los fibroblastos y el factor de crecimiento de endotelio vascular, de esta manera acelera la tasa de reepitelización (Alarcón et al., 2013); asimismo, el acemanano estimula la regeneración del hueso alveolar, cemento y ligamento periodontal en defectos óseos maxilares y mandibulares, al incrementar la proliferación celular, producción del factor 5

de crecimiento–diferenciación, colágeno tipo I y la actividad de fosfatasa alcalina (Radha et al., 2015).

Estudios *in vitro* con acemanano indican incremento en la proliferación de células estromales de médula ósea, incremento del factor de crecimiento de endotelio vascular y proteína morfogenética (BMP-2), aumento en la actividad de la fosfatasa alcalina; favoreciendo la diferenciación de osteoblastos (Boonyagul et al., 2012); además, el acemano está implicado en la expresión de proteínas no colágenas como la sialoproteína ósea, osteonectina, osteocalcina y osteopontina, componentes importantes de la matriz extracelular (Chantarawatit et al., 2013); de esta manera, el acemanano regularía la diferenciación de osteoblastos y la síntesis de matriz extracelular favoreciendo la regeneración ósea en modelos *in vivo*.

La presencia de electrolitos y sales inorgánicas como sodio, potasio, calcio, magnesio, cobre, zinc, hierro; presentes en el gel, son esenciales en la curación de heridas; así como las vitaminas A, C, E, le confieren capacidad antioxidante, siendo importantes en la reducción de la inflamación de las heridas; asimismo, la vitamina C es necesaria para la síntesis de colágeno (Mulay et al., 2013); la alantoína del gel de *Aloe vera* favorece la angiogénesis, proceso que se produce durante la fase reparativa e indispensable para la formación del callo óseo (Bone et al., 2013); la aloesina, es un compuesto del *Aloe vera* que pertenece a la familia de las cromonas, participa en la actividad antiinflamatoria e inhibición de la actividad de la tirosina quinasa (Mulay et al., 2013); además, la presencia de antraquinonas favorece su actividad anticancerígenas (Devaraj et al., 2011)

Por tanto, la presencia de metabolitos presentes en el *Aloe vera* hace presumir que puede favorecer el proceso de regeneración ósea; pues se requiere de acciones antiinflamatorias, inmuno-moduladoras y antioxidantes (Matti et al., 2010).

### **1.5. Justificación práctica**

Debido a la frecuencia de patologías óseas como la osteoporosis que presentan alta incidencia de fracturas de fémur y cadera (Miraval et al.,

2001), fracturas de paleta de húmero en niños (Bermudez, 2002), neoplasias como el mixoma, que generan defectos óseos y requieren tratamiento quirúrgico (Hirai et al., 2014), es necesario el uso de terapias complementarias que faciliten la regeneración ósea.

La reconstrucción de defectos óseos, en pacientes que sufrieron traumatismo severo, resecciones de tumores o deformidades congénitas, representa un reto para el cirujano debido a las complicaciones (Allais et al., 2015), en diversas áreas médicas: traumatología, periodoncia, cirugía de cabeza y cuello, cirugía buco-máxilo facial, oncología provocando problemas funcionales y estéticos (Peral et al., 2008), considerando que el injerto de hueso autógeno, es el tratamiento estándar, incrementa la morbilidad del sitio donador (Allais et al., 2015), se ha tratado de reducir los riesgos con el uso de biomateriales de reemplazo, recubrimiento a base de fosfato de calcio (Dadsetan et al., 2015), terapia laser de baja intensidad combinada con el uso de células mesenquimales (Fekrazad et al., 2015), uso de proteínas morfogenéticas BMP-7 (Mantipragada et al., 2016); sin embargo, estos tratamientos representan costos elevados; asimismo, la terapia es prolongada, por lo que se busca reducir el tiempo de reparación ósea para disminuir el tiempo del tratamiento y con ello minimizar costos en hospitalización y medicación.

Del mismo modo, las terapias con bifosfonatos son utilizados principalmente como tratamiento de la osteoporosis, la enfermedad de Paget, metástasis óseas en patologías oncológicas como mieloma múltiple; están asociados con la osteonecrosis en terapias prolongadas (Picardo et al., 2015); por ello se busca alternativas terapéuticas que favorezcan el incremento de masa ósea sin generar mayores complicaciones.

## **1.6. Objetivos**

### **1.6.1. Objetivo general:**

Evaluar el efecto regenerador óseo del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Aloe vera* (Sábila) sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo.

**1.6.2. Objetivos específicos:**

-Evaluar el infiltrado inflamatorio crónico por recuento de linfocitos sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo.

-Evaluar la reparación ósea por recuento de osteoblastos sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo.

-Evaluar la reparación ósea por cuantificación de los niveles de fosfatasa alcalina sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo.

-Evaluar la reparación ósea por recuento de osteoclastos sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo.

-Evaluar la reparación ósea por recuento de fibroblastos sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo.

-Evaluar la consolidación ósea por recuento de osteocitos sobre la osteotomía mandibular inducida en cobayo.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Marco epistemológico y filosófico

El *Aloe vera* es una de las plantas terapéuticas más utilizadas en el mundo debido a su hábitat generalizada (Mulay et al., 2013), muchas de sus propiedades biológicas fueron aportadas por el gel y las hojas; se le atribuye propiedades medicinales antitumorales, anticancerígenos, antiartríticos, antireumatoideos y moduladores en deficiencias del sistema inmune (Radha et al., 2015); se ha pretendido estudiar el efecto regenerador óseo mediante el método científico por medio de la experimentación, siguiendo el razonamiento inductivo, la corriente filosófica del Positivismo lógico, supone que la observación de la realidad o la experimentación proporcionan conocimientos; con ello permite la consolidación de la ciencia (Keuth, 2015).

### 2.2. Antecedentes de la investigación

Gonzales et al. (2002) estudiaron la capacidad estimulante del extracto de *Aloe barbadensis* en la cicatrización de fracturas experimentales en tibia de ratas; tuvo como objetivo evaluar los niveles de hemoglobina, calcio y fosforo sérico; administró el extracto de *Aloe barbadensis* vía subcutánea durante 21 días, demostrando un aumento de hemoglobina, reducción de calcio y fósforo sérico dependiente de la dosis administrada; asimismo, en relación a la calidad ósea, el *Aloe barbadensis* mejoró la cicatrización ósea en fracturas cerradas (Gonzales et al., 2002).

Sarkar et al. (2005) realizaron un estudio sobre el efecto del *Aloe vera* en la producción de óxido nítrico por macrófagos durante la inflamación; tuvo como objetivo demostrar el mecanismo del extracto acuoso de *Aloe vera* en modelos de inflamación aguda y crónica, se utilizó los modelos de inflamación aguda inducida por carragenina e inflamación crónica con solución de Freud, la producción de óxido nítrico a partir de los macrófagos peritoneales. Demostraron la reducción en la producción de óxido nítrico por parte de macrófagos peritoneales además de un mayor efecto sobre inflamación aguda (Sarkar et al., 2005).

Maenthaisong et al. (2007) realizaron una revisión sistemática (1918-2004) para determinar la eficacia del *Aloe vera* tópico en el tratamiento de quemaduras; basado en el meta-análisis y de acuerdo a la duración de la cicatrización de la herida, refiere que hay evidencia para afirmar que el *Aloe vera* es efectiva en la cicatrización de quemaduras de primer y segundo grado (Maenthaisong et al., 2007).

Hamman (2008) realizó un estudio de revisión sobre la composición y aplicación del gel del *Aloe vera*; tiene por objetivo resaltar las aplicaciones recientes, además de las propiedades ya conocidas tales como cicatrizantes, hipoglicemiantes, antioxidantes, inmunomoduladoras, protectores gástricos; se añaden propiedades que favorecen la absorción intestinal y biodisponibilidad de compuestos co-administrados; además como excipiente para permitir la liberación sostenida (Hamman, 2008).

Gala et al. (2008) realizaron un estudio sobre el efecto del *Aloe vera* en tejido pulpar en ratas; tuvo como objetivo evaluar el efecto cicatrizante y estimulador *in vivo* del polvo liofilizado de *Aloe vera* en la formación de dentina reparativa de tejido pulpar en ratas comparado con hidróxido de calcio; la exposición fue mecánica, el polvo liofilizado se depositó de manera local en la pulpa dentaria expuesta; se realizó las lecturas histológicas a los 1, 7, 14, 21 días, observó que el *Aloe vera* estimula la formación de dentina reparativa con menor necrosis superficial de la pulpa cicatrizante, demostrando una mejor biocompatibilidad que el hidróxido de calcio (Gala-García et al., 2008).

Jia et al. (2008) realizaron un estudio sobre los efectos del *Aloe ferox Miller* y *Aloe arborescens Miller* en la cicatrización de heridas, tuvo como objetivo evaluar de manera cualitativa la capacidad regenerativa y cicatrizante de 2 especies de *Aloe*: *Aloe ferox Miller* y *Aloe arborescens Miller*; el estudio se realizó en lesiones lineales cutáneas en ratas y lesión de sacabocado en conejos, además de tejidos sanos con el fin de evaluar la toxicidad e irritación; ambos grupos recibieron tratamiento tópico de 2 ml de *Aloe* de cada especie según corresponda; evaluaron en la escala de 1-5 las características de la lesión, tales como: bordes, socavado, color, exudado,

edema, induración periférica y grado de epitelización. Concluyen que ambas especies de *Aloe* preparadas de la hoja entera poseen propiedades terapéuticas, facilitando la cicatrización de heridas sin efectos secundarios sobre la piel (Jia et al., 2008).

Vadillo (2009) realizó un estudio comparativo de la respuesta tisular al relleno alveolar a base de *Aloe vera* – *Croton lechleri*, en alveolos post exodoncia en incisivos de *Cavia porcellus* con el objetivo de determinar el relleno alveolar que favorece la respuesta tisular en alveolos post exodoncia en incisivos de *Cavia porcellus*. Evaluó la respuesta celular inflamatoria, recuento de fibroblastos y organización del colágeno mediante lecturas histológicas en los 1, 7, 21, 28 días; concluyendo que hubo una respuesta tisular favorecida por incremento del tejido osteoide, además de fibroblastos y fibras colágenas al día 28 (Vadillo, 2009).

Bhattacharya et al. (2011) realizaron una revisión etno-farmacológica del *Aloe vera barbadensis*, con el objetivo de brindar detalles sobre sus propiedades tradicionales, fitoquímicos y farmacológicos. Concluyen que los principios activos farmacológicos se encuentran en el gel y la corteza de las hojas; los cuales han demostrado tener efecto analgésico, antiinflamatorio, antioxidante y anticancerígeno; además de ser eficaces en diversos tratamientos; como las quemaduras, artritis reumatoide, diabetes, enfermedades de la piel, entre otras (Bhattacharya et al., 2011).

Vijayalakshmi et al. (2012) estudiaron la capacidad antiinflamatoria *in vitro* en la regulación inhibición de las metaloproteasas de la matriz (MMP-9) en células mononucleares de sangre periférica; mediante el método de zimografía de gelatina. Determinó la inhibición de la producción de MMP-9 en células mononucleares, la cual fue corroborada por la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) (Vijayalakshmi et al., 2012).

Chantarawatit et al. (2013) realizaron un estudio *in vitro* para evaluar la estimulación del acemanano sobre la expresión sialoproteínas óseas, osteocalcina, osteopontina y osteonectina en células del ligamento periodontal; las cuales fueron sembradas durante 6 días; los datos fueron

obtenidos por reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), aislamiento de ARN y análisis de western blot; los resultados muestran una mayor proliferación celular significativa a una concentración de 0.5 -0.8 mg/mL en comparación con el control; además de una mayor proliferación de mRNA sialoproteína ósea, osteopontina y osteonectina (Chantarawatit et al., 2013).

Rahman et al. (2014) evaluaron el efecto antiinflamatorio del extracto acuoso y alcohólico de *Colchicum luteum*, *Aloe vera*, *Zingiber officinali*, para el tratamiento de artritis inducida por el adyuvante de Freud en ratas albinas, cuyos indicadores fueron el volumen de la pata, el espesor del tobillo y la formación de esclerosis ósea; determinaron una reducción significativa de volumen y espesor de la articulación del tobillo comparado con el grupo control; sin diferencias con el grupo que recibió diclofenaco; además se observó una esclerosis mínima en el grupo tratado con el extracto el cual fue comparado con el grupo control; por ello, concluyeron que el extracto posee actividad antiartrítica significativa (Rahman et al., 2014).

## **2.3. Bases teóricas**

### **2.3.1. Cicatrización**

La cicatrización es el proceso de reemplazo de un tejido dañado a uno nuevo, está asociada la inflamación, incluye una serie de reacciones mediada por citocinas, neutrófilos, moléculas de adhesión, complementos e IgG; los capilares del área afectada incrementan la permeabilidad y con ello la participación de los monocitos y linfocitos (Vadillo Palacios, 2009). El factor Nuclear kB (NF-kB) participa en la respuesta inflamatoria, se encuentra en el citoplasma de las células unido a IκBa de forma inactiva, la cual mediante citocinas, virus y oxidantes se activan, expresando la porción NF-kB e ingresa al núcleo para estimular la producción de mediadores de la inflamación; la participación de glucocorticoides inhiben la activación del NF-kB incrementando la forma inactiva IκBa (Ganong, 2010).

#### *2.3.1.1. Cicatrización de primera intención*

Los márgenes de la herida están unidos, presentan afrontamiento de los bordes; con o sin suturas, no presentan pérdida de tejido, son continuos por



lo que son recolocados en posición exacta; por ello, requiere menor tiempo de recuperación con menor síntesis de colágeno como la reducción de fracturas, y reposición de colgajos (Vadillo, 2009).

#### *2.3.1.2. Cicatrización de segunda intención*

Los márgenes de la herida no son afrontados debido a una pérdida de tejido; provocando la formación de tejido de granulación, de manera espontánea; el tejido de granulación es rico en proliferación conjuntiva y vascular (Vadillo, 2009), requiere de gran migración celular, formación de colágeno, contracción y remodelación de evolución lenta, en ella se encuentran las fracturas reducidas pobremente, los defectos óseos o quirúrgicos y lesiones con pérdida de tejido (Peral et al., 2008).

#### **2.3.2. Cicatrización de tejido blando**

La cicatrización de tejido blando se produce mediante la adherencia de plaquetas a la matriz expuesta, mediante integrinas que se adhieren al colágeno y laminina; la producción de trombina, producto de la coagulación estimula la agregación y liberación de gránulos plaquetarios que inducen una respuesta inflamatoria; las selectinas atraen la migración leucocitaria, las cuales se unen al endotelio para su posterior migración y extravasación; asimismo, las plaquetas y leucocitos liberan citocinas que aumentan las integrinas de los macrófagos, fibroblastos y células epiteliales, las cuales migran al tejido afectado y median la formación de la cicatriz; la plasmina elimina el exceso de fibrina y favorece la migración de queratinocitos hacia la herida para regenerar el epitelio bajo la costra, de esta manera, favorece la proliferación de colágeno y formación de la cicatriz (Ganong, 2010).

**a. Fase inflamatoria:** La inflamación es una respuesta de protección a la lesión tisular ocasionada por causas físicas, químicas o estímulos microbiológicos; implica la activación de diversos mediadores y señalizadores; prostaglandinas, leucotrienos y factor activador de plaquetas (Sarkar et al., 2005).

La inflamación es la primera fase de la cicatrización, en ella participan elementos vasculares y celulares, ocurre luego de la pérdida de la continuidad de los tejidos durante 5 días; la desorganización de tejidos

activa el Factor de Hageman (XII) e inicia la cascada de coagulación; asimismo, incrementa la permeabilidad vascular mediada por bradicinina y el sistema de complemento (C3a, C5a); las prostaglandinas y fosfolipasas actúan como mediadores de la inflamación; el incremento vascular junto a la Interleucina-1 (IL-1) y factores de necrosis tumoral (TNF) incrementan la adherencia de los neutrófilos hacia las células endoteliales permitiendo la diapedesis; al cabo de 6-12 horas, los neutrófilos, primeras células en migrar, impiden la infección al fagocitar microorganismos y liberan proteasas y enzimas lisosómicas dependientes de oxígeno (Vadillo, 2009); la respuesta de los neutrófilos es indispensable en procesos cicatrizales sépticos o susceptibles de serlo, no son indispensables en el proceso de cicatrización aséptica (Wilgus, 2008).

La respuesta celular es continuada por los macrófagos, que cuentan con un mayor tiempo de vida, son importantes en la fase tardía de inflamación para la fagocitosis; liberan quimiotácticos y factores de crecimiento para fibroblastos y células epiteliales; la presencia de macrófagos activados es indispensable para el depósito de colágeno, pues abastece sustratos como aminoácidos y azúcares (Vadillo, 2009); los principales mediadores inflamatorios derivados de los macrófagos son el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) y los radicales libres de óxido nítrico, sintetizado por la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOs), moduladores importantes en la inflamación (Sarkar et al., 2005).

Asimismo, la histamina cumple un rol importante en la inflamación, causa vasodilatación local y salida de mediadores de la inflamación aguda (Proteína C reactiva, sistema de complementos y anticuerpos); la histamina atrae por quimiotaxis a células inflamatorias e inhibe la liberación de lisosomas en linfocitos B y T (Katzung, 2010).

**b. Fase de granulación:** La fase de granulación comprende del 3–4 día hasta la reepitelización, es mediada principalmente por macrófagos y fibroblastos, produce gran formación de neovasos en una superficie aun desorganizada y edematosa, aun presenta mallas de fibrina (Vadillo, 2009).

**c. Fase de formación de la matriz:** Los fibroblastos son indispensables en la fase para la formación de la matriz (Vadillo, 2009), la proliferación fibroblástica permite la formación de colágeno, proteoglicanos y

glicoproteínas, fibronectina, glucosaminoglucanos, colagenasa (Wilgus, 2008); los fibroblastos aparecen 2 días después de ocurrida la lesión, los factores de crecimiento derivado de plaquetas y los macrófagos estimulan la proliferación fibroblástica y posterior síntesis de colágeno; así como la fibronectina favorece la migración de los fibroblastos (Vadillo, 2009).

**d. Fase de remodelación:** representa la última fase de la cicatrización de las heridas; pero se inicia junto a la fase de granulación y persiste durante meses (Vadillo, 2009), la remodelación finaliza la etapa proliferativa del incremento de fibroblastos para posteriormente remodelar y formar un tejido cicatrizal maduro (Wilgus, 2008); la remodelación del colágeno es lenta y continua, depende de la síntesis y degradación del colágeno (Vadillo, 2009).

**e. Reemergencia epitelial:** Representa el proceso continuo de la cicatrización, se inicia en las primeras horas luego de la lesión, por migración de células epiteliales del margen de la herida; durante la migración, las células basales pierden sus desmosomas intercelulares; la migración celular persiste hasta la aposición de los bordes epiteliales e inicia la proliferación epitelial con gran actividad mitótica; las células migran hacia una matriz temporal rica en fibrina, fibronectina, elastina, colágeno tipo I y III; así como, los queratinocitos depositan su propia matriz que contiene fibronectina *in situ*, colagenasa, activador de plasminógeno, y colágeno tipo V (Vadillo, 2009).

### 2.3.3. Cicatrización ósea

El tejido óseo, desde un punto de vista histológico, es un tejido conjuntivo mineralizado muy vascularizado e innervado, formado por laminillas de matriz osteoide calcificada; el hueso cortical está formado por conductos de Havers recubiertos por laminillas concéntricas a los osteocitos; a diferencia del hueso trabeculado o esponjoso donde las laminillas están ubicada en forma de red en cuyo interior se encuentra la médula, rica en células germinales (Fernandez et al., 2006); el tejido óseo está compuesto por elementos orgánicos e inorgánicos; la parte orgánica principalmente por colágeno tipo I junto a gran parte de condroitín sulfato; la parte inorgánica, por cristales de hidroxapatita; asimismo, la formación y remodelación ósea

está a cargo de las células: osteoblastos, osteocitos y osteoclastos (Vadillo, 2009).

#### 2.3.3.1. *Elementos de la cicatrización*

El tejido óseo está constituido por un conjunto de células y una matriz extracelular calcificada en constante dinámica metabólica; la estructura ósea está constituida por una lámina cortical externa y un hueso trabecular interno, donde se ubican factores de crecimiento y mediadores reguladores del metabolismo; la mayor parte es conformada por la hidroxiapatita (65-70%); mientras que el agua y el componente orgánico, principalmente colágeno tipo I, constituyen el resto; además otras sustancias presentes son los proteoglicanos, glicoproteínas, sialoproteínas, lípidos y osteocalcina, la cual interviene en la calcificación (Aguirre, 2013).

**a. Células:** Las células óseas se hallan en la médula ósea, rica en células mesenquimales pluripotenciales indiferenciadas, estas pueden originar fibroblastos, osteoblastos, condroblastos, adipocitos y mioblastos dependiente de las señales moleculares que inician la cascada de activación de diferentes genes (Fernandez, et al., 2006).

La diferenciación de osteoblastos está controlada por genes pertenecientes a la familia Hedgehog, de los cuales los más conocidos son *Ihh* y *Shh*; además es esencial el factor de transcripción *Cbfa1* y las proteínas morfogenéticas (BMP), siendo los reguladores más potentes (Fernandez et al., 2006); las proteínas morfogenéticas regulan los procesos de reparación y diferenciación de células mesenquimales, son aproximadamente 15 BMP y son sintetizadas por los osteoblastos, se distribuyen a lo largo de fibras colágenas de hueso normal, células periostiales y células mesenquimales de médula ósea (Revolledo et al., 2011); según el grado de diferenciación van expresando proteínas específicas sobre la superficie; la expresión de la *Cbfa1* es la primera evidencia de diferenciación osteogénica (Fernandez et al., 2006).

La fosfatasa alcalina es una proteína sintetizada por los osteoblastos responsable de la regulación de la proliferación, migración y diferenciación osteoblástica (Raja et al., 2016); del mismo modo la sialoproteína ósea y osteocalcina participan como marcadores de la diferenciación de pre-

osteoblasto a osteoblasto y aparecen cuando se inicia la mineralización (Fernandez et al., 2006).

El osteoblasto es una célula grande que mide 20-30um cumple diversas funciones tales como: la síntesis de proteínas colágenas y no colágenas, disponen de la posición de las miofibrillas, contribuyen a la mineralización mediada por la fosfatasa alcalina, regulan la reabsorción de los osteoclastos mediante citocinas específicas y sintetizan factores de crecimiento; los osteoblastos sufren apoptosis o forman parte de la matriz, transformándose en osteocitos (Fernandez et al., 2006).

El osteocito es la forma inactiva del osteoblasto que quedó atrapado, se encuentran en el interior y son las más abundantes y perdieron la capacidad de sintetizar proteínas, poseen forma estrellada y son el centro de las lagunas; regulan el remodelado óseo mediante la mecano-transducción (Fernandez et al., 2006).

El osteoclasto es una célula multinucleadas ricas en mitocondrias y vacuolas, contienen fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP), la cual permite la desfosforilación de proteínas, derivan de células madre hematopoyéticas denominadas unidades formadoras de colonia de granulocitos y macrófagos; liberan ácidos generados por la anhidrasa carbónica II y enzimas proteolíticas como colagenasa, metaloproteasa, glucoronidasa, etc; los osteoclastos reabsorben la matriz orgánica seguida de los minerales (Fernandez et al., 2006).

**b. Matriz orgánica:** Representa organización proteica ubicada en la sustancia fundamental conformada principalmente por condroitin sulfato (Vadillo, 2009); el 90% está constituido por colágeno tipo I y escasamente por colágeno tipo V, constituye una reserva de proteínas que participan en la regulación de la diferenciación celular, así como estructura y función ósea. (Fernandez et al., 2006).

**c. Mediadores:** Las citoquinas son polipéptidos sintetizados por células linfocíticas y monocíticas, importantes en las funciones celulares, la respuesta inmune, inflamación y hematopoyesis; la interleuquina 1 (IL-1) estimula directamente la reabsorción osteoclástica y diferenciación de pre-osteoclastos; además de inhibir la apoptosis de los osteoclastos; la interleuquina 6 (IL-6) estimula la reabsorción ósea, participa en los estadios

iniciales de la osteoclastogénesis; así como la interleuquina 11 (IL-11) que se produce en la médula ósea e induce la osteoclastogénesis; las prostaglandinas *in vitro* favorecen la reabsorción ósea, principalmente la PGE2 (Fernandez et al., 2006).

#### 2.3.3.2. Fases de la regeneración ósea

El espacio generado por la reducción ósea incompleta es llenado por la sangre extravasada de vasos seccionados, proceso favorecido por la vasodilatación; se produce la coagulación que luego dará origen al callo óseo donde se depositaran sustancias calcáreas (Vadillo, 2009).

La regeneración ósea comprende 3 etapas: inflamatoria, reparativa y de consolidación (Peral et al., 2008).

#### 2.3.4. Aloe vera

El *Aloe vera* es una planta originaria de África, ha sido utilizado durante siglos debido a sus propiedades curativas y terapéuticas, se han identificado 75 ingredientes activos; muchas propiedades han sido atribuidas a los polisacáridos como el acemanano, los cuales presentan actividad sinérgica con otros principios activos (Hamman, 2008), los metabolitos han demostrado tener efectos analgésicos, antiinflamatorio, antioxidante, actividad anticancerígena (Bhattacharya et al., 2011).

Se han realizado diversos estudios sobre los principales constituyentes químicos del *Aloe vera* entre los que destacan vitaminas, A, C, E, tiamina (B1), niacina (B3), ácido fólico (B9), cobalamina (B12), monosacáridos, glucosa-fructosa, polisacáridos, acemanano, saponinas, antroquinonas, barbaloina, isobarbaloina, aloína, antronas, ácido antranólico, aminoácidos, lisina, valina, leucina, metionina (Vadillo, 2009).

##### 2.3.4.1. Taxonomía

El *Aloe* pertenece a un grupo de plantas con alrededor de 350-400 especies registradas en todo el mundo, pero solo 6 son conocidas por sus propiedades medicinales, son plantas suculentas y xerofitas capaces de almacenar grandes cantidades de agua (Morin, 2008).

##### 2.3.4.2. Variedades

**a. *Aloe barbadensis*:** Es la forma de *Aloe vera* más común del mundo, crece en suelos arenosos y calcáreos de las regiones desérticas y cálidas,

es conocida por diversos nombres tales como *Aloe barbadensis* Miller, *Aloe vulgaris* Lam, *Aloe vera* L. *Perfoliata*, *Aloe Rubescens* DC (Morin, 2008).

**b. *Aloe ferox* Miller:** Nativo de África del Sur, denominado “*Ferox*” por la gran cantidad de espinas presentes en las hojas, crece principalmente en laderas, planta xerófila que alcanza 2–3m de altura con hojas suculentas de hasta 50cm (Morin, 2008).

**c. *Aloe arborensis* Miller:** Es la tercera especie más abundante, crece principalmente en África sobre áreas montañosas, se puede encontrar en arbustos densos (Morin, 2008).

**d. *Aloe africana* Miller:** Especie nativa de Sudáfrica de 2m de altura, presenta una roseta de color gris para el desarrollo de las flores, hojas de 65cm con espinas pequeñas y rojizas (Morin, 2008).

**e. *Aloe saponaria* Ait.:** Crece principalmente en Sudáfrica, Botswana, Sudafrica, preferentemente en áreas rocosas; mide aproximadamente 60-80cm con hojas de hasta 30cm, presenta pigmentaciones blancas y espinas de color marrón oscuro (Morin, 2008).

#### 2.3.4.3. Principios activos

**a. Acemanano:** Es un polisacárido que se encuentra en las hojas del Aloe vera, principalmente debajo de la piel, son susceptibles a acción enzimática (Bone et al., 2013); poseen actividad inmunoestimulante mediante la activación de macrófagos (Sarkar et al., 2005).

El acemanano posee un peso de 500KDa, se ubica en el parénquima de los protoplastos y representa el 5% del peso seco de las hojas (Morin, 2008).

**b. Antroquinonas:** Son elementos tóxicos a largo plazo de pigmentación amarilla, son responsables de la reducción de efectos del gel (Morin, 2008); son fitoquímicos basados en el antraceno (3 bencenos unidos entre sí), han sido utilizados como laxantes, debido a la acumulación de líquidos (Bone et al., 2013).

#### 2.3.5. Bifosfonatos

Los bifosfonatos son análogos del pirofosfato, entre ellos el etidronato, pamidronato, alendronato, risedronato, tiludronato, zoledronato (Katzung, 2010); los bifosfonatos son utilizados para el tratamiento de la osteoartritis y osteoporosis (Siebelt et al., 2014).

#### 2.3.5.1. Alendronato sódico

Es un bifosfonato que contiene nitrógeno, lo cual le confiere mayor potencia en la inhibición de la resorción ósea; el alendronato sódico posee una actividad osteoclástica 70 veces mayor comparado con los bifosfonatos que no contienen nitrógeno como el clodronato (Toker et al., 2012).

#### 2.3.5.2. Mecanismo acción

El alendronato es un inhibidor de la resorción osteoclástica (Siebelt et al., 2014), bloquea la vía de melavonato al inhibir la sintasa de pirofosfato, indispensable para la supervivencia de los osteoclastos (Katzung, 2010); los bifosfonatos incrementan la proliferación, maduración de osteoblastos e inhiben la apoptosis de los osteoblastos, lo que sugiere una actividad anabólica (Toker, et al., 2012).

#### 2.3.5.3. Indicaciones

Los bifosfonatos son ampliamente utilizados en el tratamiento de enfermedades con el incremento de la resorción osteoclástica, incluye la osteoporosis posmenopáusica, enfermedad de Paget (Toker et al., 2012), además es usado para el tratamiento de la hipercalcemia asociada con el cáncer (Katzung, 2010) y se están realizando estudios en la reducción de la progresión de osteoartritis grave (Siebelt et al., 2014).

### 2.4. Definición de términos

**2.4.1. Liofilizado:** Técnica de deshidratación por frío para conservar sin daño los diversos materiales biológicos.

**2.4.2. Defecto óseo:** Pérdida de tejido óseo que requiere cicatrización por segunda intención.

**2.4.3. Conteo por campo:** Recuento de células viables en un campo microscópico.



### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1. Tipo de estudio**

Experimental.

#### **3.2. Diseño de investigación**

Estudio longitudinal, prospectivo.

#### **3.3. Unidad de análisis**

Cobayo macho.

#### **3.4. Población**

Cobayos macho con un peso de  $1000\pm 120$ g de 12 semanas de edad provenientes del Instituto Nacional de Salud

#### **3.5. Tamaño de la muestra**

40 cobayos macho

#### **3.6. Selección de la muestra**

##### **3.6.1. Tipo de muestreo**

Muestreo por conveniencia

##### **3.6.2. Criterios de Inclusión**

- Cobayo macho
- Cobayo de peso  $1000\pm 120$  gramos
- Cobayos que no hayan sido usadas en modelos experimentales anteriores.
- Cobayos que no tengan características apreciables de la enfermedad

##### **3.6.3. Criterios de Exclusión**

- Cobayo hembra
- Cobayos que no cumplan el rango de peso establecido

- Cobayos que hayan sido utilizadas en modelos experimentales previos
- Cobayos con características apreciables de enfermedad

### **3.7. Técnicas de recolección de datos**

#### **3.7.1. Preparación del extracto acuoso de *Aloe vera***

El *Aloe vera* fue enviado al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su estudio taxonómico, CONSTANCIA N°184 - USM- 2015 (Anexo N°1)

Las hojas completas de *Aloe vera* (500g) fueron lavadas y desinfectadas en hipoclorito de sodio (5%), se retiró los bordes espinosos y luego fueron cortadas para ser triturado en una licuadora a 5000rpm; posteriormente, el extracto acuoso fue liofilizado mediante el método de desecación; el *Aloe vera* liofilizado fue almacenado en un frasco hermético de color ambar bajo refrigeración (5°C) hasta su reconstitución con suero fisiológico.

#### **3.7.2. Diseño experimental**

Participaron del estudio 40 cobayos macho de  $1000 \pm 120$  gramos, que fueron distribuidos aleatoriamente en 5 grupos de 8 animales cada uno, fueron acondicionadas durante 3 días en el Bioterio de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; albergados en 5 jaulas metálicas con capacidad para 8 animales. Ambientados a una temperatura entre 19°-22°C, con una humedad de 40-50%, periodos de luz/oscuridad de 12 horas de forma alternada iniciados a las 8 am. Se les suministró agua y alimentación balanceada *ad libitum*.

**Grupo Control (I):** Con osteotomía mandibular (OM) + SSF 2 mL/kg cada 24 horas por vía oral durante 7 días.

**Grupo Control (II):** OM + Alendronato 0.5mg/kg cada 48 horas por vía oral durante 7 días.

**Grupo Experimental (III):** OM + *Aloe vera* 50mg/Kg cada 24 horas por vía oral durante 7 días.

**Grupo Experimental (IV):** OM + *Aloe vera* 250 mg/Kg cada 24 horas por vía oral durante 7 días.

**Grupo experimental (V):** OM + *Aloe vera* 500 mg/kg cada 24 horas por vía oral durante 7 días.

### 3.7.3. Método de Inducción de osteotomía

La osteotomía mandibular se realizó mediante el método propuesto por Aguirre, (2013); modificando la técnica anestésica con ketamina (Ket-A-100®) a una dosis de 20mg/kg por vía intramuscular; además de la administración de profilaxis antibiótica con amikacina (Amikin®) a la dosis de 10mg/kg por vía intramuscular 20 min antes del procedimiento.

La técnica descrita (Anexo2):

1. Depilación con tioglicolato de calcio (Crema depilatoria Veet®) sobre la zona media y anterior del borde inferior derecho del maxilar inferior.
2. Aplicación de anestesia local (0.9mL de lidocaína 2% con epinefrina 1:80000 New stetic®) en la región mandibular.
3. Incisión (Hoja de bisturí N°15) y decolado para exposición del hueso mandibular.
4. Osteotomía del hueso expuesto de la zona intervenida con fresa quirúrgica redonda de carburotungsteno de 4mm de diámetro (Maillefer®) por 5 segundos bajo irrigación con suero fisiológico.
5. Secado de la zona expuesta con gasas estériles y sutura por planos con sutura reabsorbible 5/0 aguja cortante HR 20 (Vicryl™).
6. Se esperó la recuperación postoperatoria.

Luego se administró la suero fisiológico (0.9%) por vía oral cada 24 horas (Grupo I); alendronato sódico (0.35%) por vía oral cada 48 horas (Grupo II); extracto acuoso liofilizado de hojas de *Aloe vera* (40%) por vía oral en la dosis establecida cada 24 horas (Grupos III–IV–V), los grupos recibieron tratamiento durante 7 días.

#### **3.7.4. Método de obtención de biopsias quirúrgicas**

Se sacrificó 4 animales por grupo a los 15 y 30 días; por sobredosis de Pentobarbital (Halatal®, 100mg/kg), se obtuvo las biopsias de la hemimandíbula derecha, las muestras fueron fijadas en formol al 10% y enviadas al laboratorio de patología.

#### **3.7.5. Procesamiento de las muestras**

Las muestras fueron descalcificadas con ácido nítrico (7%) durante 10 días, luego coloreadas con Hematoxilina-Eosina y analizadas en el microscopio de luz (Marca Micros, modelo MCX100 LCD “Crocus II”) a un aumento de 400X (0.19mm<sup>2</sup>).

#### **3.7.6. Método del recuento celular por campo**

Para la cuantificación de las células (linfocitos, osteoblastos, osteoclastos, fibroblastos, osteocitos) se procedió previamente a identificar la zona intervenida, luego se escogió 3 campos de manera aleatoria en cada una de las láminas obtenidas de cada cobayo; de las 3 observaciones se realizó el promedio de células por campo (Aguirre, 2013).

#### **3.7.7. Método de la cuantificación de los niveles de fosfatasa alcalina**

La cuantificación de los niveles de la fosfatasa alcalina se realizó en el suero sanguíneo de los cobayos; se extrajo 2ml de sangre mediante punción intracardiaca con aguja 21G, los cobayos fueron sometidos a anestesia general con pentobarbital (Halatal ®) a dosis de 1mL/2.5Kg de peso, la sangre fue depositada en tubos de ensayo evitando la hemólisis, centrifugadas para obtener el suero; posteriormente la determinación bioquímica de la fosfatasa alcalina se realizó por el método colorimétrico (Aramburú et al., 2009).

### **3.8. Consideraciones éticas**

Se consideró las indicaciones establecidas en la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*; el presente trabajo está basado en las 3R's:

refinamiento, reducción y reemplazo (Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2011).

Los animales fueron acondicionados en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; el procedimiento quirúrgico se realizó con las medidas de bioseguridad, asociadas a un anestésico general con efecto analgésico (Ketamina), además del uso de anestesia local para bloquear el estímulo doloroso; todo procedimiento quirúrgico se realizó en condiciones de asepsia, con el instrumental adecuado y con el personal calificado.

### **3.9. Análisis e interpretación de datos**

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el paquete estadístico SPSS versión 20 para Windows; los datos son presentados como media  $\pm$  desviación estándar a un nivel de confianza del 95%; las pruebas de normalidad se determinaron mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y las variables fueron analizadas mediante ANOVA y comparadas mediante el C de *Dunnett*, se consideró significativo un valor de  $p < 0,05$ .

#### IV. RESULTADOS

Participaron del presente estudio 40 cobayos machos a los que se les realizó la osteotomía mandibular, posteriormente fueron distribuidos aleatoriamente en 5 grupos; a los cuales se le administró SSF, alendronato y extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* en dosis creciente, por vía oral durante 7 días.

Al evaluar las variables se observa que existe suficiente evidencia estadística a un nivel de confianza del 95% para afirmar que presentan una distribución normal según la prueba de *Kolmogorov–Smirnov* (Tabla 1).

En relación a la evaluación del infiltrado inflamatorio crónico mediante el recuento de linfocitos se determinó que no existe diferencia significativa ( $p>0,05$ ) a los 15 ni a los 30 días (Tabla 2); para la evaluación de la reparación ósea mediante el recuento de osteoblastos se determinó que no existe diferencia significativa ( $p>0,05$ ) a los 15 ni a los 30 días (Tabla 3); sin embargo, la cuantificación de los niveles de fosfatasa alcalina mostraron diferencias significativas ( $p<0,05$ ) a los 15 y 30 días (Tabla 4), al igual que el recuento de osteoclastos (Tabla 5) y fibroblastos (Tabla 6); para la evaluación de la consolidación mediante el recuento de osteocitos se observó diferencias significativas ( $p<0,05$ ) a los 15 y 30 días (Tabla 7).

**Tabla 1: Pruebas de normalidad de la regeneración ósea en osteotomía mandibular en cobayo.**

		Kolmogorov-Smirnov		
		Estadístico	gl	Sig.
Linfocitos	15 días	0,14	20	0,16 <sup>a</sup>
	30 días	0,19	20	0,00
Osteoblastos	15 días	0,21	20	0,00
	30 días	0,13	20	0,20 <sup>a</sup>
Fosfatasa Alcalina	15 días	0,11	20	0,20 <sup>a</sup>
	30 días	0,13	20	0,20 <sup>a</sup>
Osteoclastos	15 días	0,20	20	0,00
	30 días	0,25	20	0,00
Fibroblastos	15 días	0,06	20	0,20 <sup>a</sup>
	30 días	0,14	20	0,12 <sup>a</sup>
Osteocitos	15 días	0,09	20	0,55 <sup>a</sup>
	30 días	0,16	20	0,35 <sup>a</sup>

Kolmogorov Smirnov: a ( $p > 0,05$ )

Existe suficiente evidencia estadística a un nivel de confianza del 95% para afirmar que la variable regeneración ósea se ajusta a una distribución normal según la prueba estadística de *Kolmogorov – Smirnov*.

**Tabla 2: Recuento de linfocitos posterior a la osteotomía mandibular en**

Tratamiento (n=4)	15 días		30 días	
	(N° Cel./Campo)		(N° Cel./Campo)	
	X±DE	p*	X±DE	p*
SSF 2mL/kg	4,67±1,75	0,65	3,00±1,27	0,70
Alendronato 0.5mg/kg	5,66±5,13		3,83±4,26	
Aloe vera 50mg/kg	3,50±2,88		2,33±3,01	
Aloe vera 250mg/kg	3,17±3,76		1,33±2,16	
Aloe vera 500mg/kg	2,83±3,71		3,00±3,69	

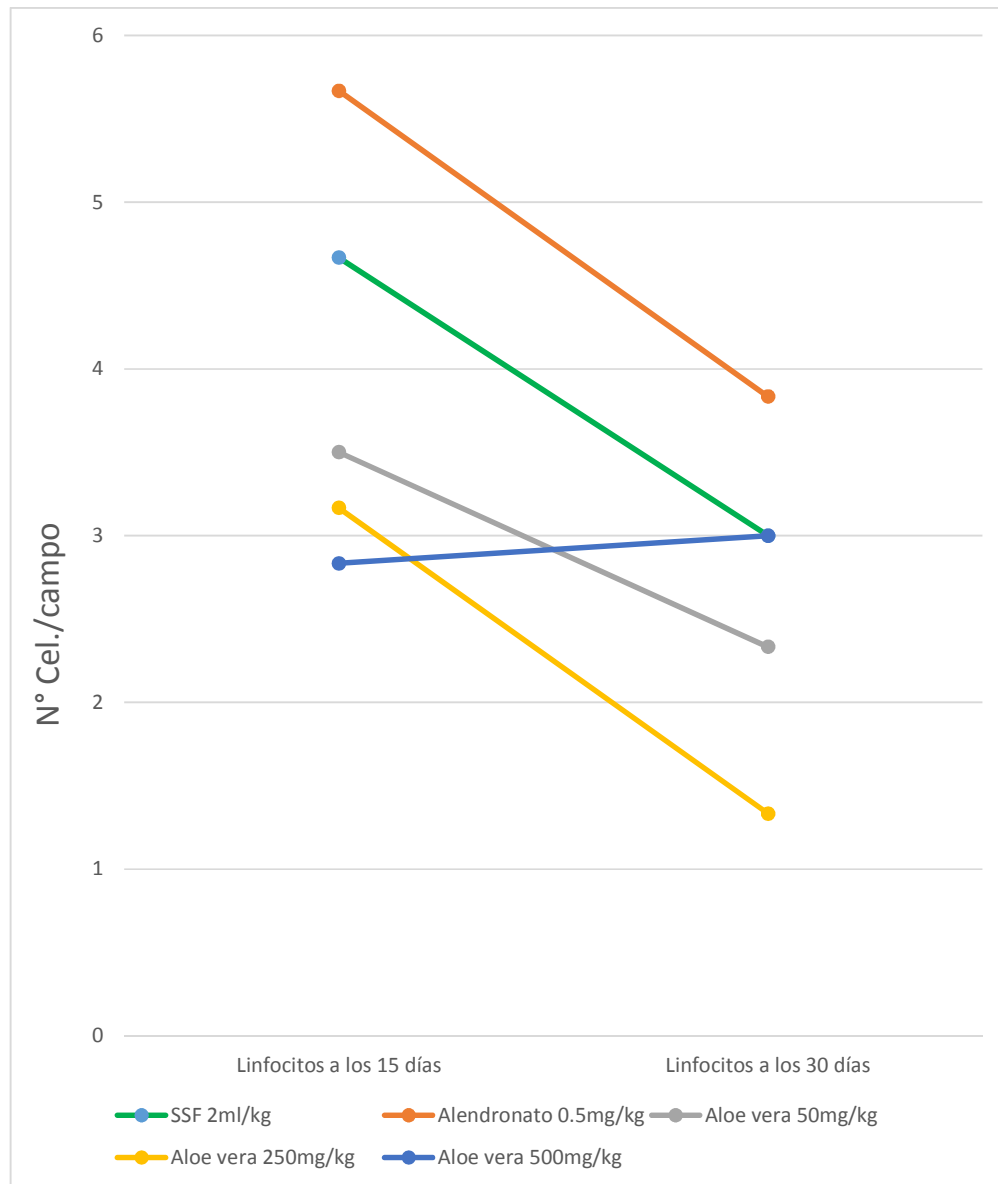
**cobayo a los 15 y 30 días.**

\*ANOVA ( $p < 0.05$ ), C de *Dunnet* ( $p < 0.05$ ); Comparado con SSF (a:  $p < 0.05$ ); Comparado con alendronato (b:  $p < 0.05$ )

En relación al recuento de linfocitos por campo a los 15 días, no existe diferencia significativa entre los grupos (ANOVA  $p > 0,05$ ). Se evidencia la reducción de células crónicas en los grupos III, IV y V de manera dosis dependiente en relación al grupo control, encontrando el menor valor en el grupo tratado con *Aloe vera* 500mg/kg (2,83 Cel./campo); a diferencia del grupo II, tratado con alendronato, incrementó el número de linfocitos (5,66 Cel./campo).

El recuento de linfocitos por campo a los 30 días muestra que no existe diferencia significativa entre los grupos (ANOVA  $p > 0,05$ ), observando reducción de linfocitos en los grupos III y IV en relación al grupo control; ligero incremento del grupo II (3,83 Cel./campo) comparado con el grupo control; y el grupo V, presentó un valor similar al grupo control (Tabla 2).





**Figura 1: Comparación del recuento de linfocitos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.**

Al comparar el recuento de linfocitos por campo se observa un patrón similar a los 15 y 30 días; se observa mayor reducción en el grupo IV, tratado con *Aloe vera* 250mg/kg; ligera variación en el grupo V, tratado con *Aloe vera* 500mg/kg. Asimismo, el grupo II, presentó mayor número de linfocitos por campo tanto a los 15 como a los 30 días.

**Tabla 3: Recuento de osteoblastos posterior a la osteotomía**

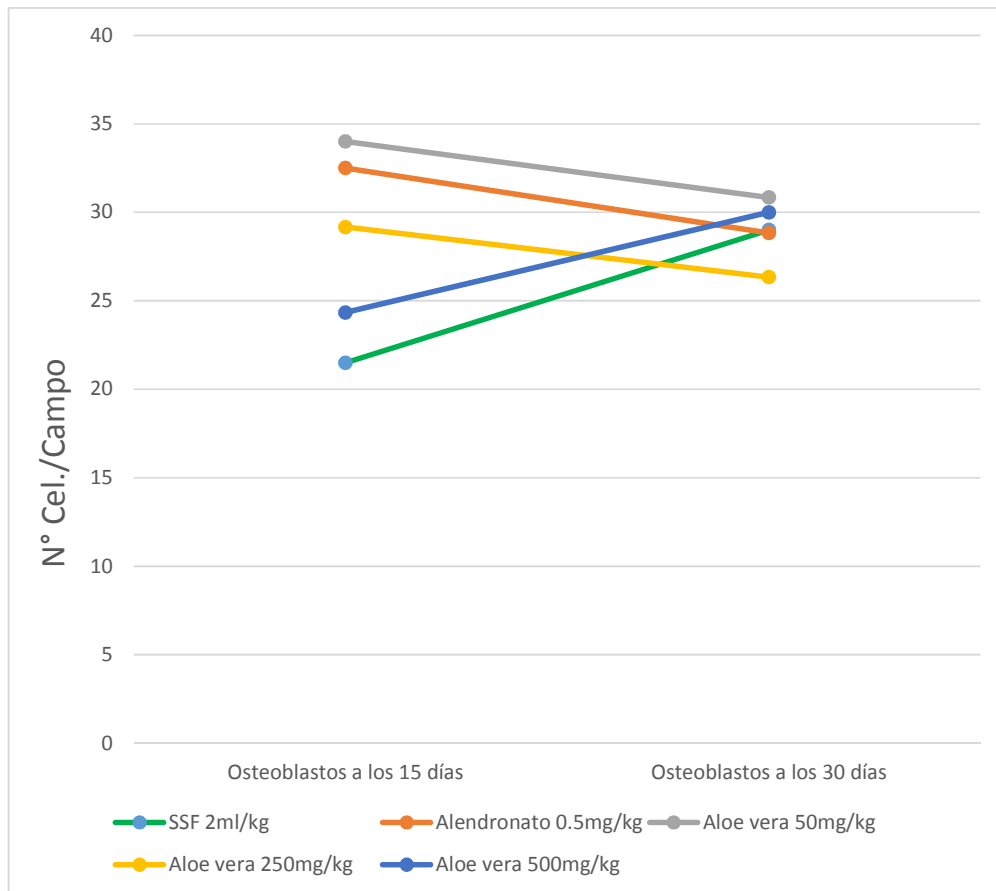
Tratamiento (n=4)	15 días		30 días	
	(N° Cel./Campo)		(N° Cel./Campo)	
	X±DE	p*	X±DE	p*
SSF 2mL/kg	21,50±8,46	0,35	29,00±16,20	0,96
Alendronato 0.5mg/kg	32,50±6,82		28,83±12,32	
Aloe vera 50mg/kg	34,00±9,90		30,83±7,83	
Aloe vera 250mg/kg	29,17±12,02		26,33±9,81	
Aloe vera 500mg/kg	24,33±11,29		30,00±4,94	

**mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.**

\*ANOVA ( $p < 0.05$ ), C de *Dunnet* ( $p < 0.05$ ); Comparado con SSF (a:  $p < 0.05$ ); Comparado con alendronato (b:  $p < 0.05$ )

En relación al recuento de osteoblastos por campo a los 15 días no existe diferencia significativa entre los grupos (ANOVA  $p > 0,05$ ); se observa mayor incremento de células en el grupo tratado con *Aloe vera* 50mg/kg (34 Cel./campo), seguido del Alendronato (32,5 Cel./campo); en contraste con el *Aloe vera* 500mg/kg (24,3 Cel./campo) comparados con el grupo control.

A los 30 días no existe diferencia significativa entre los grupos (ANOVA  $p > 0,05$ ); se observa mayor homogenidad entre los grupos; observándose resultados similares entre el grupo III (30,8 Cel./campo), grupo V (30 Cel./campo) y grupo I (29 Cel./campo); y ligeramente por debajo, el grupo II (28,8 Cel./campo) y grupo IV (26,3 Cel./campo).



**Figura 2: Comparación del recuento de osteoblastos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.**

Al comparar el recuento de osteoblastos por campo se observa un patrón similar para los grupos II, III y IV a los 15 y 30 días, donde se observa ligera reducción de osteoblastos por campo, por lo que se desprende que el *Aloe vera* a la dosis de 50mg/kg y 250mg/kg posee un efecto estimulante rápido en la formación de osteoblastos al igual que el grupo que recibió alendronato; y mantiene el efecto sobre los osteoblastos a los 30 días.

A diferencia de los grupos mencionados, los grupos tratados con *Aloe vera* 500mg/kg y SSF incrementaron el número de osteoblastos de manera mucho más lenta, alcanzando valores similares entre todos los grupos a los 30 días.

**Tabla 4: Niveles de fosfatasa alcalina posterior a la osteotomía**

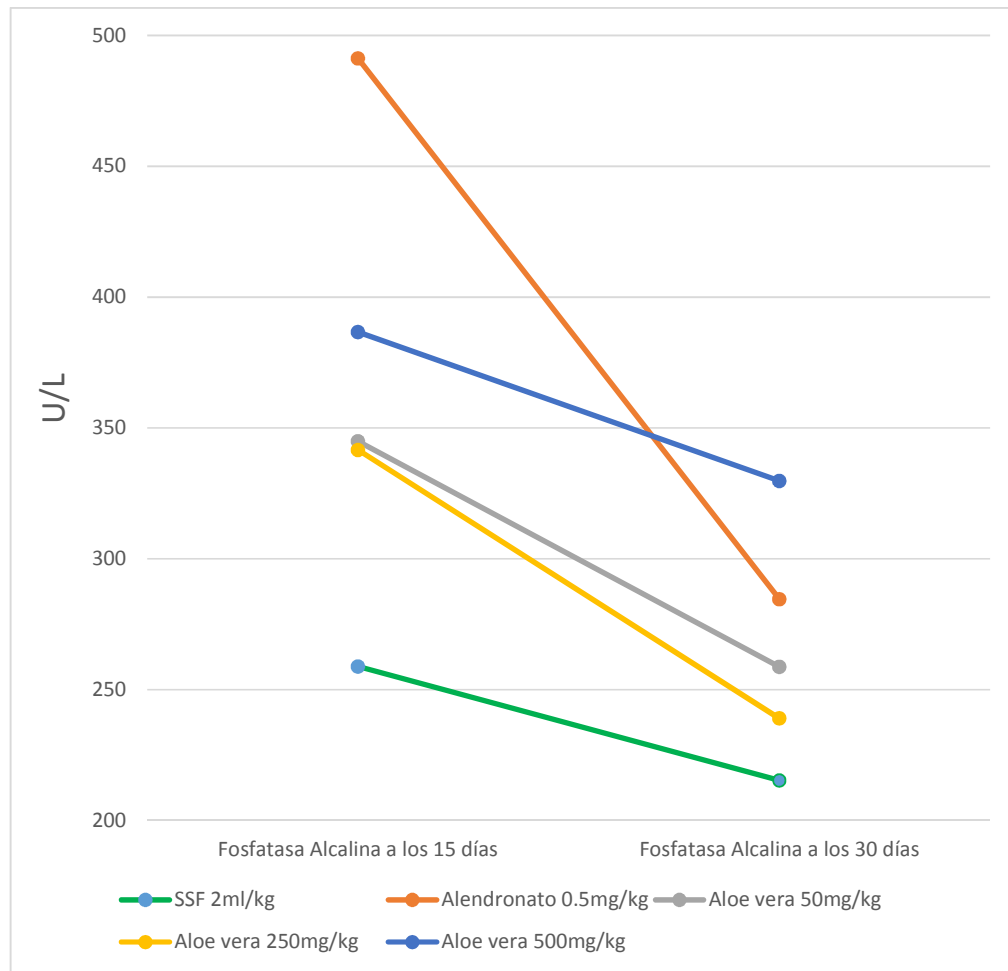
Tratamiento (n=4)	15 días (U/L)		30 días (U/L)	
	X±DE	p*	X±DE	p*
SSF 2mL/kg	258,83±14,50 <sup>b</sup>	0,00	215,33±17,06 <sup>b</sup>	0,00
Alendronato 0.5mg/kg	491,20±39,22 <sup>a</sup>		284,57±51,24 <sup>a</sup>	
Aloe vera 50mg/kg	344,87±33,40 <sup>ab</sup>		258,67±29,66	
Aloe vera 250mg/kg	341,55±23,73 <sup>ab</sup>		239,00±28,20	
Aloe vera 500mg/kg	386,62±52,86 <sup>a</sup>		329,72±40,04 <sup>a</sup>	

**mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.**

\*ANOVA (p<0.05), C de *Dunnet* (p<0.05); Comparado con SSF (a: p<0.05); Comparado con alendronato (b: p<0.05)

En relación a los niveles de fosfatasa alcalina a los 15 días se evidencia diferencia significativa entre los grupos (ANOVA p<0,05); el mayor valor se produjo en el grupo II (491,2 U/L), seguido de los grupos tratados con *Aloe vera* mostrando un efecto dosis dependiente comparados con el grupo que recibió SSF; del mismo modo, se observa diferencia significativa entre los grupos I, III y IV en relación al grupo tratado con alendronato (p<0,05); sin embargo, el grupo tratado con *Aloe vera* 500mg/kg (386,6 U/L) no muestra diferencia significativa comparado con el alendronato (491,2 U/L).

A los 30 días se evidencia diferencia significativa entre los grupos (ANOVA p<0,05), se observa que los grupos II y V presentan niveles elevados de fosfatasa alcalina en relación al grupo I (p<0,05); al comparar el grupo II, solo presenta diferencias con el grupo I (p<0,05); los grupos tratados con *Aloe vera* muestran valores superiores al SSF.



**Figura 3: Comparación de los niveles de fosfatasa alcalina posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.**

Al comparar los niveles de fosfatasa alcalina se observa un patrón similar para todos los grupos, se observa la reducción de la fosfatasa alcalina al cabo de los 30 días; mostrando una mayor reducción en el grupo tratado con alendronato a diferencia de los grupos tratados con *Aloe vera*, quienes muestran un efecto dosis dependiente tanto a los 15 días como los 30 días.

A los 15 días, se observa que los grupos II, III, IV y IV elevan los niveles de fosfatasa alcalina comparados con el grupo I; esto se mantiene a los 30 días.

**Tabla 5: Recuento de osteoclastos posterior a la osteotomía mandibular**

Tratamiento (n=4)	15 días		30 días	
	(N° Cel./Campo)		(N° Cel./Campo)	
	X±DE	p*	X±DE	p*
SSF 2mL/kg	4,33±1,51 <sup>b</sup>	0,01	2,67±1,21 <sup>b</sup>	0,00
Alendronato 0.5mg/kg	0,83±0,98 <sup>a</sup>		0,50±0,83 <sup>a</sup>	
Aloe vera 50mg/kg	1,50±1,87		1,00±1,26	
Aloe vera 250mg/kg	1,33±1,75		0,33±0,52 <sup>a</sup>	
Aloe vera 500mg/kg	1,17±1,60		1,00±0,89	

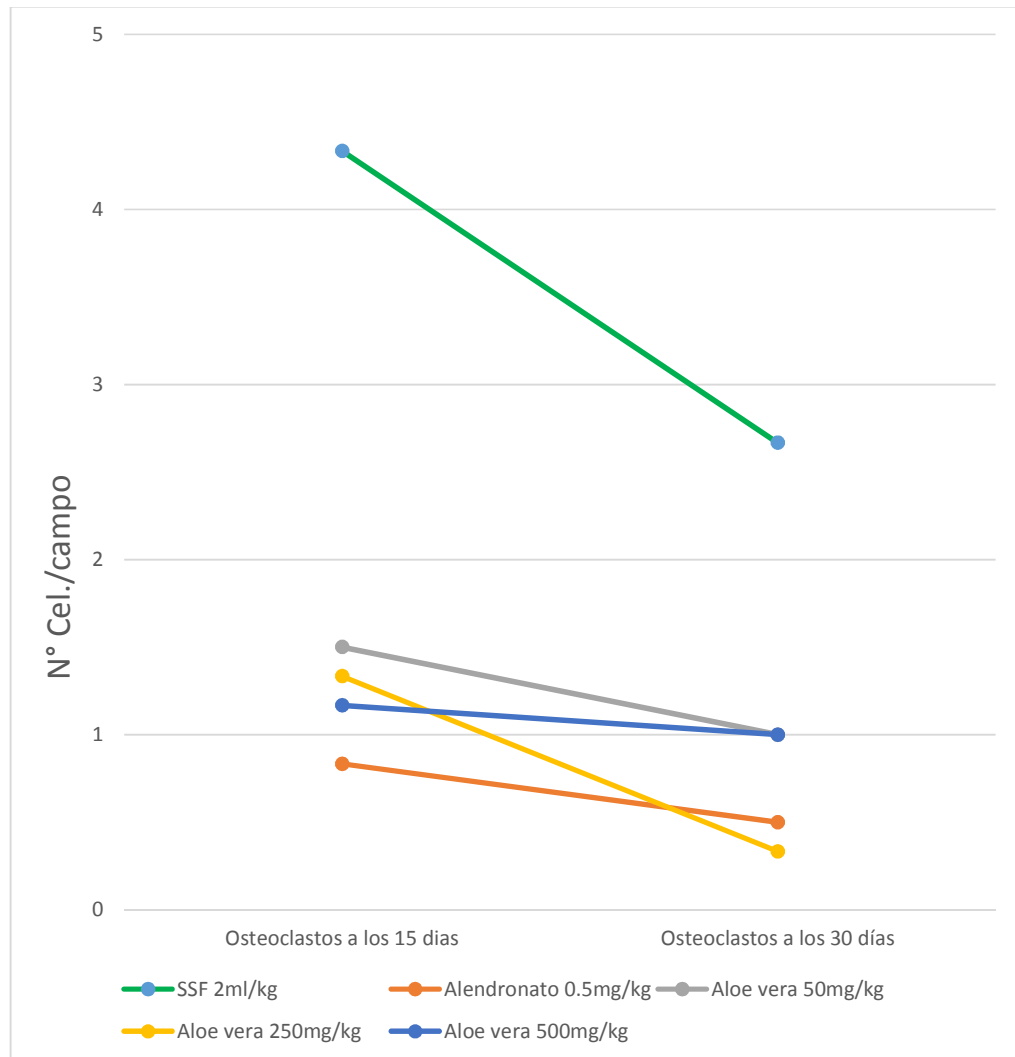
**en cobayo a los 15 y 30 días.**

\*ANOVA (p<0.05), C de *Dunnet* (p<0.05); Comparado con SSF (a: p<0.05); Comparado con alendronato (b: p<0.05)

En relación al recuento de osteoclastos a los 15 días se evidencia diferencia significativa entre los grupos (ANOVA p<0,05); la mayor reducción de osteoclastos por campo se observa en el grupo II (0,83Cel./campo) comparados con el grupo I (p<0,05); seguidos de los grupos tratados con *Aloe vera* con efecto dosis dependiente; del mismo modo, al comparar el grupo alendronato con el resto de grupos, se observa diferencia significativa con el grupo I (p<0,05, mostrando patrones similares a los grupos tratados con *Aloe vera* (p>0,05).

A los 30 días, se evidencia diferencia significativa entre los grupos (ANOVA p<0,05), la mayor reducción de osteoclastos la produce el grupo IV seguido del grupo II (p< 0,05) comparados al grupo tratado con SSF; asimismo, se observa reducción de los osteoclastos en los grupos III y V.

Al comparar el grupo tratado con alendronato, se observa que los grupos tratados con *Aloe vera* no muestran diferencia significativa (p>0,05) a diferencia del grupo que recibió SSF (p<0,05).



**Figura 4: Comparación del recuento de osteoclastos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.**

Al comparar el recuento de osteoclastos por campo se observa un patrón similar en la reducción celular para todos los grupos; a los 15 días se observa gran reducción del grupo tratado con alendronato seguido de los grupos tratados con *Aloe vera* con efecto dosis dependiente comparados con el grupo tratado con SSF.

Al cabo de los 30 días, se observa notable reducción de osteoclastos en todos los grupos; sin embargo, el grupo I muestra aun el mayor número de osteoclastos por campo.

**Tabla 6: Recuento de fibroblastos posterior a la osteotomía mandibular**

Tratamiento (n=4)	15 días		30 días	
	(N° Cel./Campo)		(N° Cel./Campo)	
	X±DE	p*	X±DE	p*
SSF 2mL/kg	22,50±6,83	0,03	34,00±16,38	0,62
Alendronato 0.5mg/kg	35,50±12,74		38,67±15,19	
Aloe vera 50mg/kg	39,67±6,31 <sup>a</sup>		40,83±4,40	
Aloe vera 250mg/kg	42,00±16,22 <sup>a</sup>		45,17±14,09	
Aloe vera 500mg/kg	33,50±4,42		44,00±13,51	

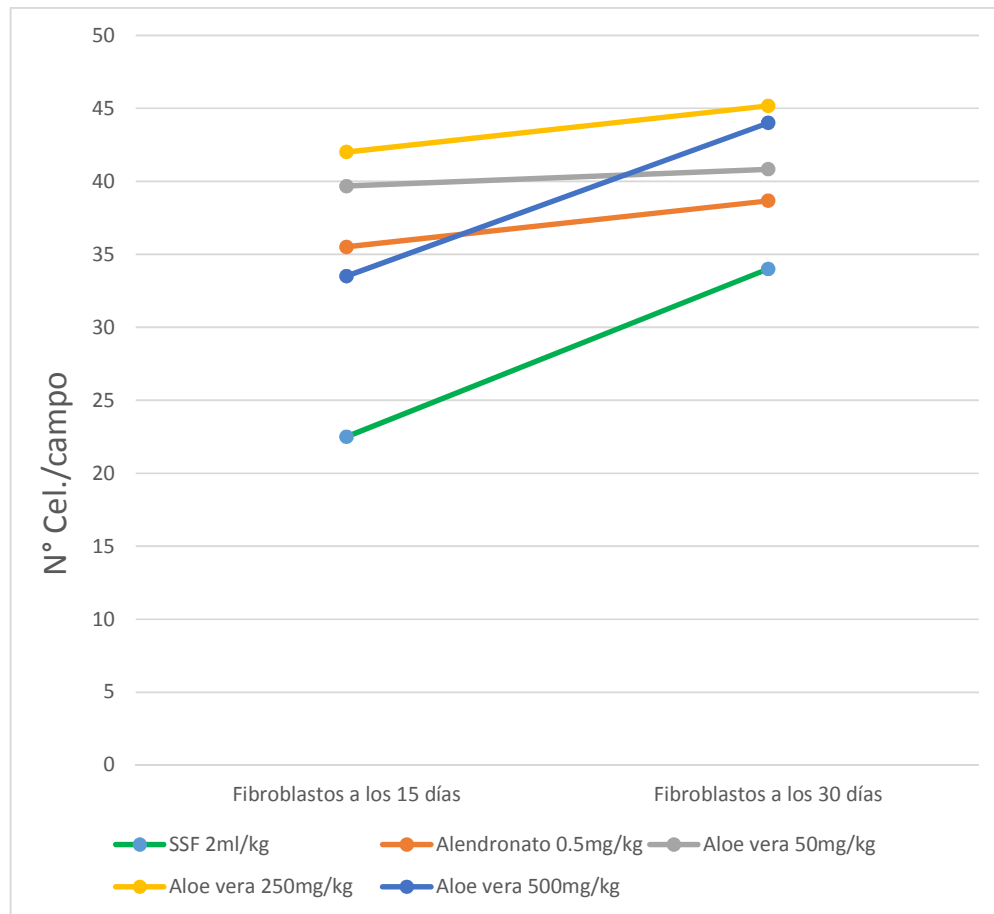
**en cobayo a los 15 y 30 días.**

\*ANOVA (p<0.05), C de *Dunnet* (p<0.05); Comparado con SSF (a: p<0.05); Comparado con alendronato (b: p<0.05)

En relación al recuento de fibroblastos por campo a los 15 días, se evidencia diferencia significativa entre los grupos (ANOVA p<0,05); el mayor número de fibroblastos se observa en el grupo IV (42,0 Cel./campo) y el grupo III (39,67 Cel./campo) comparados con el grupo I (p<0,05); también se observa incremento de fibroblastos en los grupos II (35,5 Cel./campo) y grupo V (33,5 Cel./campo), superiores al grupo tratado con SSF. No se observa diferencias significativas al compararla con el grupo tratado con alendronato (p>0,05).

A los 30 días, no se evidencia diferencia significativa entre los grupos (ANOVA p<0,05; sin embargo, se observa incremento de los fibroblastos en los grupos II, III, IV y V comparados con el grupo I.





**Figura 5: Comparación del recuento de fibroblastos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.**

Al comparar el recuento de fibroblastos por campo se observa un patrón similar en el incremento celular para todos los grupos; a los 15 días se observa incremento en los grupos tratados con *Aloe vera* y alendronato comparados con el grupo tratado con SSF.

Al cabo de los 30 días, se observa que el incremento de fibroblastos sigue siendo superior al grupo que recibió SSF; sin embargo, se observa mayor variación en el grupo tratado con *Aloe vera* 500mg/kg alcanzando valores similares al *Aloe vera* 250mg/kg y superiores al grupo tratado con SSF o alendronato.

**Tabla 7: Recuento de osteocitos posterior a la osteotomía mandibular**

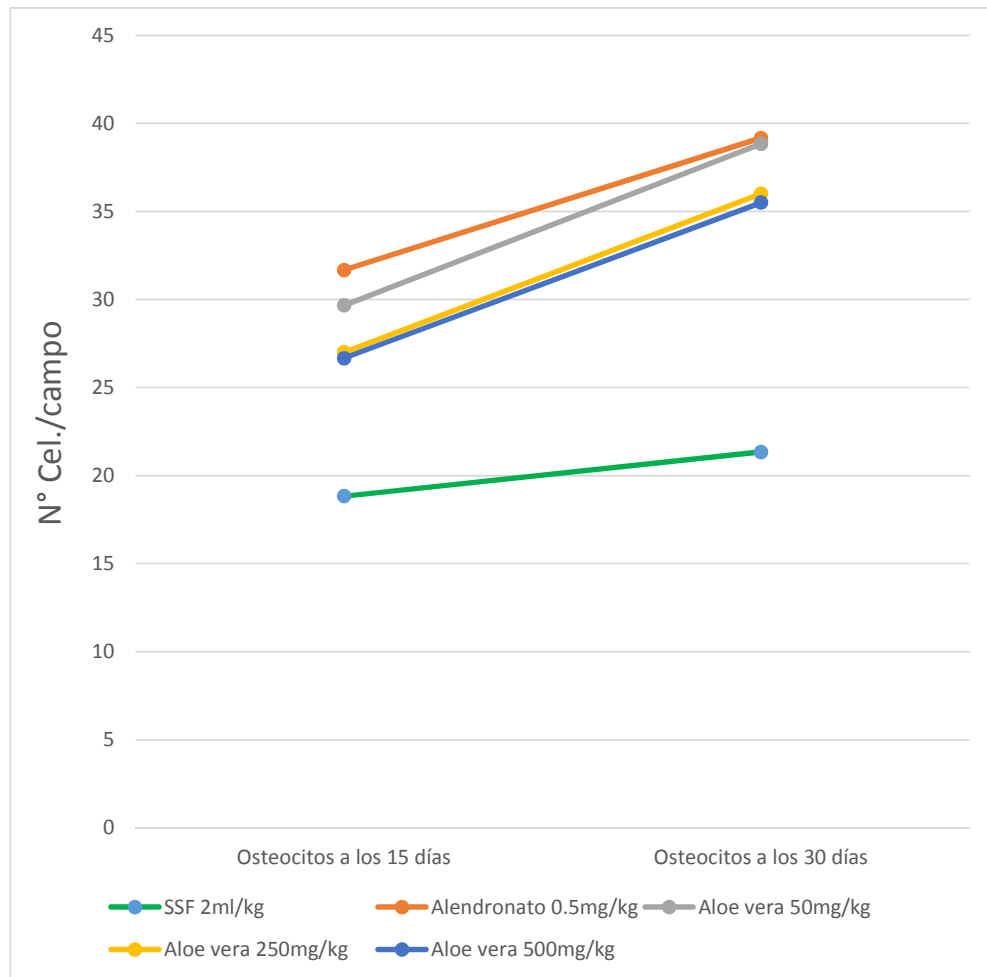
Tratamiento (n=4)	15 días		30 días	
	(N° Cel./Campo)		(N° Cel./Campo)	
	X±DE	p*	X±DE	p*
SSF 2mL/kg	18,83±4,07 <sup>b</sup>	0,01	21,33±5,08 <sup>b</sup>	0,01
Alendronato 0.5mg/kg	31,67±6,02 <sup>a</sup>		39,17±12,46 <sup>a</sup>	
Aloe vera 50mg/kg	29,67±8,59 <sup>a</sup>		38,83±9,54 <sup>a</sup>	
Aloe vera 250mg/kg	27,00±2,00 <sup>a</sup>		36,00±7,09 <sup>a</sup>	
Aloe vera 500mg/kg	26,67±4,88		35,50±9,50 <sup>a</sup>	

**en cobayo a los 15 y 30 días.**

\*ANOVA (p<0.05), C de *Dunnet* (p<0.05); Comparado con SSF (a: p<0.05); Comparado con alendronato (b: p<0.05)

En relación al recuento de osteocitos por campo a los 15 días, se evidencia diferencia significativa entre los grupos (ANOVA p<0,05); el mayor número de osteocitos se observa en el grupo II (27,0 Cel./campo), comparados con el grupo I (p<0,05); también se observa incremento de osteocitos en el grupo V (26,67 Cel./campo), superiores al grupo tratado con SSF. No se observa diferencias significativas al compararla con el grupo tratado con alendronato (p>0,05), con excepción del grupo I (p<0,05).

A los 30 días, se evidencia diferencia significativa entre los grupos (ANOVA p<0,05); se observa incremento de los fibroblastos en los grupos II, III, IV y V comparados con el grupo I (p<0,05), del mismo modo, los grupos tratados con *Aloe vera* no muestran diferencia significativa al compararla con el grupo que recibió alendronato (p>0,05), con excepción del grupo I (p<0,05).



**Figura 6: Comparación del recuento de osteocitos posterior a la osteotomía mandibular en cobayo a los 15 y 30 días.**

Al comparar el recuento de osteocitos por campo se observa un patrón similar en el incremento celular para todos los grupos; a los 15 días se observa incremento en los grupos tratados con *Aloe vera* y alendronato comparados con el grupo tratado con SSF, los cuales presentan el menor número de células.

Al cabo de los 30 días, se observa que el incremento de osteocitos en los grupos siguen siendo superiores al grupo que recibió SSF; siendo similares entre el grupo que recibió alendronato y el grupo tratado con *Aloe vera* 50mg/kg.

## V. DISCUSIÓN

La regeneración ósea es un proceso dinámico que comprende fases de inflamación, reparación y consolidación (Peral et al., 2008), requiere de la interacción entre células, proteínas colágenas y no colágenas, matriz orgánica y mediadores (Elbacky et al., 2016); la capacidad de crecimiento, regeneración y remodelación ósea son mediadas por la inducción de osteoblastos (Lamprou et al., 2014), las cuales derivan de las células madre mesenquimales (Raja et al., 2016), siendo responsables de la síntesis de la matriz de colágeno en las cuales quedan atrapados y forman los osteocitos (Fernandez et al., 2006); asimismo, los osteoblastos son responsables de la síntesis la fosfatasa alcalina (Raja et al., 2016).

Se ha utilizado diversos materiales sustitutos para el aumento óseo alveolar que facilite el crecimiento óseo en áreas con severa reabsorción como defectos óseos (Toker et al., 2012); asimismo, patologías óseas como la osteoporosis no se diagnostican adecuadamente (Betchle, 2013) por lo que incrementan el riesgo de fractura asociada a la reducción de osteoblastos e incremento de factores que favorecen la resorción ósea (Antonopoulou, et al., 2013); es por ello, que se busca terapias eficaces que puedan favorecer la regeneración ósea como injertos óseos autólogos, aloinjertos, sustitutos biológicos o sintéticos, terapias que combinan biomateriales, células y factores de señalización (Tang, et al., 2016); de esta manera se puede considerar al extracto acuoso liofilizado de hojas de *Aloe vera* como un biomaterial y principio activo que favorece la regeneración ósea administrada de manera sistémica.

En la tabla 4 se evidencia incremento de los niveles de fosfatasa alcalina a los 15 días ( $p < 0.05$ ) para los grupos tratados con alendronato y *Aloe vera*, se evidencia efecto dosis dependiente; esto probablemente se debe a que la fosfatasa alcalina es una enzima que presenta 4 isoformas; fosfatasa alcalina intestinal (IAP), fosfatasa alcalina placentaria (PLAP) y fosfatasa alcalina de células germinales (GCALP) por células específicas; mientras que la fosfatasa alcalina no específica (TNAP) se expresa en el tejido óseo, hígado, riñón, SNC (Marques, 2016); la enzima TNAP hidroliza al pirofosfato

extracelular inorgánico, el cual es un inhibidor potente de la mineralización; para permitir la deposición fisiológica de hidroxapatita (Katzung, 2010). La fosfatasa alcalina es importante para la aposición ósea (Fernandez et al., 2006); en el presente estudio se evidencia incremento de los niveles de fosfatasa alcalina a los 15 y posterior reducción a los 30 días (Figura 5); estos resultados coinciden con Radha et al., en el 2015, encontraron resultados similares al administrar *Aloe vera* (Radha & Laxmipriya, 2015).

El *Aloe vera* ha sido utilizado para el tratamiento de trastornos dérmicos, quemaduras, psoriasis, cicatrización de heridas, antiséptico (Matti et al., 2010); asimismo, se observó que posee efectos sistémicos, modulación del inmune, actividad antiinflamatoria y favoreciendo la síntesis de colágeno (Chithra et al., 1998); además de poseer efectos analgésicos, antioxidantes, eficaces en el tratamiento de artritis reumatoide, diabetes, enfermedades de la piel (Bhattacharya et al., 2011).

Estudios han demostrado que el Alendronato, favorece la regeneración ósea, pertenece a la familia de los bifosfonatos, inhibe la resorción ósea mediada por los osteoclastos (Siebelt et al., 2014); son análogos del pirofosfato (Toker et al., 2012) bloquean la vía del mevalonato, indispensable para la supervivencia de los osteoclastos (Katzung, 2010); estos datos coinciden con lo observado en la presente investigación; a los 15 días hay una reducción significativa de osteoclastos por campo en el grupo tratado con Alendronato; del mismo modo a los 30 días (Tabla 5); se evidencia patrón similar en los grupos tratados con *Aloe vera* 500mg/kg; estos datos no coinciden con lo reportado por Toker et al. (2012) quienes administraron alendronato (0.01mg/kg/día durante 8 semanas por vía oral); por lo que se deduce que el efecto del alendronato es dependiente de la dosis y duración del tratamiento, así como lo determinó Aramburú et al., (2009) al administrar alendronato (0.5mg/kg cada 7 días durante 1 mes), incrementando los osteoblastos y osteocitos viables, incremento de los niveles de fosfatasa alcalina y reducción de los osteoclastos.

Otro indicador de la cicatrización ósea es la formación de osteocitos; los cuales son formados a partir de los osteoblastos que quedan atrapados en la

matriz sintetizada, representan la mayor proporción celular; sin embargo, no presentan actividad anabólica, perdieron la capacidad de secretar factores mediadores de la formación ósea (Fernandez et al. 2006); representan la consolidación ósea (Peral et al., 2008). En esta variable se evidencia que el *Aloe vera* a la dosis de 50mg/kg presenta una mayor cantidad de osteocitos a los 15 y 30 días (Figura 3).

Autores como Gonzales et al., (2002) evaluaron la capacidad del *Aloe vera* administrados durante 21 días en fracturas de tibia de ratas, encontrando resultados similares en la regeneración ósea; determinando además, que redujo los niveles de calcio y fósforo sérico; asimismo, Vadillo (2009) realizó un estudio sobre relleno alveolar a base de *Aloe vera*, *Croton lechieri* y los aplicó en el alveolo dentario posterior a la exodoncia en *Cavia porcellus*; encontrando resultados similares, en el incremento de tejido osteoide; además de proliferación de fibroblastos y fibras colágenas al día 28.

Leal et al. (2014) evaluaron en efecto de la asociación Mineral Trióxido Agregado (MTA) – *Aloe vera* en la reparación ósea comparado con la aplicación MTA–suero fisiológico, encontraron que el grupo tratado con MTA–*Aloe vera* presentó efecto antiinflamatorio a los 15 y 30 días, similar a lo observado en el presente estudio (Tabla 2); del mismo modo, se observó neoformación ósea a los 15 y 30 días, lo que coincide con lo observado (Tabla 7).

Asimismo, en el presente estudio se evidencia incremento de osteoblastos sin mostrar diferencias significativas (Tabla 3 – Figura 2); sin embargo, los niveles de fosfatasa alcalina y el recuento de osteocitos a los 15 días (Tabla 7) indican que el *Aloe vera* posee efecto regenerador óseo dependiente de la dosis; estos resultados están asociados con la reducción significativa de osteoclastos a los 15 días y 30 días (Tabla 5), considerando que los osteoclastos participan en la degradación, siendo importantes en la fagocitosis de tejido que delimita el área de la lesión durante los estadios iniciales, y posteriormente, se observa la disminución de osteoclastos favoreciendo una actividad anabólica al reducir la resorción ósea; la actividad de los osteoclastos está regulada principalmente por los

osteoblastos expresan el ligando del receptor activador NF $\kappa$ B (RANKL), presentes en la superficie de osteoclastos y precursores (Raja et al., 2016), se ha demostrado que la apoptosis de los osteocitos aumenta la expresión de los osteoblastos lo que incrementa los niveles de RANKL que activarán a los osteoclastos (Tatsumi et al., 2007); para permitir las fases de remodelación y mantenimiento óseo.

Asimismo, los fibroblastos juegan un rol importante durante la cicatrización, se ha demostrado que pueden ser células no osteogénicas que producen factores osteoinductores al sobreexpresar proteína morfogenética ósea – 2 (BMP-2), facilitando la capacidad de inducción (Lin et al., 2015); sin embargo, su función es importante solo en las primeras semanas; ya que, si se prolonga podrían favorecer la formación de tejido fibroso impidiendo de esta manera la acumulación de minerales e hidroxapatita; por ello, estudios basados en el principio de regeneración ósea guiada permiten la separación mediante una membrana entre los tejidos no osteogénicas que interfieran la regeneración ósea (Turri et al., 2016); en el presente estudio se evidencia que el grupo I, tratado con SSF no incrementó en número de osteocitos en la misma magnitud que los otros grupos (Figura 6) y esto coincide con la moderada proliferación de fibroblastos en el grupo I (Figura 5), por lo que se presume, que hubo poca producción de BMP–2.

La proliferación de fibroblastos en el grupo tratado con *Aloe vera* a los 15 días (Tabla 6), coinciden con lo propuesto por Alarcón et al. (2013) quienes determinaron que el acemanano estimula la proliferación de fibroblastos y el VEGF; asimismo, Rahda et al. (2015) observó que hubo incremento de la regeneración del hueso alveolar, cemento y ligamento periodontal; atribuidos al acemano.

Katsuyama et al. (2015) refieren que la presencia de células inflamatorias crónicas favorecen la liberación de citoquinas proinflamatorias, TNF- $\alpha$ ; la cual favorece la activación de osteoclastos e impide la maduración de osteoblastos, de ello, se desprende la importancia en el control de la inflamación para favorecer la regeneración ósea; en el presente estudio se evidencia reducción no significativa del número de linfocitos por campo

(Tabla 2); estos resultados difieren de los planteados por Sarkar et al. (2005), quienes si encontraron diferencias significativas sobre la inflamación atribuidas a la reducción de factores proinflamatorios y niveles de óxido nítrico.



## VI. CONCLUSIONES

1. La administración del extracto acuoso liofilizado del *Aloe vera* en cobayos sometidos a osteotomía mandibular no ha evidenciado reducción del número de linfocitos a los 15 y 30 días.
2. La administración del extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* en cobayos sometidos a osteotomía mandibular no ha evidenciado formación del número de osteoblastos durante la reparación ósea a los 15 y 30 días.
3. La administración del extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* en cobayos sometidos a osteotomía mandibular evidencia incremento de los niveles de fosfatasa alcalina durante la reparación ósea a los 15 y 30 días.
4. La administración del extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* en cobayos sometidos a osteotomía mandibular evidencia reducción del número de osteoclastos durante la reparación ósea a los 15 y 30 días.
5. La administración del extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* en cobayos sometidos a osteotomía mandibular evidencia incremento del número de fibroblastos durante la reparación ósea a los 15.
6. La administración del extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* en cobayos sometidos a osteotomía mandibular evidencia incremento del número de osteocitos durante la consolidación ósea a los 15 y 30 días.

## **VII. RECOMENDACIONES**

Se sugiere realizar estudios en relación la asociación con diversos productos, como fitoestrógenos, asociación con otros fármacos moduladores que participan en la regulación del tejido óseo.

Se sugiere realizar estudios en terapias prolongadas y en otros modelos para patologías crónicas como la osteoporosis.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguirre Siancas, E. (2013). Influencia de la presión de Oxígeno ambiental en la formación ósea del maxilar inferior posterior a una osteotomía en cuyes nativos del nivel del mar. Tesis para optar el Grado de Magister en Fisiología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Aguirre Siancas, E. E. (2013). Influencia de la hipoxia sobre el metabolismo óseo. Rol central del factor inducible por hipoxia. Anales de la Facultad de Medicina. UNMSM, 74(4), 321-325.

Alarcón Galleguillos, M., & Fernandez da Silva, R. (2013). Aplicación terapéutica del aloe vera L. en Odontología. Salus Online, 42-50.

Allais M, Maurette P, Gomez N, Barreto T, Fraga S, Dias E, .... Barboza C. (2015). Comparative study of bone regeneration in critical cranial bone defects using bone marrow adult stem cells and calcium phosphate. Cirugía Oral y Maxilofacial, 37(1),15-22.

Alonso, M., Támbara, J., López, M., Aguilar, J., Mayo, O., Prieto, E., . . . Hardy, E. (2012). On the isolation of immunostimulatory active acemannan from *Aloe barbadensis*. Biotecnología Aplicada, 29, 87-101.

Antonopoulou, M., Bahtiyar, G., Banerji, A., & Sacerdote, A. (2013). Diabetes and bone health. Maturitas, 76, 253-259.

Aramburú, G., Aguzzi, A., HUBert, S., Virga, C. (2009). Estudio histopatológico sobre el efecto de una nueva formulación de alendronato administrado por vía subcutánea. Acta Odontológica Venezolana, 47(3),1-8.

Bermudez Garcia, A. J. (2002). Características del tratamiento quirúrgico de las fracturas de paleta humeral en niños. Tesis para optar el Título de especialista en Cirugía Ortopédica y Traumatología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Betchle, J. (2013). Osteoporosis Risk Reduction and Bone Health. Nursing for Women's Health, 17(3), 245-251.

Bhattacharya, M., Malik, S., & Singh, A. (2011). Aloe Vera Barbedensis: A review on its Ethanopharmacological value. *Journal of Pharmacy Research*, 4(12), 4507-4510.

Bone, K., & Mills, S. (2013). *Principles and Practice of Phytotherapy*. (3. edición, Ed.) Elsevier Ltd.

Boonyagul, S., Banlunara, W., Sangvanich, P., & Thunyakitpisal, P. (2012). Effect of acemannan, an extracted polysaccharide from Aloe vera, on BMSCs proliferation, differentiation, extracellular matrix synthesis, mineralization, and bone formation in a tooth extraction model. *Odontology*, 12(1).

Chantarawatit, P., Sangvanich, P., & Thunyakitpisal, P. (2013). Acemannan Stimulates Bone Sialoprotein, Osteocalcin, Osteopontin and Osteonectin Expression in Periodontal Ligament Cells in Vitro. *Journal Dental Association*, 63(2), 92-102.

Chithra, C., Sajithlal, G., & Chandrakasan, G. (1998). Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 59, 195-201.

Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (10 Edition ed.). Washington, D.C.: National Academy of Sciences.

Dadsetan, M., Guda, T., Runge, M., Mijares, D., Legeros, R., Legero, J.,.....Jaszemski, M. Effect of calcium phosphate coating and rhBMP-2 on bone regeneration in rabbit calvaria using poly(propylene fumarate) scaffolds. *Acta Biomaterialia*, 18, 9-20.

Devaraj, A., & Karpagam, T. (2011). Evaluation of antiinflammatory activity and analgesic effect of aloe vera leaf extract in rats. *international research journal of pharmacy*, 2(3), 103-110.

Elbackly, R., Mastrogiacomo, M., & Cancedda, R. (2014). Bone Regeneration and Bioengineering. En G. Orlando, J. Lerut, & R. Stratta,

Regenerative Medicine Applications in Organ Transplantation (1 Edition ed., págs. 783-794). USA: Elsevier.

Elbacky, R., Mastrogiacomo, M., & Cancedda, R. (2016). Bone Regeneration and Bioengineering. Translating Regenerative Medicine to the Clinic.

Fernandez, I., Alovera, M. A., Del Canto, M., & Blanco, L. (2006). Bases fisiológicas de la regeneración ósea I. Histología y fisiología del tejido óseo. Medicina Oral, Patología Oral, Cirugía Oral, 11, E47-E51.

Fernandez, I., Alovera, M., Del canto, M., & Blanco, L. (2006). Bases fisiológicas de la regeneración ósea II: El proceso de remodelado. Medicina Oral, Patología Oral, Cirugía Bucal, 11, E151-157.

Fekrazaad, R., Sadegui, M., Eslaminejad, M., Taghiyar, L., Kalhori, K., Pedram, M. (2015). The effects of combined low level laser therapy and mesenchymal stem cells on bone regeneration in rabbit calvarial defects. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 151, 180–185.

Franco, C., Muñoz, D., Gomez, C., Chau, G., Cueva, L., Guardia, E., . . . Herrera, O. (2016). Características fitoquímicas y capacidad antioxidante in vitro de Aloe vera, Plukenetia volubilis, Caiophora carduifolia, Cecropia membranacea. Anales de la Facultad de Medicina, 77(2).

Gala-Garcia, A., Texeira, K., Mendes, L., Sobrinho, A., Santos, V., & Cortes, M. (2008). Effect of *Aloe vera* on rat pulp tissue. Pharmaceutical Biology, 46(5), 302-308.

Ganong. (2010). Fisiología Médica (23 Edición ed.). Bogota: Mc Graw Hill Interamericana Editores.

Gonzales, M., Sotolongo, M., & Batista, M. (2002). Extracto de Aloe Barbadensis inyectable en fracturas. Revista Cubana Plantas Medicinales, 7(1), 14-17.

Hamman, J. (2008). Composition and Applications of Aloe vera Leaf Gel. Molecules, 13, 1599-1616.

Hirai, E., Yamamoto, K., Yonemasu, H., Takahashi, O., Takao, M., & Fushimi, C. (2014). Odontogenic myxoma containing osteocement-like tissue: Report of a case with an unusual histopathological feature. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology*, 26, 407-410.

Jia, Y., Zhao, G., & Jia, J. (2008). Preliminary evaluation: The effects of *Aloe ferox* Miller and *Aloe arborescens* Miller on wound healing. *Journal of Ethnopharmacology*, 120, 181-189.

Katsuyama, T., Otsuka, K., Teresaka, T., Inagaki, K., Takano, M., Matsumoto, Y., . . . Makino, H. (2015). Regulatory effects of fibroblast growth factor-8 and tumor necrosis factor- $\alpha$  on osteoblast marker expression induced by bone morphogenetic protein-2. *Peptides*, 73, 88-94.

Katzung, B. (2010). *Farmacología básica y clínica* (11 Edición ed.). Mexico: Mc Graw Hill.

Keuth, H. (2015) *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences* (2nd Edition). USA: Elsevier

Lin, Z., Limura, T., Kasugai, S., & Yamaguchi, A. (2015). Oral mucosal fibroblasts overexpressing BMP-2 differentiate into osteoblasts and participate in new bone formation during bone regeneration. *Journal of Oral Biosciences*, 57(2), 118-123.

Lamprou, M., Kaspiris, A., Panagiotopoulos, E., Giannoudis, P., & Papadimitriou, E. (2014). The role of pleiotrophin in bone repair. *Injury*, 45(12), 1816-1823. doi:10.1016 / j.injury.2014.10.013

Leal J, Araujo C, Miranda G, Mello I, Riveiro F, Souza I,...Roriguez M. (2014). Aloe vera as vehicle to mineral trioxide aggregate: study in bone repair. *Rev. odontol. UNESP*, 43(5),299-304.

Lupsa, B., Insogna, K. (2015) *Bone Health and Osteoporosis*. *Endocrinol Metab Clin North Am* 44,517-30.

Maenthaisong, R., Chaiyakunapruk, N., Niruntraporn, S., & Kongkaew, C. (2007). The efficacy of aloe vera used for burn wound healing: A systematic review. *Burns*, 33, 713-718.

Mantipragada, V., Jayasuriya, A., (2016). Bone regeneration using injectable BMP-7 loaded chitosanmicroparticles in rat femoral defect. *Materials Science and Engineering*, C 63,596–608.

Marques, S., Buchet, R., Popowycz, F., Lemaire, M., Mebarek, S. (2016). Synthesis of benzofuran derivatives as selective inhibitors of tissue-nonspecific alkaline phosphatase: effects on cell toxicity and osteoblast-induced mineralization. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 26(5),1457-1459.

Matti, M., Al-Ameen, S., & Rashed, S. (2010). Some biochemical effects of Aloe vera leaves on tissues in normal mice. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 24(2), 93-97.

Miraval Niño de Guzman, T., Becerra Rojas, F., & Segami Salazar, I. (2001). Fractura de cadera a trauma mínimo en mayores de 50 años: morbimortalidad y pronóstico funcional. *Revista Peruana de Reumatología*, 7(2).

Morin, E. (2008). Aloe vera (L.) Burm.f . : Aspects pharmacologiques et cliniques. These pour le diplome d'etat de docteur en pharmacie, universite de nantes faculte de pharmacie.

Mulay, S., Borade, A., Bele, A., & Khale, A. (2013). Aloe vera - A review. *International Journal Pharm. Phytopharmacol. Research*, 3(3), 203-211.

Orwol, E., Martin, E. (2015) Pharmacologic Treatment of Osteogenesis Imperfecta: New Agents and their Potential Implications for Osteogenesis Imperfecta. *Osteogenesis imperfecta*. Academic Press

Peral, B., Redondo, L., Verrier, A., & Serrat, A. (2008). Estudio experimental sobre la regeneración osea mandibular de la rata con diversos biomateriales. *Revista Especializada Cirugía Oral y Maxilofacial*, 30(5), 313-323.

Perez, R., Seo, S., Won, J., Lee, E., Jan, J., Knowles, J., Kim, H. (2015). Therapeutically relevant aspects in bone repair and regeneration. *Materials Today*, 10(18), 574-589.

Picardo, S., Rodriguez, S., Rey, E. (2016). Osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos en pacientes osteoporóticos. *Cirugía Oral y Maxilofacial*. 37(2), 103-107.

Radha, M., & Laxmipriya, N. (2015). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloe vera: A systematic review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5, 21-26.

Rahman, A., Tajuddin, & Amin, K. (2014). Biological evaluation for anti-arthritic potential of hydro-alcoholic and aqueous extract of a polyherbal formulation. *Journal of Pharmacy Research*, 8(3), 254-259.

Raja, I., Zhem, R., Ee, T., & Leong, E. (2016). Los estudios preclínicos y evaluación clínica de los compuestos del género *Epimedium* para la osteoporosis y la salud de los huesos. *Pharmacology & Therapeutics*, IN PRESS.

Revolledo, M., Harris, J., Higgins, E., & Molinares, L. (2011). Cicatrización y regeneración ósea de los maxilares después de una quistectomía: reporte de un caso y revisión de la literatura. *Univ. Odontol*, 30(75), 71-78.

Sarkar, D., Dutta, A., Das, M., Sarkar, K., Mandal, C., & Chatterjee, M. (2005). Effect of aloe vera on nitric oxide production by macrophages during inflammation. *Indian Journal Pharmacology*, 37(6), 371-375.

Siebelt, M., Waarsing, J., Groen, H., Müller, C., Koelewijn, S., de Blois, E., ... Weinans, H. (2014). Inhibited osteoclastic bone resorption through alendronate treatment in rats reduces severe osteoarthritis progression. *Bone*, 66, 163-170.

Tang, D., Tara, R., Yang, L., Williams, D., Liang, K., & Oreffo, R. (2016). Biofabrication of bone tissue: approaches, challenges and translation for bone regeneration. *Biomaterials*, 83, 363-382.



Tatsumi, S., Ishii, K., Amizuka, N., Li, M., Kobayashi, T., Kohno, K., ... Ikeda, K. (2007). Targeted Ablation of Osteocytes Induces Osteoporosis with Defective Mechanotransduction. *Cell Metabolism*, 5(6), 464-475.

Toker, H., Ozdemir, H., Ozer, H., & Eren, K. (2012). Alendronate enhances osseous healing in a rat calvarial defect model. *Archives of oral Biology*, 57, 1545-1550.

Turner, A., Tjahyono, F., Maria Chiu, W., Skinner, J., Sawyer, A., Moore, A., ... Davey, R. (2011). The role of the calcitonin receptor in protecting against induced hypercalcemia is mediated via its actions in osteoclasts to inhibit bone resorption. *Bone*, 48, 354-361.

Turri, A., Elgali, I., Vazirisani, F., Johansson, A., Emanuelsson, L., Dahlin, C., ... Omar, O. (2016). Guided bone regeneration is promoted by the molecular events in the membrane compartment. *Biomaterials*, 84, 167-183.

Vadillo Palacios, G. Y. (2009). Estudio comparativo de la respuesta tisular al relleno alveolar a base de Aloe vera y Croton lechleri, en Alvéolos post exodoncia en incisivos de *Cavia porcellus*. Lima: Tesis para optar el grado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Vijayalakshmi, D., Dhandapani, R., & Jayaveni, S. (2012). In vitro anti inflammatory activity of Aloe vera by down regulation of MMP-9 in peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 141, 542-546.

Wilgus, T. A. (2008). *Pharmacological Research* 58 (2008) 112–116. *Pharmacological Research*, 58, 112-116

## **ANEXOS**

## Anexo 1: TAXONOMÍA DEL *Aloe vera*



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"

### CONSTANCIA N° 183-USM-2015

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (hoja y flor) recibida de **César Ivanovich FRANCO QUINO**, alumno de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de la Fac. de Farmacia y Bioquímica, ha sido estudiada y clasificada como: ***Aloe vera* (L.) Burman f.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: LILIOPSIDA**

**SUBCLASE: LILIIDAE**

**ORDEN: LILIALES**

**FAMILIA: ALOACEAE**

**GENERO: *Aloe***

**ESPECIE: *Aloe vera* (L.) Burman f.**

Nombre vulgar: "aloe vera"  
Determinado por Blgo. Severo Baldeón Malpartida.

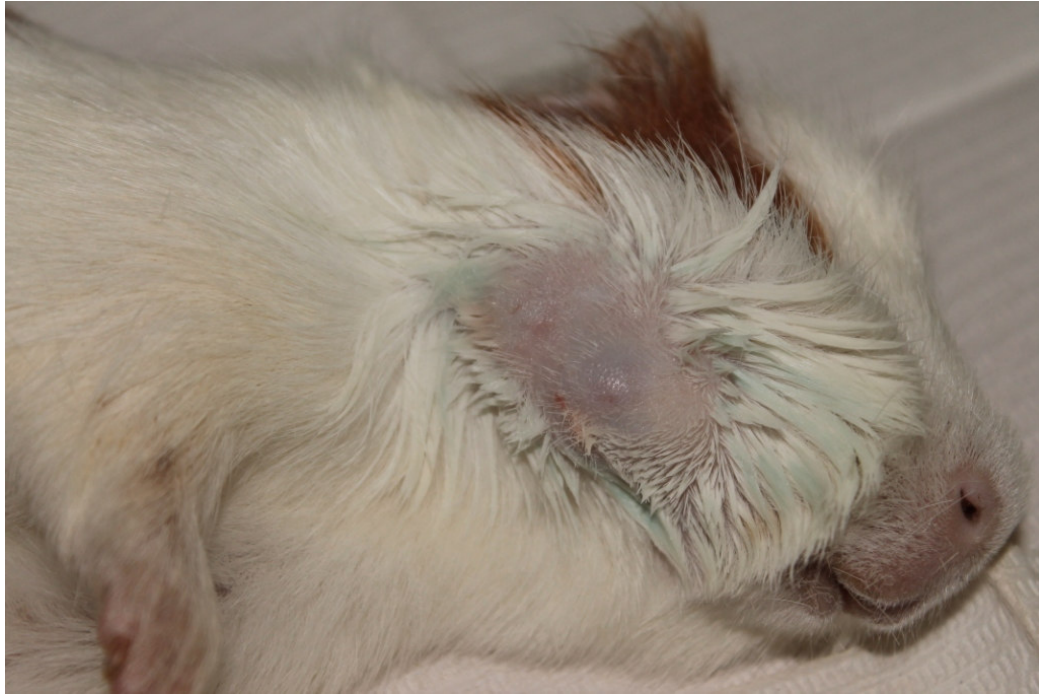
Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 24 de setiembre de 2015

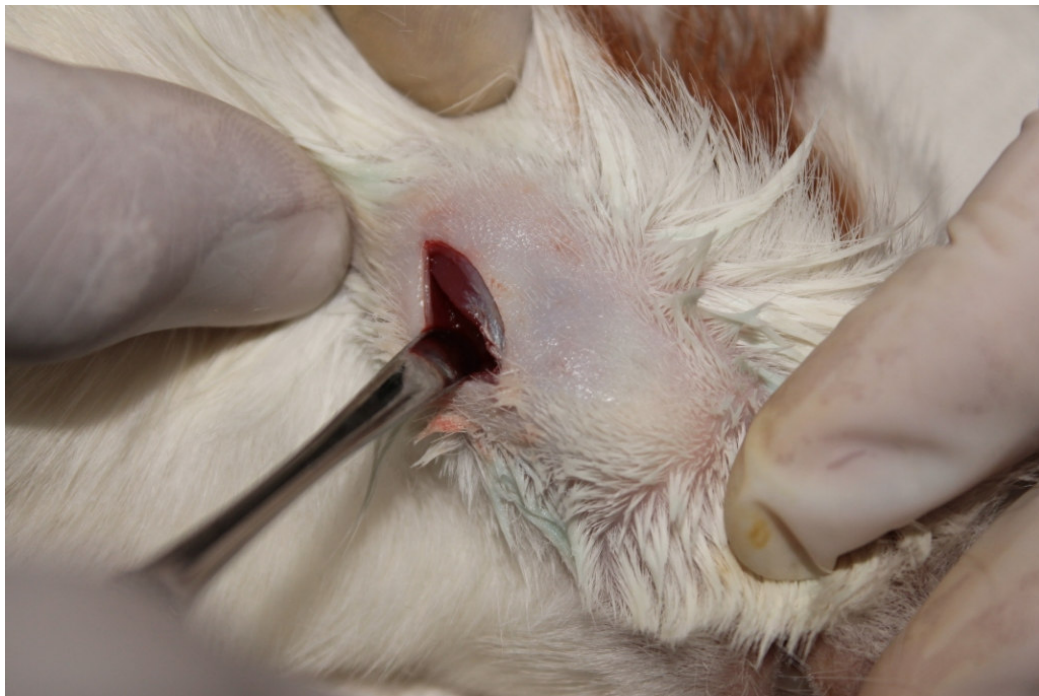


*Haydee Montoya Terreros*  
**Dra. Haydee Montoya Terreros**  
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

**Anexo 2: PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO PARA LA OSTEOTOMÍA MANDIBULAR EN COBAYO.**



Anestesia general y depilación de la zona mandibular derecha



Incisión y decolado posterior a la aplicación de Lidocaína 2% con adrenalina  
1:80 000

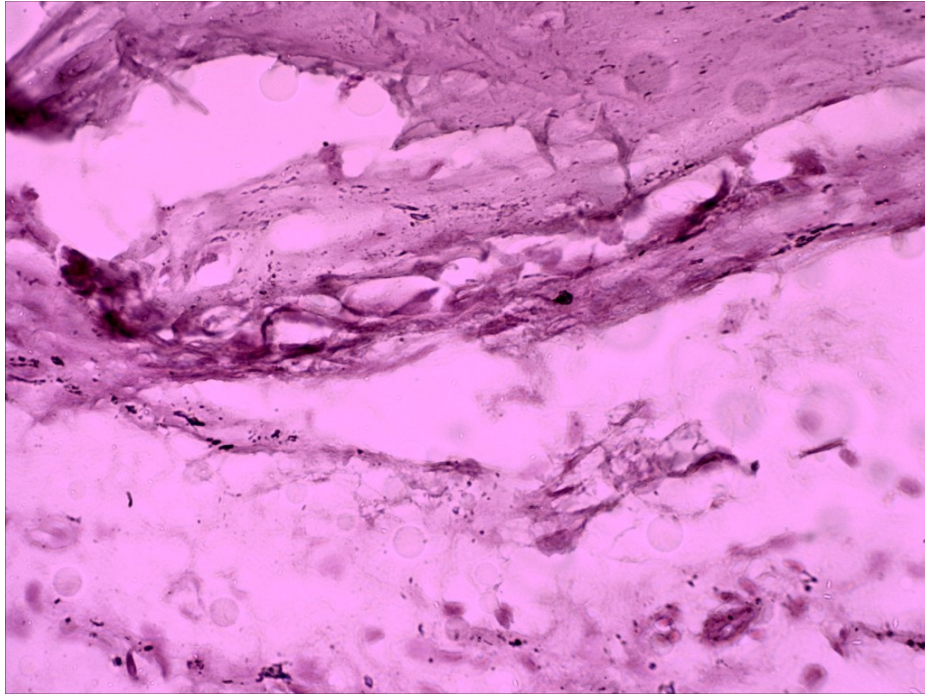


Osteotomía mandibular con fresa quirúrgica

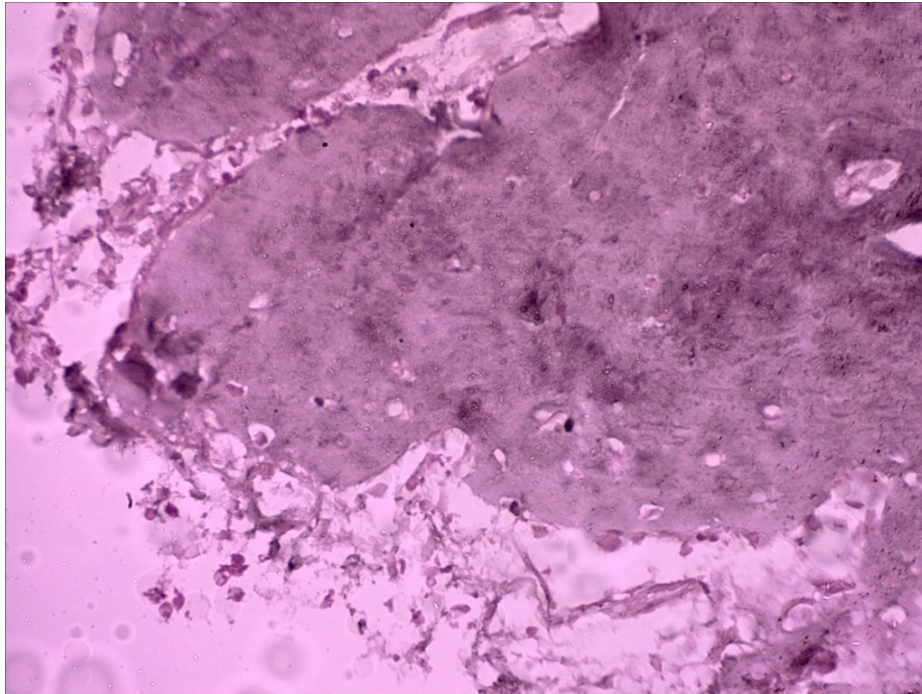


Cierre de la herida quirúrgica y sutura por planos

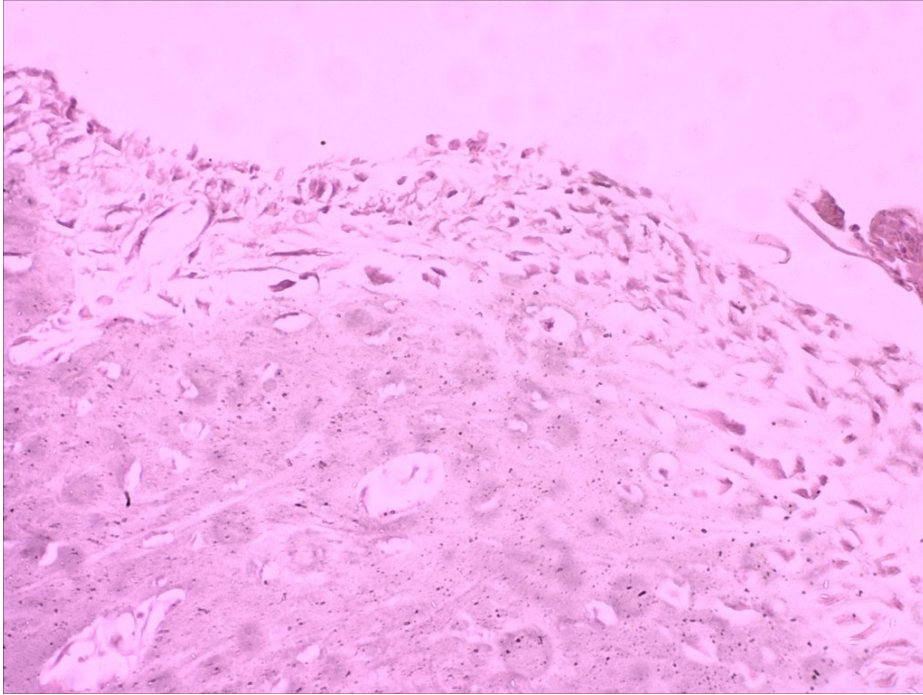
**Anexo 3: EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE LA OSTEOTOMÍA MANDIBULAR EN COBAYO.**



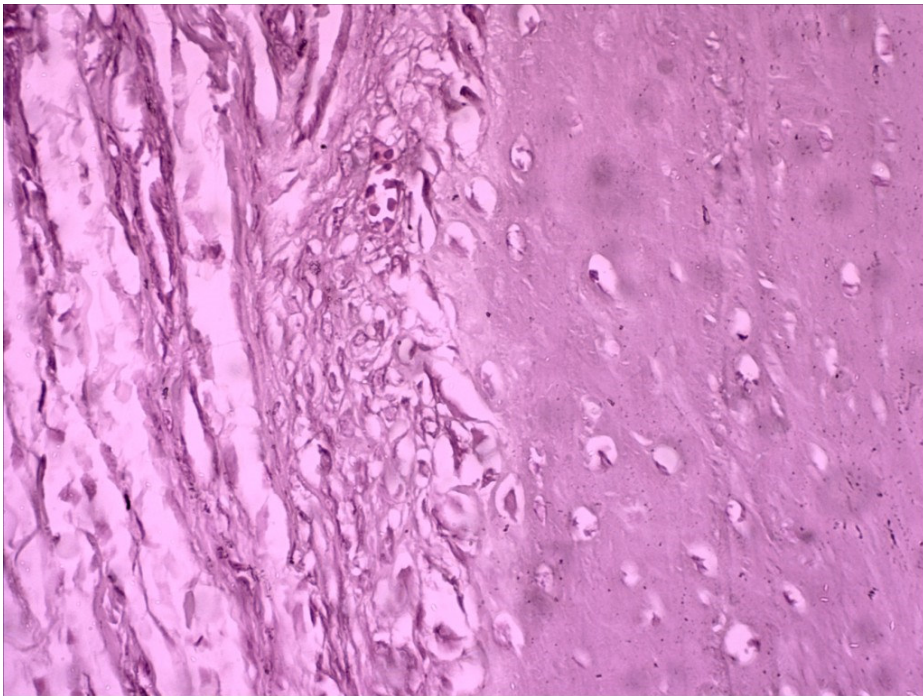
**Grupo I: SSF a los 15 días**



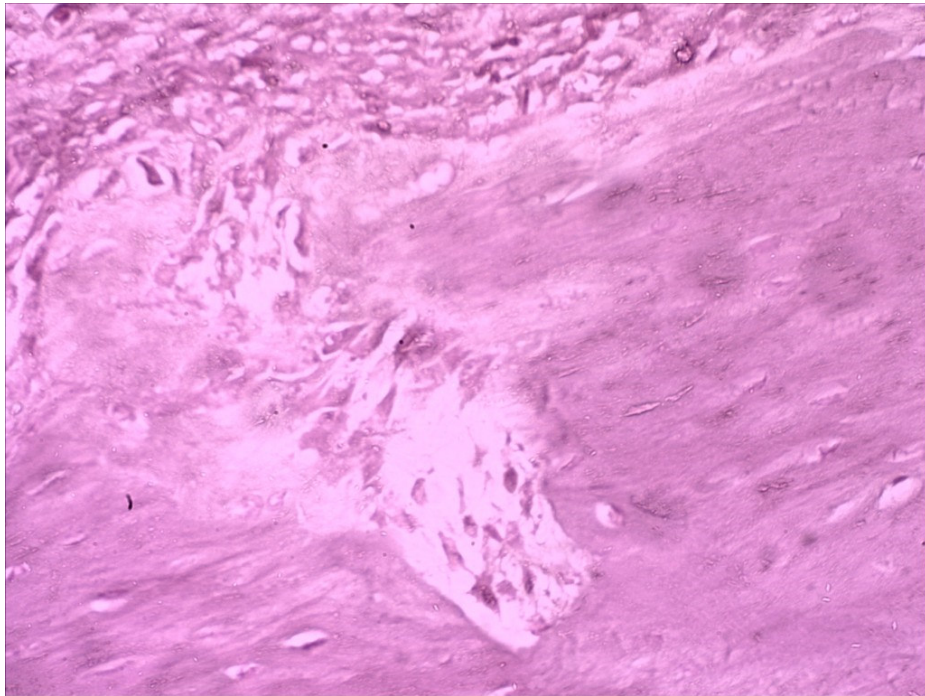
**Grupo I: SSF a los 30 días**



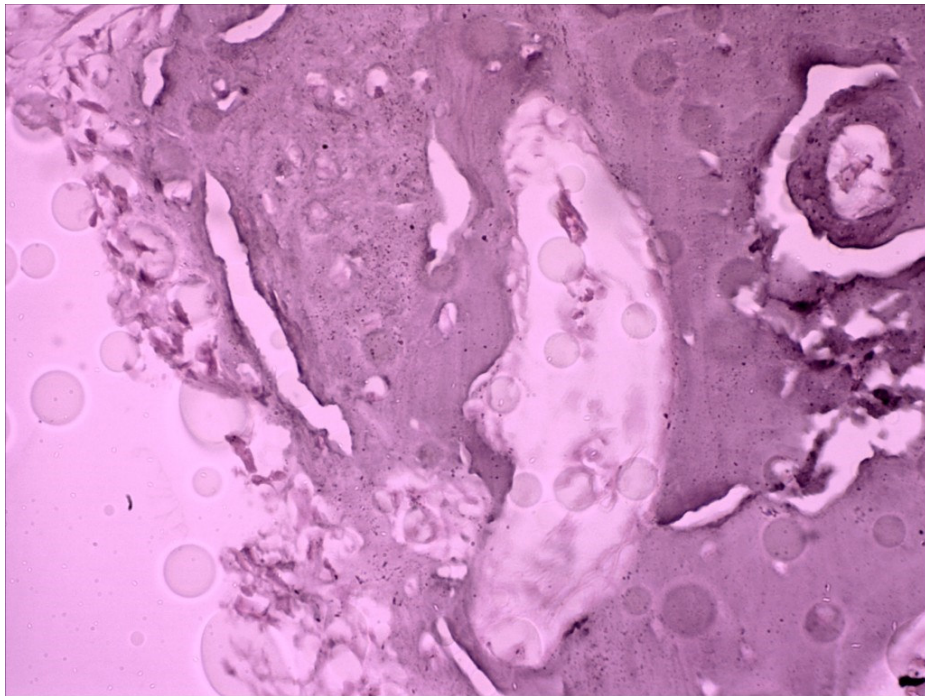
**Grupo II: Alendronato a los 15 días**



**Grupo II: Alendronato a los 30 días**

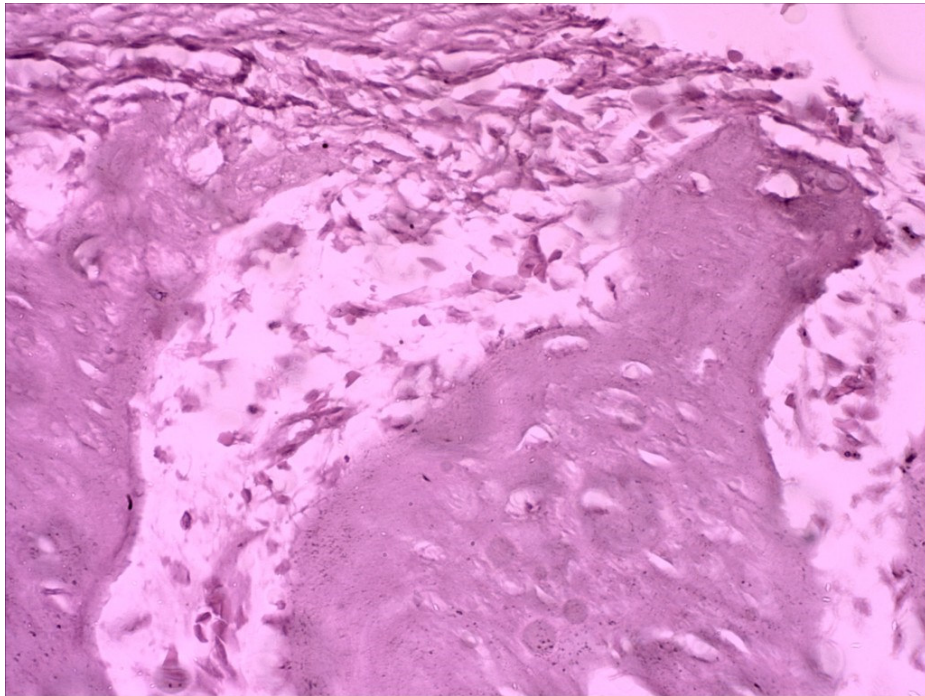


**Grupo III: Aloe vera 50mg/kg a los 15 días**

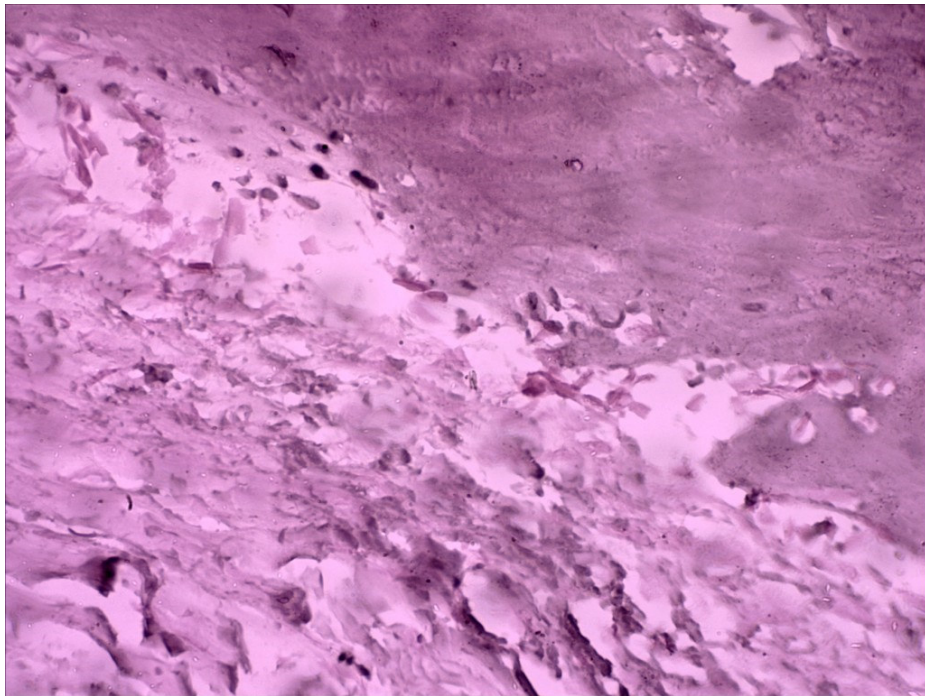


**Grupo III: Aloe vera 50mg/kg a los 30 días**

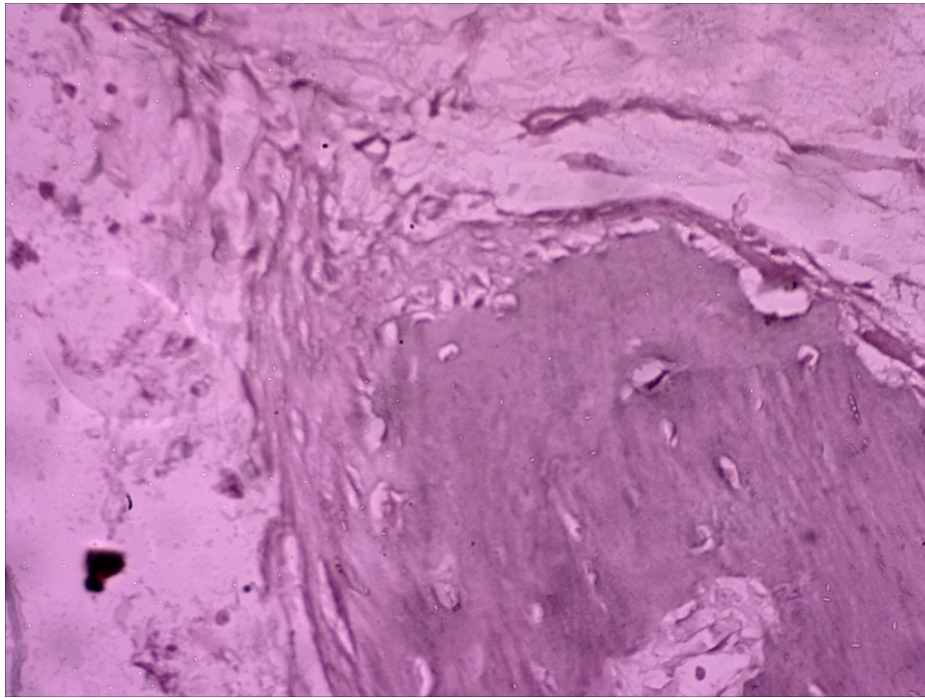




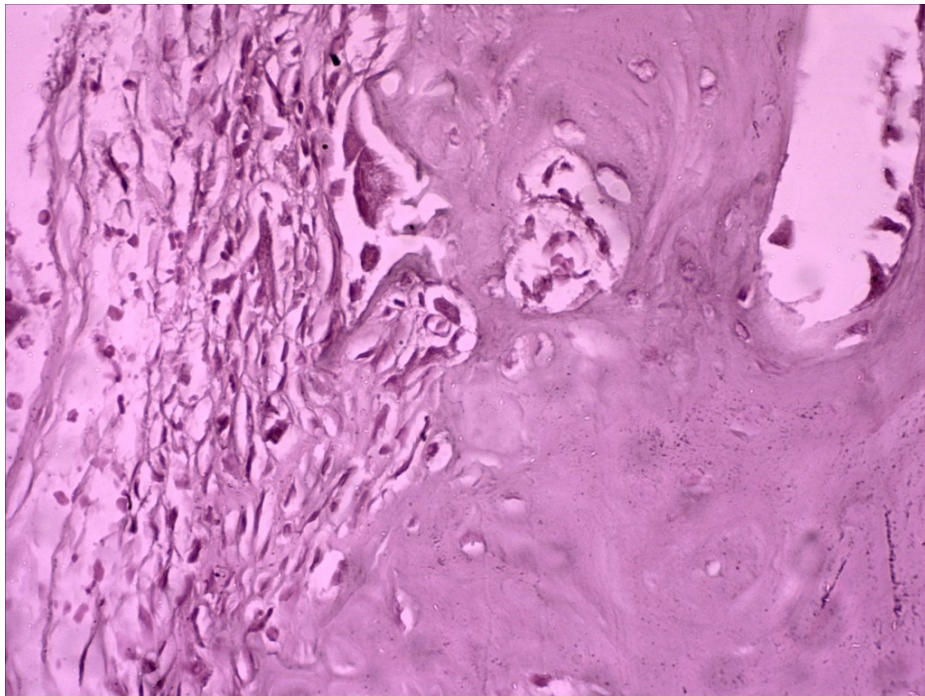
**Grupo IV: Aloe vera 250mg/kg a los 15 días**



**Grupo IV: Aloe vera 250mg/kg a los 30 días**



**Grupo V: *Aloe vera* 500mg/kg a los 15 días**



**Grupo V: *Aloe vera* 500mg/kg a los 30 días**

#### Anexo 4 : OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA	ESCALAS	VALOR FINAL
<b>Variable independiente:</b> Extracto acuoso liofilizado de hojas de <i>Aloe vera</i>	Solución de <i>Aloe vera</i> liofilizado disuelto en suero fisiológico	Liofilizado de las hojas de <i>Aloe vera</i> por el método de desecación	Extracto acuoso	Solución homogénea de extracto acuoso	mg/mL	Razón	50mg/kg
							250mg/kg
							500mg/kg
<b>Variable dependiente:</b> Regeneración ósea	Es un proceso largo que compromete 3 estadios: 1. Inflamatorio 2. Reparativo 3. Consolidación. (Vadillo Palacios, 2009)	Defecto óseo en la mandíbula de cobayo de un diámetro de 4mm con una profundidad de 2mm (Aguirre Siancas E. E., 2013)	Inflamación	Linfocitos	Recuento por campo	Razón	N° de células/campo
			Reparación	Osteoblastos	Recuento por campo	Razón	N° de células/campo
				Fosfatasa alcalina	UI/L	Razón	Disminuido/Normal/Aumentado
				Osteoclastos	Recuento por campo	Razón	N° de células/campo
				Fibroblastos	Recuento por campo	Razón	N° de células/campo
			Consolidación	Osteocitos	Recuento por campo	Razón	N° de células/campo