UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA, ESTOMATOLOGÍA,

RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA

"ESTUDIO EXPERIMENTAL DE OSTEONECROSIS PRODUCIDA POR BISFOSFONATOS NITROGENADOS"

MEMORIA DE TEIS DOCTORAL

ASCENSIÓN MARTÍNEZ CÁNOVAS

MURCIA, 2010

ABREVIATURAS ***5***

1. INTRODUCCIÓN ***6***

1.1. CRONOLOGÍA DE LOS BISFOSFONATOS 7
1.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS 8
1.3. CLASIFICACIÓN DE LOS BISFOSFONATOS 10
1.3.1. Bisfosfonatos No Nitrogenados 10
1.3.2. Bisfosfonatos Nitrogenados 11
1.4. APLICACIONES CLÍNICAS DE LOS BISFOSFONATOS 14
1.5. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS BISFOSFONATOS 17
1.5.1. Mecanismos de acción de los Bisfosfonatos Nitrogenados 20
1.5.2. Mecanismos de acción de los Bisfosfonatos No Nitrogenados 21
1.6. FARMACOCINÉTICA 24
1.7. POSIBLES EFECTOS ADVERSOS DEBIDOS A LA ACCIÓN DE LOS BISFOSFONATOS 30
1.7.1. Toxicología animal 30
1.7.2. Complicaciones clínicas en humanos 31
1.8. OSTEONECROSIS 37
1.8.1. Definición 37
1.8.2. Criterios diagnósticos 39
1.8.3. Incidencia de la Osteonecrosis 42
1.8.4. Posibles factores de riesgo 47
1.8.5. Posibles causas y mecanismos de producción de la ONMB 51
1.9. TRATAMIENTOS PROPUESTOS PARA LA ONMB 53
1.9.1. Grupo 1: Pacientes que van a comenzar con la terapia de aminobisfosfonatos 54
1.9.2. Grupo 2: Pacientes sin osteonecrosis de la mandíbula que estén recibiendo terapia intravenosa con aminobisfosfonatos 55
1.9.3. Grupo 3: Pacientes con osteonecrosis de maxilares establecida 56

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS ***60***

3. METODOLOGÍA DE TRABAJO 64

3.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN 65
3.2. DISEÑO DEL ESTUDIO 70
3.3. FÁRMACOS UTILIZADOS 68
3.4. EXODONCIAS DE MOLARES 70
3.5. SACRIFICIO DE LOS ANIMALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS ... 73
3.6. DIAGNOSTICO CLÍNICO PATOLÓGICO DE LAS ONM 77
3.7. MEDICIÓN DE LA EXTENSIÓN RADIOLÓGICA DE LAS ONM 78
3.8. VALORACION DE LA EXTENSIÓN CLÍNICA DE LAS ONM..... 82
3.9. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LA VASCULARIZACIÓN E INFLAMACIÓN EN LAS ONM 82
3.10. ESTUDIO DE LOS NIVELES DE CA Y P EN MANDÍBULA Y CABEZA DE FÉMUR..... 84
3.11. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO 87

4. RESULTADOS 89

5. DISCUSIÓN 103

6. CONCLUSIONES 116

7. BIBLIOGRAFÍA 118

ABREVIATURAS

ATP: Adenosin trifosfato.

BFs: Bisfosfonatos.

BFs- N: Bisfosfonatos nitrogenados.

BFs- NN: bisfosfonatos no nitrogenados.

BPS: Bencilpenicilina Sódica

Ca: Calcio

DX: Dexametasona

HA: Hidroxiapatita

IPF: Isopentanil Pirofosfato

IV: intravenoso

FPFS: Farnesil Pirofosfato Sintetasa.

Mb: Mandíbula

Mx: Maxilar

ON: osteonecrosis.

ONMB: osteonecrosis maxilar por Bisfosfonatos.

P: Fósforo.

PFI: Pirofosfato inorgánico.

PD: Pamidronato Disódico.

Introducción

1.1. CRONOLOGÍA HISTORICA DE LOS BISFOSFONATOS

Los Bisfosfonatos (BFs) son conocidos desde mediados del siglo IX, cuando se produjo la primera síntesis en Alemania en 1865. El etidronato, fue el primer BF usado para el tratamiento de enfermedades humanas, el cual fue sintetizado hace más de 100 años. Los BFs se emplearon a nivel industrial principalmente como inhibidores de la corrosión o como agentes en la industria textil, fertilizantes, y aceites industriales. Su capacidad para inhibir la precipitación del carbonato cálcico de forma similar a los polifosfatos, los cuales, habían sido ampliamente usados, estimuló su utilización.

Sólo en las últimas tres décadas los BFs han sido desarrollados como medicamentos para diversas enfermedades óseas, para aplicación dental y en alteraciones del metabolismo del calcio. Por tanto las características biológicas de los BFs se conocen desde hace 30 años, cuando se publicó el primer informe por un grupo de autores en 1968.

El concepto derivó de los estudios anteriores sobre pirofosfato inorgánico, donde se había encontrado que el plasma y la orina contienen compuestos que inhiben la precipitación de fosfato de calcio y que parte de esta actividad inhibitoria era debida a este pirofosfato inorgánico, un compuesto que no se había descrito previamente en la literatura científica. Fue entonces cuando el pirofosfato demostró que afectaba *in vitro* la formación y disolución de los cristales de fosfato de calcio. Este efecto fue similar con el carbonato de calcio y, por esta razón, habían sido utilizados en detergentes.

Desde que el pirofosfato se demostró capaz de inhibir la calcificación ectópica *in vivo*, se sugirió que podría actuar como un regulador fisiológico de la calcificación, y quizá también de la descalcificación, *in vivo*, aunque su concentración local está determinada por la actividad de pirofosfatasas locales. Debido a su falta de acción cuando se administra por vía oral y su rápida hidrólisis cuando se administra por vía parenteral, el pirofosfato se usa de forma terapéutica sólo en la gammagrafía y contra el cálculo dental. Esto llevó a buscar análogos que mostraran actividades físico-químicas similares, pero

resistentes a la hidrólisis enzimática y, por tanto, que no se degraden metabólicamente, surgiendo así los BFs que cumplen con estas condiciones (**Fleisch 1998**).

Una vez que el valor clínico potencial del BF fue primeramente apreciado en la década de 1970, los esfuerzos de investigación se centraron en el desarrollo de compuestos más potentes en la actividad antireabsortiva, pero sin capacidad para inhibir la mineralización.

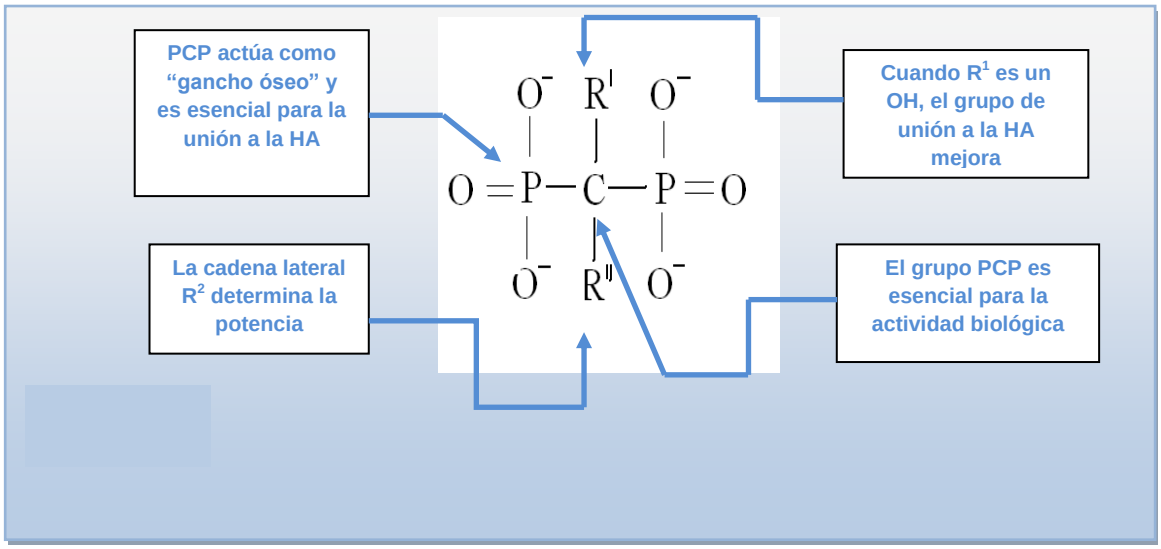
Con compuestos como el etidronato, hubo una diferencia 10 veces menor entre las dosis que inhibe la mineralización y la dosis que reduce la reabsorción ósea. En contraste, el perfil del clodronato, que surgió de los primeros estudios, perfila que esto podría no ser una propiedad universal de los BFs y, de hecho, la inhibición de la resorción ósea podría ser fácilmente alcanzada sin ningún tipo de alteración de la mineralización. Más tarde, la introducción de los primeros sustituyentes nitrogenados, en análogos como el alendronato y el pamidronato, llevó al desarrollo de BFs adicionales en los que la inhibición de la reabsorción ósea es claramente separable de cualquier efecto sobre la mineralización (**Russell 2008**).

1.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

Los BFs, erróneamente llamados difosfonatos en el pasado (**Fleisch 1998**), son compuestos químicamente estables derivados del pirofosfato inorgánico (PFI); un compuesto que se produce de manera natural en los organismos, en el cual dos grupos fosfato están unidos por esterificación a una molécula de oxigeno (**Drake 2008**) (**Russell 2008**); mientras que los BFs están caracterizados por dos uniones C-P (***Figura 1***). Si las dos uniones están localizadas en el mismo átomo de carbono, el compuesto es llamado bisfosfonato geminal (**Fleisch 1998**). En la literatura estos compuestos son llamados normalmente "*Bisfosfonatos*". Aunque esto no es totalmente correcto ya que los bisfosfonatos no geminales también son BFs, se adopta esta nomenclatura para simplificar (**Fleisch 1998**). La estabilidad es conferida por esta sustitución de un átomo de carbono en vez del átomo de oxigeno para conectar los dos fosfatos (**Russell 2008**). La estructura P-C-P permite un gran

número de posibles variaciones, ya sea por cambio de las dos cadenas laterales en el carbono o por esterificación de los grupos fosfato. Cada BF tiene sus propias características químicas, bioquímicas y biológicas, las cuales implican que no es posible extrapolar los resultados de un compuesto a otro con respecto a sus acciones (**Fleisch 1998**).

Figura 1: *Estructura química de los Bisfosfonatos que muestra como la manipulación de la estructura básica podría cambiar la actividad biológica y la potencia del fármaco. Nota:* ***HA=*** *Hidroxiapatita.*



La modificación de la estructura química de los bisfosfonatos ha ampliado las diferencias entre las concentraciones efectivas de BF necesarias para la actividad antireabsortiva en relación a los que inhiben la mineralización de la matriz ósea, haciendo que las concentraciones circulantes de todos los BFs que se utilizan actualmente en la práctica clínica sean activos para la inhibición de la reabsorción esquelética.

La estructura del núcleo de los BFs sólo difiere ligeramente de los PFIs en que los BFs contienen un carbono no hidrolizable central, los grupos de fosfato de acompañamiento de este carbono central se mantienen. A diferencia de los PFI, casi todos los BFs en el uso clínico actual también tienen un grupo hidroxilo unido al carbono central (la llamada posición R1) (**Drake 2008**) (***Figura 1***). Los dos grupos fosfato tienen una doble acción, por un lado se requieren para unir al hueso mineral y por otro a las células mediadoras de actividad antireabsortiva (**Russell 2008**). Estos grupos de acompañamiento de fosfato proporcionan a los BFs una fuerte afinidad por los cristales de la

hidroxiapatita (HA) en los huesos (lo cual también se observa en PFI), considerando que el grupo hidroxilo aumenta aún más la capacidad de un BF para unir al calcio.

En conjunto, el fosfato, y los grupos hidroxilo crean una interacción terciaria en lugar de una binaria entre los BFs y la matriz ósea, lo que les da su notable especificidad por el hueso. Aunque los grupos de fosfato e hidroxilo son esenciales para la afinidad de los BFs con la matriz ósea, las estructuras de la fracción final (en la posición R2), vinculadas al carbono central, son el principal determinante en la potencia de un BF para la inhibición de la resorción ósea (***Figura 1***). La presencia de un átomo de nitrógeno o un grupo amino aumenta la potencia antireabsortiva del bisfosfonato de 10 a 10.000; en relación con los primeros BFs no nitrogenados, tales como el etidronato (**Drake 2008**).

1.3. CLASIFICACIÓN DE LOS BFs

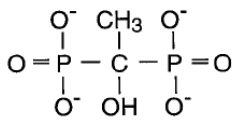
La diferencia entre los BFs viene dada por la unión al carbono geminal de la cadena lateral R2 y la presencia o ausencia de un átomo de nitrógeno o no en dicho grupo (**Senel 2009**).

1.3.1. Bisfosfonatos No Nitrogenados:

Dentro de este grupo los más conocidos y empleados en clínica son el etidronato, el clodronato y el tiludronato (***Figura 2***) (***Tabla 1***). Están en el uso común hoy en día (**Marx 2003**) (**Senal 2009**). Son rápidamente metabolizados por lo osteoclastos e inactivan un análogo no hidrolizable del adenosin trifosfato que induce la apoptosis (**Woo 2006**).

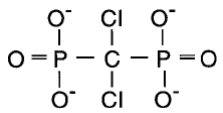
Estos BFs se incorporan a las moléculas del recién formado adenosin trifosfato (ATP) de la clase II aminoacil-ARN sintetasas después de la transferencia mediada por osteoclastos desde la superficie mineral ósea. Se cree que la acumulación intracelular de estos análogos de ATP no hidrolizables es citotóxica para los osteoclastos por inhibir la

Figura 2: *Estructura química de los BFs-NN más empleados en clínica.*



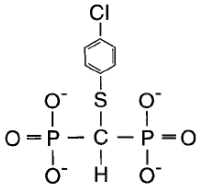
(1-Hidroxietilideno)-bis-fosfonato

etidronato



(Diclorometileno)-bis-fosfonato

clodronato



[[(4-clorofenil)tio]-metileno]bis-fosfonato

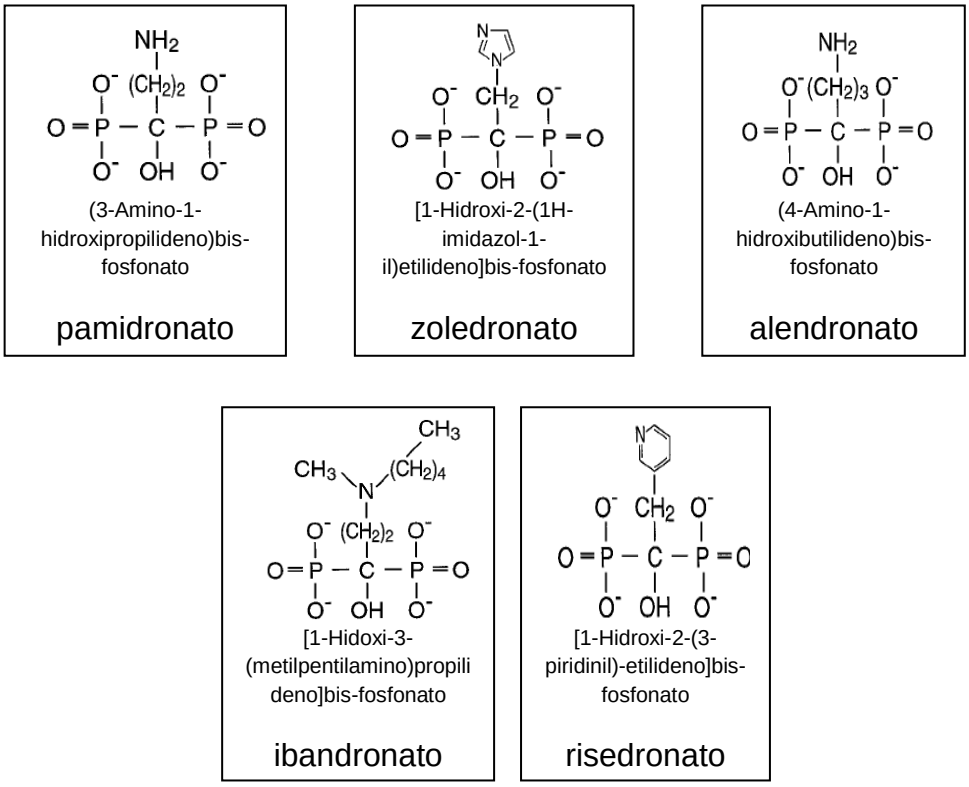
tiludronato

acción de múltiples procesos celulares ATP-dependientes, llevando a los osteoclastos a la apoptosis (**Drake 2008**).

1.3.2. Bisfosfonatos Nitrogenados:

Los BFs de nueva generación o BFs Nitrogenados (BFs-N) pamidronato, zoledronato (**Marx 2003**), alendronato, ibandronato y risendronato (**Woo 2006**) (**Senal 2009**) (***Figura 3***) (***Tabla 1***) son los BFs que contienen nitrógeno y son mucho más potentes (**Marx 2003)** (**Woo 2006**). Por lo tanto, se acumulan en el hueso y tienen un efecto continuo cuyo resultado está relacionado posiblemente con las necrosis óseas (**Marx 2003**). Tienen dos acciones principales como son la inducción de otro análogo del adenosin fosfato que induce apoptosis, y la inhibición de la Farnesil Pirofosfato Sintetasa (FPFS), la cual es una enzima que forma parte de la vía del mevalonato encargada de la síntesis del colesterol.

Figura 3: Estructura química de los BFs-N empleados en clínica.



Actualmente se está sustituyendo esta clasificación y se están comenzando a separar los BFs por generaciones, en las cuales la primera generación estaría formada por los BFs no nitrogenados (BFs- NN), debido a su similitud estructural cercana al PFI. La segunda generación estaría formada por los BFs-N más potentes que los de primera generación, como el pamidronato (que difiere de los de la primera generación en que inhibe la reabsorción ósea a unas dosis que no afecta la mineralización), y los de tercera generación como es el zoledronato, el más potente de los BFs-N que muestra una fuerte actividad antiosteoclástica similar al pamidronato (**Senel 2009**) (**Ruggiero 2004**).

- **Pamidronato:** Es in inhibidor moderado de la FPFS y tiene una alta afinidad por el mineral óseo. Está registrado en muchos países como una formulación IV para el tratamiento de la enfermedad de Paget y su empleo en oncología. Es también muy usado como alternativa en pacientes que no pueden tolerar los BFs orales en casos de osteoporosis (**Russell 2008**) **(Lipton 2000)**. Se ha asociado con la reacción de fase aguda, y con la inhibición de la función de las células endoteliales *in vitro* e *in vivo* (**Ruggiero 2005**). Su riesgo acumulativo es del 0% en el primer año de empleo y del 4% a partir del tercer año (**Woo 2006**) (**Bamias 2005**). En los casos en los que aparece hueso expuesto, en pacientes tratados con este BF, el tiempo transcurrido desde el comienzo de la terapia hasta que es detectado suele ser de 14,3 meses (**Marx 2005**).

Tabla 1: *Formulación de BFs más empleados en la práctica clínica actual, en la que aparece su nombre comercial y el genérico, el laboratorio de fabricación, las dosis existentes, si son nitrogenados o no y su fecha de aprobación para su uso en pacientes* (**Woo 2006**) (**ADA 2006**) (**Montoya 2009**).

Nombre genérico	Nombre comercial	Fabricación y localización	Formas de Dosificación	Contienen nitrógeno	Fecha de aprobación por la FDA
Etidronato disódico	Didronel Osteum Difosfen	Procter & Gamble Pharmaceuticals, Cincinnati, Ohio	Tabletas de 200 y 400 mgr	No	1 Septiembre de 1977
Clodronato disódico	Bonefos (Canada)	Schering AG, Berlin, Germany	Tabletas de 400 y 800 mg; ampollas de 60mg/mL IV	No	No aprobado
Tiludronato disódico	Skelid	Sanofi-Synthelabo Inc., New York, New	Tableta 200 mg	No, fracción de azufre	7 Marzo 1997
Alendronato sódico	Fosamax Fosavance	Merck & Co. Inc., Whitehouse Station, New Jersey	Tabletas de 5, 10, 35, 40, y 70 mg; solución oral 70 mg/ 75 mL	Sí	29 Septiembre 1995
Alendronato sódio plus Vitamina D3	Fosamax plus D	Merck & Co. Inc., Whitehouse Station, New Jersey	Tabletas 70 mg y 2800 U cloranfenicol	Sí	7 Abril 2005
Pamidronato disódico	Aredia Linoten Pmifos Xinsidona	Novartis Pharmaceuticals, East Hanover, New Jersey	Viales de 30, 60 y 90 mg IV	Sí	31 Octubre 1991
Risedronato sódico	Actonel Acrel	Procter & Gamble Pharmaceuticals, Cincinnati, Ohio	Tabletas 5, 30, y 35 mg	Sí	27 Marzo 1998
Risedronato sódico plus cálcico	Actonel con calcio	Procter & Gamble Pharmaceuticals, Cincinnati, Ohio	Tabletas de 35 mg y 500 mg de calcio	Sí	12 Agosto 2005
Ácido zoledrónico	Zometa Aclasta	Novartis Pharmaceuticals, East Hanover, New Jersey	Viales de 4mg IV	Sí	20 Agosto 2001
Ibandronato sódico	Boniva Bondronat	Roche Laboratories Inc., Nutley, New Jersey	Tableta 2,5 mg Tableta 150 mg 3mg/ 3mL IV	Sí	16 Mayo 2003 24 Marzo 2005 6 Junio 2006

1.4. APLICACIÓN CLÍNICA DE LOS BFS

Coma ya ha sido mencionado anteriormente una de las características farmacológicas más importante de todos los BFs es su extremadamente alta afinidad, su consiguiente depósito en el hueso, en relación a otros tejidos. Esta alta afinidad por el mineral óseo permite a los BFs alcanzar una alta concentración local en todo el esqueleto.

En consecuencia, los BFs se han convertido en los fármacos de tratamiento primario para los trastornos del esqueleto caracterizados por un exceso de remodelación ósea desequilibrada, en la que los osteoclastos, y las actividades de los osteoblastos, no están bien acoplados, lo que lleva a una excesiva reabsorción ósea mediada por los osteoclastos (**Drake 2008**).

Los BFs son ampliamente utilizados en el tratamiento de las enfermedades óseas como la osteoporosis, la enfermedad Paget y la hipercalcemia, así como el dolor óseo relacionado con el cáncer (**Melo 2005**) (**ADA 2006**) (**Marx 2005**).

Los primeros trabajos clínicos con etidronato fueron hechos en el tratamiento de los desordenes de la calcificación, así como en la miositis osificante progresiva o fibrodisplasia osificante progresiva, y en la enfermedad de Paget, en la cual han demostrado ser notablemente más efectivos que ninguno de los tratamientos previos. Debido a la fuerte afinidad de los BFs por el hueso mineral, otro uso clínico precoz (y continuo) fue como agente de escaneado del hueso para detectar metástasis óseas y otras lesiones esqueléticas.

Durante los años 70 los BFs empezaron a ser usados como agentes terapéuticos en oncología y han llegado a establecerse ampliamente para el tratamiento y la prevención de complicaciones esqueléticas asociadas con mieloma múltiple o metástasis óseas derivadas del cáncer de máma, próstata, y otros órganos. En la osteoporosis posmenopáusica, los BFs reducen los marcadores del recambio celular, incrementan la densidad del hueso mineral en la espina lumbar y la cadera, y reduce el riesgo de fracturas vertebrales y no vertebrales. Los BFs también son empleados en el tratamiento de osteoporosis

glucocorticoide-inducidas, y en los niños con osteogénesis imperfecta (**Russell 2008**).

Los BFs inhiben la acción de los osteoclastos, las células responsables de la desmineralización ósea. También han demostrado inhibir la proliferación de células tumorales y la posible inhibición de la angiogénesis. Estas características añadidas han hecho a los BFs útiles en el tratamiento de las metástasis óseas. Varios ensayos clínicos han demostrado que los BFs reducen la carga tumoral esquelética en los pacientes con mieloma múltiple, cáncer mama y el cáncer de próstata, conduciendo a un aumento en el uso de estos compuestos para la prevención de metástasis óseas (**Melo 2005**).

Así pues reducen el dolor óseo, la hipercalcemia, las complicaciones esqueléticas, asociadas con metástasis, en pacientes con avanzados estados de cáncer (de mama, pulmón, próstata y otros muchos) y el desarrollo de lesiones líticas en el transcurso del mieloma múltiple. Si bien, no ha sido demostrado que mejoren la supervivencia específica en el cáncer pero si han tenido un significativo efecto positivo en la calidad de vida para estos pacientes (**AAOMS 2009**).

Tabla 2: *Resumen de las principales patologías en las que son empleados los BFs. Aparecen los tipos de BFs utilizados, y a que dosis han demostrado tener su eficacia, así como la principal acción que se les atribuye y los beneficios que experimenta el paciente con cada fármaco (**Drake 2008**).*

Enfermedad/ Descripción	Fármaco/Dosis	Acción	Beneficio
Osteoporosis **posmenopausica y privación andrógenos**	-**Alendronato** oral(10mg/día/10 años) ó **Risendronato** - **Ibandronato** oral (cada dos días durante 12 dosis cada 3 meses) - **Ibandronato** y **Ácido zoledrónico** IV (1 vez/ año/3años)	-Disminuye el número de fracturas vertebrales y de cadera -Disminuye riesgo de fractura vertebral -Disminuye fracturas cadera (41%) y vertebrales (70%) y no vertebrales (25%), con incremento significativo de densidad y masa ósea en espina lumbar, cadera y cuello fémur.	La reducción de la fractura y el aumento concomitante en la densidad de hueso, es el resultado de una disminución en la frecuencia de activación de la remodelación por los osteoclastos, con relativa conservación (al menos inicialmente) de la actividad osteoblástica. Así como, la estabilización inicial y mantenimiento de la conectividad trabecular que permite la duración de la deposición de minerales secundarios en el andamio estructural, lo que incrementa el porcentaje de unidades estructurales que llegan a un grado máximo de mineralización.

Osteoporosis glucocorticoide inducida **y trasplante asociada. Los glucocorticoides aumentan el riesgo de fractura en los pacientes**	-**Risedronato** prevención y tratamiento -**Alendronato** tratamiento -**Pamidronato** e **Ibandronato** IV	-Aumento densidad masa ósea espinal, disminución de nuevas fracturas vertebrales -Disminuye la perdida ósea	
Osteoporosis inducida por inmovilidad **y otras causas de perdida aguda de hueso**	-**Alendronato, Pamidronarto** -**Alendronato** y **Risendronato**		-Atenúa la perdida de hueso y reduce los marcadores bioquímicos de reabsorción ósea -Atenúa la perdida periprotésica aguda próxima al implante
Enfermedad de Paget: **Enfermedad ósea en la que se ven involucrados 1 o más áreas de remodelado óseo desordenado, en las cuales se acelera la reabsorción ósea mediada por osteoclastos, seguida por una deposición ósea imperfecta mediada por osteoblastos. El resultado de ambos es la pobre formación de un tejido óseo laminar con frecuente dolor, fracturas, y serias deformidades, incluyendo arqueamiento de huesos largos que soportan el peso, ensanchamiento del cráneo y otras deformidades**	-**Alendronato** y **risendronato** oral , **pamidronato** y **ácido zoledrónico** IV	Suprime la actividad osteoclastica mas que los BFs- NN y la calcitonina	Suprime el aumento de la reabsorción del hueso subyacente a la enfermedad, por lo general conduce a la normalización en el suero de los niveles de fosfatasa alcalina, utilizada para supervisar la actividad de la enfermedad.
Cáncer de Mama	-**Ibandronato** (50mg/día) -**Clodronato** -**Ácido zoledrónico** IV (4mg/6 meses) -**Risendronato** oral semanalmente		-Reduce el dolor óseo y limita las complicaciones esqueléticas -Reduce el desarrollo de metástasis óseas. Reducción de la mortalidad global en 6 años de seguimiento -Previene perdida ósea en mujeres pos menopáusicas que reciben terapia endocrina para cáncer de mama hormono sensible -En canceres de mama hormono dependientes previene perdida ósea en terapia con inhibidores de la aromatasa
Cáncer de próstata	-**Acido zoledronico** IV(única dosis anual) -**Pamidronato** IV -**Risendronato** oral (2,5mg/dia)		-Reduce los eventos óseos incrementa la densidad de masa en cadera y columna -Previene pérdida ósea en columna y cadera -Previene la pérdida densidad de masa en cadera e incremento en columna
Mieloma Múltiple: **proliferación clonal de las células plasmáticas neoplásicas en la cavidad de la médula ósea, resultando en osteolisis y destrucción del esqueleto, lo que representa gran**	-**Pamidronato** y **ácido zoledrónico**		-Reducen la incidencia de hipercalcemia y eventos óseos

parte de la morbilidad asociada con la enfermedad ***Osteoporosis infantil***: trastorno esquelético hereditario caracterizado por una masa ósea disminuida sustancialmente y fragilidad grave, generalmente como resultado de mutaciones de los genes de colágeno tipo I	-**Pamidronato** IV (ciclos de 3 días cada 2 a 4 meses en una dosis anual de 9 mg / kg)	Inhibición de la reabsorción ósea mediada por osteoclastos y mejora de la formación ósea por osteoblastos, aunque en el contexto de una matriz de colágeno anormal.	-Conduce a un aumento del 88% en el grosor cortical, un aumento del 46% en el volumen de hueso trabecular, y una mejora sustancial en el estado funcional
	-**Alendronato**		-Incremento sustancial de la densidad de masa ósea y limitación de las fracturas

1.5. MECANISMOS DE ACCION DE LOS BFS

Estudios pioneros en la década de 1960 demostraron que los BFs eran capaces de inhibir la calcificación por la unión a los cristales de hidroxiapatita (HA), lo que llevó a la hipótesis de que en la regulación de los niveles de BF podría estar implicado el mecanismo por el que se regula la mineralización ósea (**Drake 2008**).

Los efectos fisicoquímicos de la mayoría de los BFs son muy similares a los de sus análogos naturales PFIs (**Drake 2008**) (**Fleisch 1998**). Así pues, inhiben la formación y agregación de cristales de fosfato cálcico, incluso a concentraciones muy bajas, bloquean la transformación de fosfato cálcico amorfo a HA y retrasan la agregación de cristales de apatita.

Los BFs también retrasan la disolución de los estos cristales de HA, motivo por el cual se investiga la acción de estos compuestos en la reabsorción del hueso *in vivo*.

Todos estos efectos parecen estar relacionados con la marcada afinidad de estos compuestos por la superficie de la fase sólida del fosfato cálcico donde se unen, presumiblemente, dentro del calcio por quimioabsorción (**Fleisch 1998**).

En consecuencia, la retención esquelética de los BFs depende de la disponibilidad de puentes de unión en la HA. Los BFs son preferentemente incorporados en las localizaciones donde hay una remodelación ósea activa, lo que comúnmente se produce en zonas caracterizadas por recambio esquelético acelerado. Los BFs que no son captados en el esqueleto se eliminan rápidamente de la circulación por excreción renal (**Drake 2008**).

Además de su capacidad de inhibir la calcificación, los BFs inhiben la degradación de HA, lo que efectivamente suprime la reabsorción de hueso, estas propiedades fundamentales de los BFs es lo que ha llevado a su utilidad como agentes clínicos. Más recientemente, se ha sugerido que los BFs también pueden limitar tanto la función de apoptosis de los osteoblastos como la de los osteocitos (**Drake 2008**).

Los estudios han demostrado que, además de la inhibición de los osteoclastos, los BFs, particularmente los nitrogenados más potentes, también inhiben la metástasis ósea y reducen la carga tumoral de los tumores óseos. Aunque los BFs varían en su potencia, comparten la capacidad de persistir en el hueso durante un período prolongado en el que no se aprecia metabolización. En general, parece que los BFs alteran el microambiente del hueso por lo que es menos favorable para la colonización de las células tumorales. Desafortunadamente, estos cambios también alteran los mecanismos homeostáticos normales del hueso y probablemente sean menos favorables para las células óseas normales (**Melo 2005**).

Sus efectos están mediados por la inhibición de los osteoclastos. Aunque su modo específico de inhibición es desconocido, han sido aportadas varias hipótesis. Estas incluyen:

- Inhibición del desarrollo de osteoclastos a partir de monocitos.
- Aumento de la apoptosis de los osteoclastos.
- Estimulación del factor de inhibición de osteoclastos.
- Prevención del desarrollo de osteoclastos a partir de los precursores de la médula ósea.
- Reducción de la actividad de los osteoclastos.
- Reducción en la replicación de las metaloproteinasas de la matriz.

Como resultado se produce la reducción de la actividad osteoclástica, junto a la reducción de la reabsorción ósea y por tanto todo esto apoya las indicaciones publicadas, que incluyen la reducción de la hipercalcemia en algunos tumores malignos y la reducción de osteolisis en las metástasis óseas, además de mejoras en algunos casos como la enfermedad de Paget.

Sin embargo, la osteoclasia normal es vital para el recambio óseo y la viabilidad de los huesos. Los osteocitos se desarrollan a partir de los osteoblastos, los cuales han segregado cristales de HA en una matriz de colágeno mineralizada, conocida como hueso mineralizado, que luego encierra al osteocito. El osteocito es una célula terminal con una esperanza de vida de alrededor de 150 días. Así pues el osteocito, acabado su tiempo de vida normal ya no puede mantener la matriz mineral que lo rodea y se desarrollan las microfracturas.

La osteoclasia normal reabsorbe el hueso no vital y libera citocinas, como la proteína morfogenética ósea (PMO) y los factores de crecimiento de la insulina 1 y 2 (ILG1 y de ILG2), que normalmente inducen a las células madre mesenquimales, y a los osteoblastos premitóticos, a diferenciarse en hueso activo formando osteoblastos. La interrupción de este ciclo homeostático por la inhibición eficaz en la resorción ósea da como resultado la acumulación de osteocitos no vitales y microfracturas de la antigua matriz mineral (**Marx 2003**).

Debido a que los BFs tienen una mayor afinidad por la HA del hueso, estos son rápidamente apartados de la circulación sistémica y localizados en la superficie mineral ósea. Cuando los osteoclastos se encuentran en la fase de reabsorción hay un ambiente predominantemente ácido, el cual facilita la liberación del BF desde la superficie ósea, dando lugar a una mayor concentración local de BF. El BF es incluido dentro del osteoclasto, hecho que culmina con la inhibición de la actividad osteoclástica. Esta inhibición pude ser consecuencia de un efecto toxico directo participando en la retracción del osteoclasto, condensación y fragmentación celular, que termina en apoptosis de la célula. Por otro lado la inhibición pude ser debida a disturbios en el tráfico intracelular de vesículas por el BF, lo cual degenera en una desorganización de la actina del citoesqueleto y una pérdida de los anillos de actina o alteraciones en la formación del borde en cepillo del osteoclasto (**Diel 2007**).

Los BFs también pueden actuar sobre los precursores de los osteoclastos previniendo la formación de estos. Estudios *in vitro* han demostrado que los BFS previenen la formación de células osteoclásticas en cultivos de médula ósea, siendo la potencia de inhibición un reflejo de su potencia antireabsortiva. Sin embargo, algunos estudios sugieren que los

aminobifosfonatos (BFs-N) pueden aumentar el número de osteoclastos, por lo que se desconoce el verdadero mecanismo por el que los BFs actúan sobre estas células (**Diel 2007**).

Los BFs también pueden tener efectos potenciales sobre otras células que intervienen en el proceso de recambio como son los osteoblastos o los osteocitos. Al contrario de lo que ocurre con los osteoclastos, parece que los BFs protegen a los osteocitos de la apoptosis. Experimentalmente la potencia individual de los BFs en los osteocitos es independiente de su capacidad como inhibidores de la actividad osteoclástica (**Russell 2008**).

Pese a que se desconocen los mecanismos exactos parece que los BFs tienen *in vivo* efectos directos sobre los osteoblastos aunque son difíciles de ver a las concentraciones usadas en clínica. Aunque a muy bajas concentraciones producen estimulación *in vitro* de estas células, muchos de los efectos clínicos de los BFs sobre los osteoblastos pueden ser atribuidos a los efectos indirectos sobre el ciclo de remodelado mediado a través de la reducción de la reabsorción ósea (**Russell 2008**). También se ha pensado que puede ocurrir una alteración en la secreción de factores solubles de paracrina que están implicados en la regulación de la actividad osteoclástica (**Hewitt 2007**).

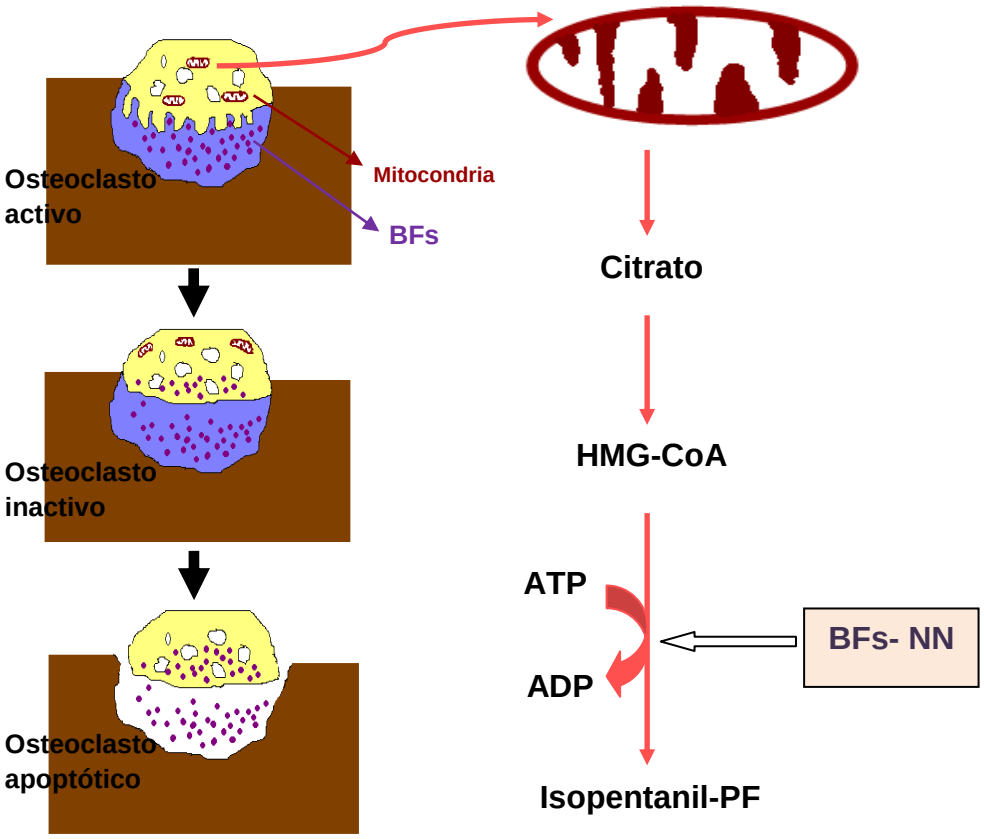
1.5.1. *Mecanismos de acción de los BFs-NN*

Los BFs- NN, como el etidronato, el clodronato, y tiludronato, son incorporados en los correspondientes análogos β, γ- metileno no hidrolizables de la adenosina trifosfato (ATP), por la inversión de las reacciones aminoacil-tRNA-sintetasa que normalmente participan en la activación de los aminoácidos durante la síntesis de proteínas. La inducción de la apoptosis de los osteoclastos a raíz de la acumulación intracelular de tales metabolitos (Tipo AppCP) parece ser el principal modo de acción de estos BFs.

Los análogos no hidrolizables de ATP del clodronato inhiben la adenina nucleótido translocasa en la membrana mitocondrial. Se supone que esto afecta a la permeabilidad de la mitocondria e inicia la activación de caspasas,

que es un paso irreversible hacia la muerte celular por apoptosis (**Rogers 2003**) (**Russell 2008**) (**Diel 2007**) (***Figura 5***).

Figura 5: *Captación de los BFs en el interior del osteoclasto y mecanismo de acción molecular de los BFs-NN en la membrana miticondrial (metabolización del ATP intracelular a adenosina5- trifosfato).*



1.1.1. *Mecanismos de acción de los BFs- N*

Parece ser que la inhibición de la Farnesil pirofosfato sintetasa (FPFS), una encima reguladora en la vía del mevalonato, es el principal objetivo enzimático de los BFs-N para inhibir la reabsorción ósea. Esta vía, innata en las células de los mamíferos, provee de moléculas de lípidos esenciales, así como de colesterol e isoprenoides, este último necesario para la prenilación postransduccional de pequeñas GTPasas, que aumenta la aceleración de la degradación de HMG-CoA **(Rogers 2003)** (**Kavanagh 2006**) (**Drake 2008**)

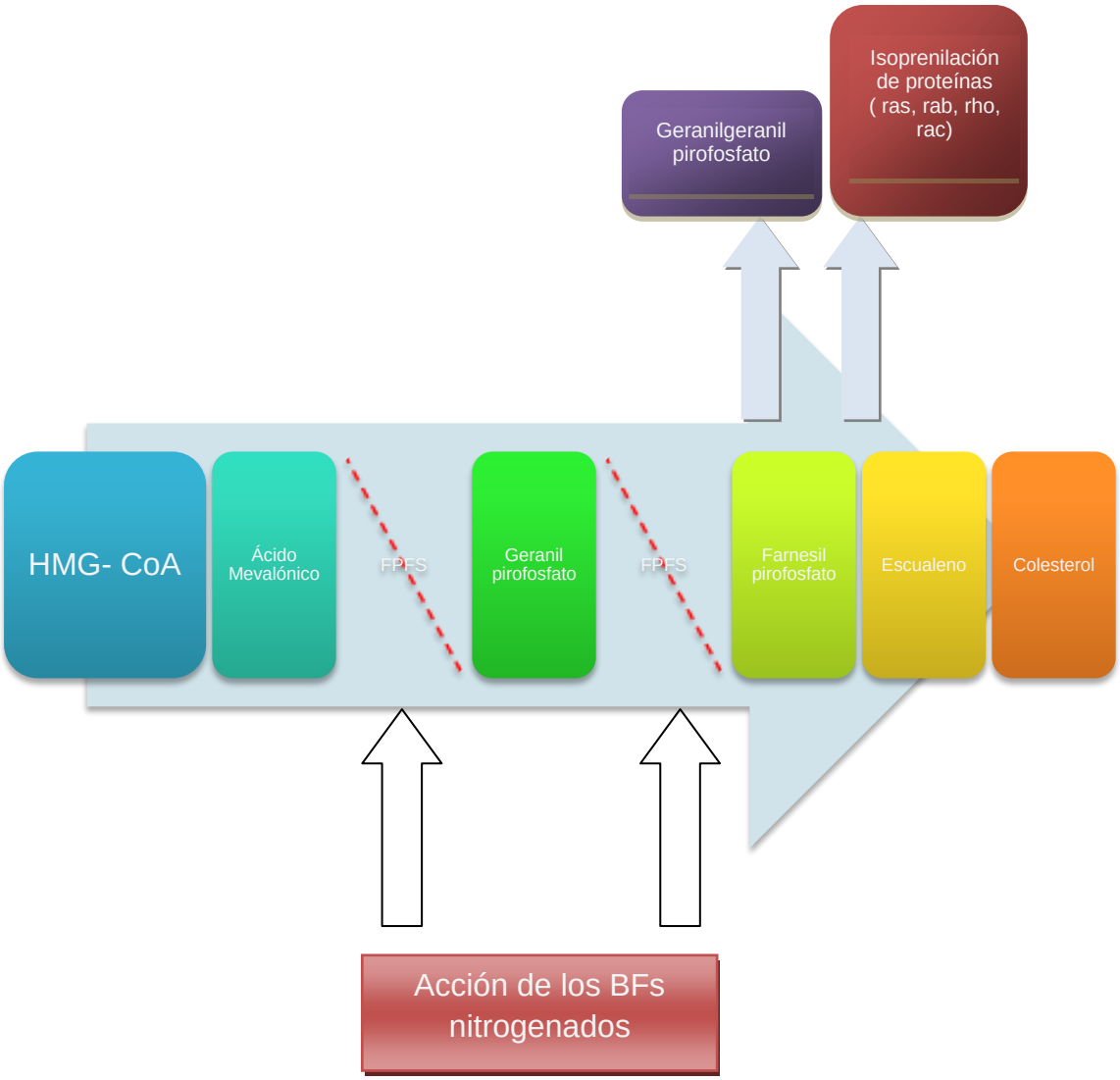
(**Kimell 2007**) (**Senel 2009**). Estas GTPasas (incluidas las pequeñas proteínas de unión guanosin trifosfato como p21ras, rho, rac, rab y cdc42) son proteínas de señalización que, cuando están activadas, regulan positivamente varias propiedades estructurales y procesos importantes para la función de los osteoclastos, incluyendo la morfología, disposición del citoesqueleto, el tráfico vesicular, y mantenimiento de la membrana. El tráfico vesicular en los osteoclastos es responsable de la concentración y transporte de las enzimas que intervienen en la reabsorción del hueso. Por tanto estas pequeñas GTPasas son esenciales para la función de los osteoclastos y su inhibición conlleva a la apoptosis celular (**Rogers 2003**) (**Kavanagh 2006**) (**Drake 2008**) (**Kimell 2007**) (**Diel 2007**) (**Smith 2009**) (***Figura 4***).

Con el zoledronato (inhibidor extremadamente potente de la FPFS) se ha observado que existe una correlación altamente significativa entre el orden de la potencia de los BFs-N para la inhibición de FPFS humanos *in vitro* y su potencia antireabsortiva *in vivo*. Es importante señalar que pequeñas modificaciones en la cadena lateral de BFs-N afectan a la potencia antireabsortiva así como también afectan a la capacidad de inhibir la FPFS (**Kimmel 2007**).

La reabsorción ósea, la cual requiere la desmineralización secuencial y la disolución de la matriz de colágeno, se produce en la región del borde en cepillo de los osteoclastos. El borde en cepillo crea un compartimento acidificado entre la célula y la superficie del hueso. El mineral es removido desde el hueso, dejando al descubierto el colágeno óseo que es degradado por enzimas colagenolíticas. Cuando el tráfico vesicular y la membrana son inhibidos en el osteoclasto, las actividades que facilitan específicamente la reabsorción del hueso también se reducen. Además, hay indicios de que la geranylgeranylación de rho y rac se desarrolla en la diferenciación temprana de fagocitos mononucleares a pre- osteoclastos TRAP-positivo, estas moléculas rho y rac también regulan la apoptosis (**Kimmel 2007**).

Estas propiedades son dosis dependientes así pues en concentraciones relativamente bajas, están inhibidas la actividad funcional que implica el citoesqueleto, el tráfico vesicular, y la conformación de la membrana, que están relacionadas con la disolución mineral ósea y la degradación del colágeno.

Figura 4: *Esquema de la interacción de los BFs- N en la vía del mevalonato una vez incorporados al interior del osteoclasto.*



En concentraciones algo mayores, se inhibe la diferenciación de los osteoclastos. Por último, a una concentración cercana al 100 µM, se induce la apoptosis de osteoclastos. Estas acciones implican que los BFs sean excelentes inhibidores de la resorción ósea a nivel de los tejidos (**Kimmel 2007**).

1.2. FARMACOCINÉTICA

Estudio *in vitro* con etidronato u clodronato han demostrado que los BFs pueden penetrar en las células de los mamíferos, donde la captación se produce mayoritariamente en el citosol, y la concentración puede ser varias veces mayor que en el medio. Las células con propiedades fagocíticas disponen de una avidez especial si los compuestos están ligados a cristales de HA (**Fleisch 1998**).

No hay una respuesta clara sobre el estado de los BFs en la circulación, de hecho solo son ultrafiltrados parcialmente en soluciones acuosas así como en el plasma, posiblemente por la formación de agregados complejos polinucleares. En el plasma se produce una unión a proteínas, que varía dependiendo del compuesto y del tipo de animal empleado para el estudio. La unión es pH y calcio dependiente, por la cual el incremento de ambos aumenta la unión.

Una vez en sangre, los BFs desaparecen muy rápido, mayoritariamente en hueso, hecho que puede ser explicado por su rápida y fuerte unión a los cristales de HA. El rango de entrada en hueso es muy veloz, similar al del calcio o el fosfato. La captación puede ser determinada sobre todo por la vascularización del hueso. Consecuentemente los tejidos blandos están expuestos a estos compuestos por muy cortos periodos de tiempo, lo que explicaría sus efectos óseos específicos y su baja toxicidad (**Fleisch 1998**).

La vida media de los BFs en la circulación es bastante corta, con un rango que ronda entre los 30 minutos hasta las 2 horas (**Senel 2009**). Sin embargo una vez incorporados al tejido óseo y encerrados en el esqueleto, pueden persistir por mucho años, y sólo serán detectados cuando el hueso es destruido por el recambio del mismo. Aunque la precisión en la determinación de la vida media biológica sigue a debate, debido a la falta de técnicas para determinar los niveles de BFs en orina y suero, las estimaciones; y sobre todo para los BFs más potentes como alendronato; sugieren una vida media biológica en humanos de más de 10 años después de una única dosis IV (**Drake 2008**) (**Senel 2009**) (**Fleisch 1998**). Mientras que en ratones y ratas su

permanencia en el esqueleto puede variar entre 3 meses y 1 año (**Fleisch 1998**).

Pero la noción de vida media de la retención de estas drogas puede ser engañosa, ya que no es equivalente a la vida media de sus efectos. Gran parte de los BFs son retenidos por mucho tiempo en el esqueleto, probablemente porque son rápidamente "enterrados" dentro de la fase mineral, y por lo tanto farmacológicamente inactivos. En este sentido, se asemejan a otras sustancias isótopos marcadores de hueso (Sr, Ra, Pu, etc) o metales pesados (Pb, Hg), que pueden permanecer en el esqueleto durante largos períodos de tiempo. La liberación de BFs de hueso depende en gran medida, como ya hemos comentado, de la remodelación y reabsorción. Por lo tanto las cifras citadas en la literatura refiriéndose a una vida media de 10 años o más, en comparación con, días o meses, no ofrecen una comparación válida entre BFs, ni dan una indicación real de la persistencia de sus efectos farmacológicos. La excreción de BFs se describe mejor por estudios exponenciales de la cinética o de la potencia de la función, y hay una secuencia de "media vida", que aumenta con el tiempo. Cuanto más tiempo se continúa con el estudio, la vida media terminal se hace más larga (**Russell 2008**).

No obstante, los BFs tienen una muy baja biodisponibilidad, esto es parcialmente explicado por su baja lipofilidad (son muy hidrofílicos), la cual obstaculiza el transporte transcelular; y su alta carga negativa, que obstaculiza el transporte paracelular. Esto repercute en su absorción gastrointestinal, en el caso de los BFs de administración oral, generalmente con una absorción < 1% de la dosis (**Fleisch 1998**) (**Drake 2008**) (**ADA 2006**), mientras que más del 50% de la dosis de los BFs administrados IV esta biodisponible para la incorporación dentro de la matriz ósea (**ADA 2006**). Además, probablemente durante su paso por el intestino se encuentren en una forma insoluble, debido a la quelación con el calcio. Es por eso que se cree que la absorción intestinal sigue una ruta paracelular. Esto puede ser explicado porque todos los BFs aprobados contienen un grupo hidroxil que le confiere su gran afinidad por el calcio elemental, incluido tanto el encontrado en la superficie ósea como el que está en la circulación (**Kimmel 2007**). Por ello la administración de EDTA, un fuerte quelador del calcio, incrementa la absorción de BFs; al igual que altas

dosis de BFs, que también quelan el calcio, darían lugar a un incremento en su propia absorción. Pero es desconocido porque un mayor pH intestinal incrementa la absorción (**Fleisch 1998**).

Los distintos BFs acusan algunas diferencias en su afinidad por la superficie de la HA. Esto se refleja en la propia unión de los BFs al hueso *in vivo*. Así, al menos el 50% de la mayoría de los hidroxilbisfosfonatos se distribuye en el hueso, sin embargo en el caso del clodronato es solo del 20-40%. Se distribuyen, preferentemente, en zonas del esqueleto que presentan un mayor recambio óseo, como el hueso trabecular, y localizaciones donde éste se encuentre en formación (**Fleisch 1998**).

Sin embargo, recientemente, también se encontró depositado bajo los osteoclastos. La distribución de la cantidad depositada en los lugares con hueso en formación y con hueso en reabsorción depende de la cantidad del BF administrado. Cuando se administran pequeñas cantidades, estas se depositan principalmente bajo los osteoclastos mientras en grandes cantidades van tanto a hueso en formación como a hueso en reabsorción (**Fleisch 1998**).

Ésta unión de polifosfatos y BFs a los tejidos calcificados es la base para el uso de estos compuestos como marcadores esqueléticos en medicina nuclear unidos al tecnecio99m (**Fleisch 1998**).

Normalmente los BFs no se depositan en tejidos blandos. Sin embargo, algunos de ellos, especialmente el pamidronato, pueden a veces depositarse en otros órganos como el estomago, hígado y bazo, siendo proporcionalmente mayor en depósito cuanto mayor es la cantidad de compuesto suministrada. Parte de esta deposición extra ósea parece ser debida a la formación de complejos con el hierro (hemólisis) y calcio debido a la administración de una dosis muy alta o de forma muy rápida. El agregado insoluble es luego fagocitado por los macrófagos del sistema reticuloendotelial. Así, los resultados obtenidos con grandes cantidades de compuesto lábil dados rápidamente de manera intravenosa deben ser interpretados con precaución. El peligro de una infusión demasiado rápida de grandes cantidades de BF existe también en humanos, donde este proceso puede provocar un fallo renal debido a la formación de agregados de calcio en sangre (**Fleisch 1998**).

Aunque no puede ser generalizado parece que algunos BFs no son metabolizados *in vivo*. Esto es debido a la estabilidad, de su unión P-C-P, al calor y a la mayoría de los reactivos químicos, así como su resistencia a la hidrólisis por las enzimas encontradas en el cuerpo, como consecuencia los BFs no se separan en metabolitos y por tanto son excretados inalterados (**Fleisch 1998**) (**Russell 2008**) (**kimmel 2007**), esta eliminación se produce pocas horas después de la ingesta o administración IV (**Kimmel 2007**). Por ello solamente el 50% del fármaco absorbido es retenido selectivamente en el esqueleto, mientras que el remanente es eliminado en la orina sin metabolizar (**Drake 2008**).

El principal determinante de la partición hígado/ hueso es el rango de recambio óseo, en individuos que tengan aumentado este recambio retendrán más BFs-N en su esqueleto que los que tengan un bajo rango. Este importante concepto tiene múltiples implicaciones, particularmente cuando se considera que la mayoría de los BFs-N tomados por un individuo en tratamientos crónicos se consumen mucho tiempo después de sufrir un gran recambio óseo inicial, como es el caso de la osteoporosis postmenopáusica, el cual ha sido reducido en un 70% o más (**Kimmel 2007**).

A su vez los BF son un tipo de auto-inductor metabólico, cuyos propios efectos farmacodinámicos influyen tanto en su distribución en el esqueleto como en su retención. En el metabolismo de los fármacos no es raro encontrar este fenómeno, en el que un medicamento influye a una enzima en la vía metabólica responsable de su degradación. Para el caso de los BFs son sus propios efectos farmacológicos sobre el esqueleto los que influyen en su vida media, por cambios en los patrones de deposición inicial, y de las tasas de liberación del esqueleto. En esencia, los BFs-N inhiben directamente la reabsorción, lo que reduce la tasa de remodelación ósea e impide que estos escapen del hueso, aumentando su vida media (**Kimmel 200**7).

También hay que tener en cuenta que la captación ósea y la retención son principalmente dependientes de los factores del huésped (función renal, la tasa de prevalencia de recambio óseo, y la disponibilidad de lugares de unión) y de la potencia de los BFs para unirse a la matriz del hueso. La cantidad de BF retenido después de la administración oral o IV varía ampliamente entre los

pacientes y entre las diferentes condiciones clínicas, reflejando las variaciones en el recambio óseo (**Drake 2008**). Sin olvidar, que la concentración local y el tiempo de retención viene determinado por el estado celular de las superficies óseas individuales (**Kimmel 2007**).

La excreción de BF a las 24 horas, después de una dosis única puede utilizarse como una medida inversa de la cantidad retenida por el esqueleto. Cabría esperar que casi todos los BF, que no han sido mantenidos y conservados en el esqueleto, fueran excretados en la orina. Todo esto puede estar influenciado por la unión a proteínas específicas, con diferentes grados entre BFs, y por la manipulación renal. En ensayos clínicos realizados por Russell y cols. el rango de orden de la excreción urinaria en 24 horas, después de la primera dosis, se establece en ácido zoledrónico (38%) <alendronato (44%) <risedronato (65%) <clodronato(73%). Estos resultados coinciden con los resultados de afinidad, es decir, BFs con una mayor afinidad de unión tienen una menor excreción urinaria en 24 horas. Por tanto a través de la excreción urinaria se podrían medir, pequeñas cantidades de BFs, durante muchas semanas, meses, o años después de interrumpir el tratamiento, presumiblemente debido a su liberación continua de la estructura (**Russell 2008**).

La afinidad de los BFs ha sido probada por experimentos *in vitro*, demostrando que modificaciones de su composición, en uno de ambos grupos fosfato, puede reducir dramáticamente la afinidad de los BFs por el hueso mineral, y así reducir su potencia bioquímica. Como ya se ha comentado en las características químicas de los BFs, las cadenas laterales R1 y R2 unidas al átomo de carbono son responsables del gran rango de cambios en la actividad observados entre los distintos BFs. Sustituyentes R1 tales como hidroxil o amino mejoran la quimioabsorción al mineral (**Russell 2008**). Mientras que variaciones sólo en el grupo R2- presentan afinidades similares por el hueso mineral, pero habilidades ampliamente divergentes para inhibir los osteoclastos, o la actividad funcional de macrófagos, lo que crea diferencias en la potencia antireabsortiva (**Kimmel 2007**) (**Russell 2008**) (***Tabla 3***).

Risendronato y zoledronato son dos de los más potentes antireabsortivos para varios modelos animales, debido al átomo de nitrógeno dentro del anillo heterocíclico; mientras que el ibandronato, con su mayor sustitución de la fracción de nitrógeno, es más potente que el alendronato y el pamidronato, compuestos que tienen un átomo de nitrógeno primario básico en una cadena alquil. El incremento de la potencia antireabsortiva observada con diferentes grupos R2 está unida a la habilidad para afectar la actividad bioquímica; por ejemplo, en la inhibición de la encima FPFS, y se cree que también puede estar vinculada a la unión con la HA (**Russell 2008**).

Tabla 3: *Potencia de los BFs para inhibir la reabsorción ósea en ratas (**Fleisch 1998**) (**Drake 2008**).*

1x	10x	100x	≥100 ≤1000x	≥1000 x ≤10.000x	≥10.000x
Etidronato	**Clodronato** **Tiludronato**	**Pamidronato** **Neridronato**	**Alendronato** **Incadronato** **Olpadronato**	**Ibandronato** **Risendronato**	**Zoledronato**

Este descubrimiento ha supuesto un cambio en la frecuencia de administración de estos medicamentos. Anteriormente, la administración oral diaria de BFs suponía un obstáculo para muchos pacientes adscritos a este tratamiento, sobre todo por los requisitos que exigen que los pacientes permanezcan de pie durante 30 minutos y se abstengan de comer cualquier alimento 2 horas antes y al menos 30 minutos después de la ingestión de la píldora; llevando aparejado una asociación relativamente frecuente, de síntomas gastrointestinales. El desarrollo más reciente de preparados farmacológicamente equivalentes que permiten una dosis semanal (alendronato y risedronato) o incluso mensual (ibandronato o risedronato), ha transformado profundamente la administración oral de los BFs para la mayoría de los pacientes afectados, para quienes la conveniencia (y por lo tanto la adherencia al tratamiento) era un problema. Además, la disponibilidad de los preparados IV (pamidronato, ibandronato y ácido zoledrónico), que por la mayoría de las condiciones clínicas requieren una dosificación menos

frecuente, ha eliminado estos efectos adversos gastrointestinales ocasionados en algunos pacientes tratados con BFs por vía oral. Aunque la tasa de reacciones de fase aguda que se caracteriza por síntomas de tipo gripal (fiebre de bajo grado, mialgias y artralgias, o dolor de cabeza) es mayor en los pacientes que reciben IV en comparación con BFs por vía oral (**Drake 2008**) (**Boutsen 2001**).

1.3. POSIBLES EFECTOS ADVERSOS DEBIDOS A LA ACCIÓN DE LOS BFs

En la homeostasis normal del hueso, la reabsorción osteoclástica está estrechamente ligada a la deposición osteoblástica y ambas funciones son esenciales para la reparación de las microlesiones fisiológicas. El uso prolongado de BFs puede suprimir el volumen de hueso hasta el punto de que tales microlesiones persistan y se acumulen. El resultado es un hueso hipodinámico con una competencia biomecánica disminuida. Aunque la función osteoblástica también se reduce durante el tratamiento con BFs, la mineralización continúa genera un hueso duro y frágil con una apariencia osteopetrosa y un mayor riesgo de fractura. Por lo tanto, algunos expertos advierten que los beneficios de un uso prolongado de los BFs deben ser cuidadosamente sopesados frente a los posibles efectos negativos de la supresión excesiva del metabolismo óseo. Otros sostienen que aunque el uso a largo plazo de los BFs puede retrasar la curación de las fracturas o la remodelación lenta del callo de fractura, puede no afectar a la mineralización del hueso o a sus propiedades mecánicas (**Woo 2006**).

1.3.1. *Toxicología en animales de experimentación*

Los datos publicados de toxicología animal, son escasos. La administración aguda, subaguda, y crónica de los BFs ha demostrado en general poca toxicidad. Esto vendría explicado por su rápida incorporación al tejido calcificado y por lo tanto a la corta presencia en la circulación.

La toxicidad aguda es principalmente debida a la hipocalcemia, inducida por la formación de complejos o agregados con calcio, que conduce a una disminución del calcio ionizado.

La posterior toxicidad fuera del esqueleto normalmente se manifiesta en primer lugar; como es el caso de muchos fosfatos y polifosfatos; en el riñón. Esto ocurre, sin embargo, sólo a dosis sustancialmente mayores que las administradas en los humanos. En dosis aún más altas, otros órganos pueden presentar alteraciones celulares. Los mecanismos que conducen a estos cambios no se conocen. En el esqueleto y los dientes se produce una inhibición de la mineralización normal, por lo general a una dosis parenteral de aproximadamente 10 mg / kg / día. Ésta inhibición se explica por un deterioro físico-químico del crecimiento de cristales. Las grandes dosis de BFs pueden inhibir la mineralización a tal nivel, que por sí mismo puede llevar a una mayor fragilidad y fracturas. Estas grandes dosis pueden conducir a anomalías del desarrollo del feto en el esqueleto y el riñón (**Fleisch 1998**). También se ha observado que en perros la reducción del rango de remodelado óseo con BFs-N, a dosis para el tratamiento de la osteoporosis, está asociado con la presencia de microfracturas óseas (**Kimmel 2007**). Cuando se administra etidronato por vía oral a diario en dosis de 400-800 mg, se puede producir una inhibición de la normalidad de la mineralización ósea, conduciendo a una clínica e histología propias de la osteomalacia. Esta condición desaparece después de la interrupción de la terapia (**Fleisch 1998**).

Con BFs administrados por vía intravenosa en humanos, como por ejemplo el acido zoledrónico o el pamidronato, se produce un aumento transitorio de la creatinina en el suero, asociado a la toxicidad renal en la que la degeneración es dosis-dependiente (**Kimmel 2007**).

1.3.2. *Complicaciones clínicas en humanos*

Al igual que en los animales, los estudios en humanos han revelado unos pocos efectos adversos significativos. Se debe tener precaución con la mayoría de los efectos adversos, pues sólo se ven de vez en cuando, y no es seguro hasta qué punto son realmente relacionados con los fármacos (**Fleisch 1998**).

Fibrilación auricular:

Recientemente ha salido a la luz que en las fracturas en las que los pacientes fueron tratados anualmente con ácido zoledrónico IV, se observó un aumento estadísticamente significativo en la incidencia de fibrilación auricular grave (definida como los eventos que derivaron en hospitalización, incapacidad o que se considera en peligro la vida). La etiología de esta anomalía eléctrica es desconocida. Se desconoce si otros BFs pueden estar asociados con un aumento de las tasas de la fibrilación auricular. Los recientes análisis de una gran población de casos y controles, en los que se sugirió una correlación entre la administración de alendronato y una incidencia ligeramente mayor de fibrilación auricular, no mostraron evidencia de un mayor riesgo de fibrilación o aleteo auricular con su uso. Hasta la fecha la preocupación por la fibrilación auricular no parece extenderse a los pacientes que recibieron risedronato (**Drake 2008**).

Supresión excesiva del recambio óseo:

Debido a que los BFs inhiben la actividad de los osteoclastos, ha sido motivo de preocupación el hecho de que estos fármacos, en tratamientos prolongados, puedan llevar a una situación de "hueso congelado"; caracterizado por la supresión excesiva de la remodelación ósea, un deterioro de la capacidad de reparar las microfracturas del esqueleto y aumento de la fragilidad ósea. Aunque en perros tratados con altas dosis de BFs se ha encontrado un aumento de las tasas de microfracturas, este hallazgo no parece ser común entre las mujeres posmenopáusicas tratadas para la osteoporosis con BFs orales o IV; aunque se ha informado de casos aislados en que el recambio óseo está severamente reprimido y asociado a fracturas. No obstante, la duración óptima del tratamiento con BFs para la ostoporosis postmenupaúsica, y demás condiciones clínicas en que son utilizados sigue siendo poco clara (**Drake 2008**).

Como se ha observado en animales, la presentación de una situación clínica similar a la osteomalacia ha sido vista con el pamidronato en

tratamientos para la enfermedad de Paget, cuando se administra por vía intravenosa en dosis iguales o superiores a 180 mg por año (**Fleisch 1998**).

- **Hipocalcemia:**

La hipocalcemia tras la administración de BFs, más con frecuencia tras infusión IV, puede ocurrir en pacientes con las altas tasas de reabsorción ósea mediada por osteoclastos, (como en los pacientes con enfermedad de Paget o una sustancial carga tumoral esquelética), hipoparatiroidismo previamente desconocido, deterioro de la función renal, o hipovitaminosis D antes del tratamiento. El tratamiento es en gran medida de apoyo, con calcio y suplementos de vitamina D (**Drake 2008**).

- **Respuesta inflamatoria aguda:**

Aproximadamente el 10% al 30% de los pacientes que reciben su primera infusión intravenosa de BFs-N experimentan una reacción de fase aguda, frecuentemente caracterizada por fiebre transitoria que suele ser de 1-2°C, asociada con mialgias, artralgias, dolores de cabeza y síntomas gripales. Es máxima a las 24-48 horas y desaparece después de aproximadamente 3 días. Por lo general se observa solamente una vez, incluso si el tratamiento no se continúa y es reiniciado después. El mecanismo de estos cambios, que se asemejan a una respuesta de fase aguda, parece implicar la estimulación de los macrófagos por la liberación de IL-6 y TNF-a, aumentados en plasma (**Fleisch 1998**) (**Drake 2008**) (**Kimmel 2007**) (**Russell 2008**). Esta producción de citoquinas proinflamatorias por las células T γ δ de sangre periférica, puede estar mediada a través de la vía del mevalonato (**Drake 2008**) (**Kimmel 2007**).

Así pues lo que se conoce hasta ahora es que después de la infusión IV, hay una absorción de BF-N por las células (la mayoría monocitos probablemente) en la sangre periférica, que provoca la inhibición de la FPFS por los BF-N y también causa la acumulación rápida de isopentanil pirofosfato (IPF), el metabolito inmediatamente anterior a la FPFS en la vía del mevalonato. Este metabolito IPF es conocido por ser un ligando para un receptor en la mayoría de células T γ δ en humanos. El mecanismo exacto por el cual se libera la IPF o es "presentado" a estas células T γ, δ sigue siendo

desconocido. Sin embargo, la activación de la células T γ, δ provoca la liberación de TNF, y con ello se inicia la respuesta pro-inflamatoria de fase aguda. Se ha probado el tratamiento previo con receptores antagonistas de la histamina o antipiréticos para reducir la incidencia y severidad de los síntomas en los pacientes susceptibles.

Ocasionalmente los corticosteroides también han sido estudiados como beneficiosos (**Drake 2008**) (**Russell 2008**). En un estudio *in vitro* se impidió la activación de células T γ, δ por los BFs-N, empleando un co-tratamiento de las células con estatinas. Éstas bloquean la acumulación de la IPF, abriendo la posibilidad de que su administración pueda impedir ésta reacción de fase aguda (**Russell 2008**).

Un efecto adverso poco frecuente en la terapia con BFs que debe ser tenido en cuenta es la inflamación ocular (conjuntivitis, uveítis, epiescleritis, y escleritis). Esta complicación se ha encontrado tanto con BFs orales como IV. En un gran estudio retrospectivo, se encontró una incidencia de aproximadamente el 0,1% en los pacientes tratados con risedronato oral. Afortunadamente, los síntomas oculares suelen desaparecer en unas pocas semanas después de la interrupción del tratamiento (**Drake 2008**).

- **Dolor músculo-esquelético severo:**

Aunque en la lista de preparados de todos los BFs orales e IV aparece reflejado el dolor músculo-esquelético como un potencial efecto adverso, la FDA de los EE.UU. recientemente emitió una alerta al destacar la posibilidad de graves e incapacitantes dolores músculo-esqueléticos, que pueden ocurrir en cualquier momento después de la iniciación de la terapia con BFs. Este grave dolor es distinto a la respuesta de fase aguda que se describió anteriormente. Se ha informado de menos de 120 casos en total, hasta finales de 2002 para el alendronato y mediados de 2003 para risedronato. En este momento, los factores de riesgo y la incidencia de este efecto adverso son desconocidos.

Otras complicaciones potenciales:

- *Baja biodisponibilidad oral:*

Este puede ser un problema sobre todo para los BFs de administración oral como por ejemplo el alendronato, risedronato e ibandronato, cuya biodisponibilidad se encuentra en un rango entre 0,6 a 1%. Todos sufren una interacción con la comida (sobre todo con el calcio) que reduce la biodisponibilidad aproximadamente unas diez veces. Por lo tanto, la administración oral de BFs requiere de el consumo con el estómago vacío, sin comida posterior a la ingesta durante aproximadamente 60 minutos (**Kimmel 2007**).

- *Esofagitis:*

La administración oral de BFs, en especial aquellos con una amina primaria, puede ir acompañada de efectos secundarios en el esófago y gastrointestinales tales como náuseas, dispepsia, vómitos, dolor gástrico y diarrea, y algunas veces incluso ulceración. Estos efectos adversos han disminuido desde que los pacientes comenzaron la ingestión del fármaco con adecuada cantidad de agua y sin reclinarse después de su ingesta durante 30-60 minutos para reducir al mínimo reflujo esofágico (**Fleisch 1998**) (**Drake 2008**).

Además se ha mejorado el perfil de administración, adaptándolo a una ingesta semanal, que produce la misma dosis acumulada y la misma eficacia sobre la masa ósea (**Kimmel 2007**) (**Drake 2008**). Para los pacientes que no toleran los BFs orales y para evitar la baja absorción intestinal la FDA ha aprobado preparados IV que no están asociados con irritación gastroesofágica (**Drake 2008**) (**Boutsen 2001**).

- *Afectación renal:*

El ácido zoledrónico y el pamidronato, cuando se administran por vía IV a los seres humanos, inducen un aumento transitorio en la creatinina sérica, debido a la toxicidad renal (**Kimmel 2007**). La vía del mevalonato está implicada en ciertas enfermedades renales, que incluyen la lesión tubular aguda, sugiriendo que la inhibición de la FPFS por los BFs

podría estar involucrada en esta toxicidad. Se sabe que los BFs promueven la apoptosis en los macrófagos y las células cancerígenas, es posible que la apoptosis en las células del revestimiento del contorneado proximal de los túbulos también puede estar mediada por la inhibición de la FPFS (**Kimmel 2007**).

Las dosis de BFs y las tasas de infusión deben ser ajustadas para los pacientes con insuficiencia renal moderada a severa. Si se usa en pacientes con valores de aclaramiento de creatinina inferior a 30 ml / min, los bisfosfonatos se deben utilizar con cautela. Especialmente en pacientes que reciben preparados IV, si la administración es de grandes cantidades y la inyección es rápida, los BFs pueden provocar un rápido deterioro de la función renal. Probablemente debido a su acumulación local en el riñón, ya que estos forman una fase sólida en la sangre, que es retenida por el riñón. Por lo que se debe determinar la función renal tanto antes como después de la administración (**Drake 2008**). Estos acontecimientos no ocurren desde que se tiene cuidado de administrar todos los BFs en grandes cantidades por infusión lenta en abundantes líquidos (**Fleisch 1998**) (**Kimmel2007**). Todos los BFs-N están contraindicados en personas con fallo renal crónico (**Kimmel 2007**).

En pacientes con insuficiencia renal leve o moderada, los BFs orales rara vez llevan a un mayor deterioro en la función renal, probablemente debido a su mala absorción a través del tracto gastrointestinal y por lo tanto su limitada biodisponibilidad a corto plazo (**Drake 2008**).

- *Reducción de la angiogénesis:*

Varios estudios han sugerido que los BFs pueden inhibir la angiogénesis por algún mecanismo que afecte a la adhesión de las células endoteliales, la migración y la supervivencia. El análisis de los datos parece sugerir que si cuando se alcanzan suficientes concentraciones de BFs en las regiones de angiogénesis activa, estos BFs pueden tener un efecto inhibitorio sobre FPFS. Hay poca evidencia que indique que BFs inhiban directa y significativamente la angiogénesis *in vivo*. En pacientes tratados con ácido zoledrónico, por metástasis

óseas derivadas de un cáncer, se ha observado una reducción en la circulación de los niveles de VEFG (factor de crecimiento endotelial vascular). Es posible que la combinación de las dosis de BFs utilizado en pacientes con cáncer y la especificidad por el tejido óseo de estos les permite llevar a cabo una concentración anti-angiogénica eficaz cerca de los vasos sanguíneos en el esqueleto de estos pacientes. Pero la reducción de la angiogénesis en ciertas regiones de rápido recambio, donde es muy notable la inhibición de la reabsorción, no ha podido ser demostrada (**Kimmel 2007**).

- **Osteonecrosis mandibular y /o maxilar.**

1.4. OSTEONECROSIS

1.4.1. *Definición*

Según la American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS), la osteonecrosis maxilar por BFs es diagnosticada en pacientes con una historia de tratamiento actual o anterior con un bisfosfonato, que presenta hueso expuesto no cicatrizado en la región maxilofacial, el cual ha continuado durante más de ocho semanas, sin historia de radioterapia previa en la mandíbula (**Erkan 2009**) (**Senel 2009**).

Caso de ONMB en parte posterior mandibular derecho diagnosticado en la Unidad Docente Medicina Bucal del Hospital Morales Meseguer de Murcia

Las ocho semanas de duración coinciden con la franja de tiempo donde la mayoría de los traumas, exodoncias y cirugías orales resuelven con el cierre de los tejidos blandos, y ya no se presentaría hueso expuesto. En el caso de que la lesión sea espontánea, o la historia de su duración se desconozca, el periodo de ocho semanas se empezará a contar desde que la lesión es documentada por un clínico (**Khosla 2007**). Si aparece hueso expuesto antes

de estas 8 semanas, debería hacerse un seguimiento para confirmar que el tejido blando se ha cerrado o no, y describir el caso como posible osteonecrosis (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**) (**Khosla 2007**).

- ***Progresión de la osteonecrosis maxilar o mandibular (ONM):*** Constituye el desarrollo de nuevos síntomas, la aparición de ONM en otros sitios, o un incremento de tamaño de la ONM con o sin síntomas (**Estilo 2008**).
- ***Resolución de la enfermedad:*** Definida como el recubrimiento completo del tejido blando sin síntomas y sin clínica evidente de hueso expuesto (**Estilo 2008**).

La AAOMS ha creado una clasificación basada en estadios clínicos para categorizar a los pacientes con riesgo de padecer ONM o que ya la están sufriendo, con la intención directa de facilitar las guías de tratamiento, así como recoger los datos y asegurar el pronóstico de estos pacientes. Los diversos estadios son los siguientes:

- **Categoría de riesgo:** pacientes expuestos a BFs orales o IV pero sin evidencias clínicas de hueso expuesto
- **Estadio 1:** aparece hueso expuesto pero asintomático. No hay evidencia de infección o de inflamación significativa del tejido blando de la zona regional o adyacente.
- **Estadio 2:** caracterizado por hueso expuesto asociado a dolor, e inflamación del tejido blando subyacente, o presencia de infección secundaria.
- **Estadio 3:** hueso expuesto asociado con dolor, inflamación de los tejidos blandos adyacentes, o infección secundaria, junto con fractura patológica, una fístula extra oral o evidencias radiográficas de la extensión de la osteolisis al borde inferior (**Russell 2007**).

1.4.2. *Criterios diagnósticos*

En un paciente que ha estado tomando BFs con presencia de una o varias úlceras en la mucosa de un proceso alveolar y con exposición de hueso maxilar o mandíbular (**Bagán 2007**).

El hueso observado a través de la ulceración tiene un aspecto necrótico (**Bagán 2007**) y avascular que pude incluir una infección secundaria (**Diel 2007**).

La lesión se produce de manera espontánea o más frecuentemente después de un procedimiento o una cirugía oral (especialmente una extracción dental).

Ausencia de cicatrización durante un periodo mínimo de 6 semanas; en la mayoría de los casos el progreso de la lesión causa expansión de la exposición de hueso e incremento del dolor (**Bagán 2007**).

Aunque hay una serie de hallazgos concordantes con dichas lesiones ninguno de ellos son patognomónicos de la ONM; ni radiográficos, ni histológicos. Así que el diagnóstico suele estar basado en la evaluación clínica conjunta (**Estilo 2008**). Además las biopsias solo son recomendadas en casos de sospecha de lesión maligna local (**Canadian Consensus Practice Guidelines2008**).

- **Hallazgos Radiográficos:**

La radiografía panorámica no ha demostrado ser específica ni diagnóstica (**Estilo2008**) (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**). Algunos autores sugieren que los escáneres podrían identificar lesiones precursoras de ONM. En las lesiones con pequeñas áreas (<1cm) de ONM no progresada, frecuentemente los hallazgos radiográficos suelen ser de normalidad en las radiografías panorámicas, pero el escáner de tomografía computerizada muestra cambios líticos y de destrucción de hueso en estas ONM con lesiones de mayor tamaño (>1cm) (**Estilo 2008**).

Las lesiones más frecuentemente vistas que podemos tener asociadas con esta entidad son regiones de hueso moteado, consistente en formación de

secuestros (**Ruggiero 2005**). Se pueden apreciar osteolisis combinadas con osteoesclerosis, o solo osteoesclerosis y suele haber una fuerte asociación con un ligamento periodontal ampliado, particularmente en la furcación molar (**Marx 2005**).

Otros autores han propuesto la gammagrafía como prueba diagnóstica, aunque a pesar de que es mucho más sensible que la radiografía en la detección temprana y subclínica de la osteonecrosis (ON), carece de especificidad y siempre debe ir acompañada de investigaciones radiológicas e histológicas precisas.

La TC también ha sido utilizada para obtener una reconstrucción tridimensional de la osteolisis, y demostró ser útil proporcionando información detallada sobre la cortical y las trabéculas óseas (**Biasotto 2010**).

Otras técnicas de imagen descritas son: la Resonancia Magnética, que podría aportar signos tempranos de isquemia o necrosis, pero que está asociada a unos mayores rangos de falsos positivos. Mientras que los escáneres de Radionucleótidos Óseos son la modalidad más sensible para detectar cambios en la vascularidad de una forma prematura (**Russell 2007**).

- **Clínicos:**

Las lesiones clínicas son similares a las de osteoradionecrosis, la cual compromete el hueso que aparece como un secuestro, bien espontáneamente o después de un procedimiento menor, seguido por una infección secundaria (**Estilo 2008**) (***Tabla 4***).

La presentación más típica suele ser la de un alveolo posexodoncia no cicatrizado, o hueso mandibular expuesto, con progresión a la formación de un secuestro óseo asociado con hinchazón y descarga purulenta (**Ruggiero 2004**). El área de hueso expuesto está típicamente rodeada por tejido blando eritematoso inflamado.

Tabla 4: *Signos y síntomas adicionales que pueden estar o no presentes en casos confirmados o sospechosos de ONMB (**Khosla 2007**)*

Dolor
Inflamación
Parestesia
Supuración
Ulceración del tejido blando
Fístula intra- o extraoral
Pérdida de dientes
Variabilidad radiográfica: en un rango que va desde no alteraciones radiográficas hasta radiolucidades o radiopacidades.

Mientras que la descarga purulenta en el lugar del hueso expuesto ocurriría al ser secundariamente infectada (**Ruggiero 2007**).

El hueso expuesto asintomático es descubierto normalmente por rutina dental, mientras que otras veces el área expuesta de hueso presenta dolor; junto a esto pueden aparecer uno o más dientes móviles, con presencia o no de fístula cutánea, incluso a veces fístula mucosa o hueso expuesto a través de la piel (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**). También se ha informado de fracturas patológicas del maxilar o mandíbula (**Diel 2007**).

En un estudio seguido por Estilo y cols. en 2008 en todos los casos estudiados el hueso expuesto apareció como no vital, y se encontraba asintomático; lo que confirma la naturaleza necrótica del mismo. Los tejidos blandos de alrededor estaban típicamente eritematosos e inflamados. Su presentación inicial solía tener un tamaño aproximado de 1-5mm de diámetro, pero la gran mayoría llegaban a ser >1cm. El 62,9% fueron sintomáticos, pero las complicaciones más comunes fueron dolor y /o entumecimiento en el área afectada, los tejidos blandos inflamados, drenaje, y movilidad dental. También puede aparecer fístula de drenaje y desarrollar alguna fractura (**Estilo 2008**).

Así pues los signos y síntomas que se presentan más comúnmente suelen ser en primer lugar el dolor como síntoma más importante, seguido por la fístula, herida no cicatrizada o abierta, descarga purulenta y por último sangrado (**Pazianas 2007**).

El secuestro espontáneo, es un proceso patológico menos agresivo y autolimitado que se puede desarrollar sin ningún tipo de factor evidente que lo provoque, y se caracteriza por la exposición ósea, con participación de la necrosis, que suele encontrarse a nivel lingual mandibular aproximadamente cerca de la cresta milohioidea. Puede parecerse a ONM asociada a BFs. Pero es una condición auto-limitada que se resuelve espontáneamente entre 3 días y 12 semanas (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**).

- **Histológicos:**

Al examen microscópico, las muestras suelen presentar un hueso necrótico con asociación a desechos bacterianos o tejido de granulación (**Ruggiero 2004**) (**Estilo 2008**). Morfológicamente estos desechos bacterianos suelen coincidir con *Actinomyces*. Hansen y cols., encontraron estos *Actinomyces* en contacto directo con el tejido óseo, además de un infiltrado inflamatorio mixto con cantidades variables de osteoclastos; típicamente en los alrededores de los espacios medulares. Sin embargo, Ruggiero y cols. en 2005 en su serie de casos no encontraron *Actinomyces* alrededor del hueso afecto; aunque si se detectó, mediante cultivos, una flora oral normal (**Ruggiero 2005**). Actualmente no está claro si los *Actinomyces* están contribuyendo activamente al desarrollo de la osteonecrosis maxilar, a su progresión, o es simplemente un "espectador inocente" / fenómeno secundario relacionado con el hueso necrótico y un entorno anaerobio (**Estilo 2008**), pues estos factores existen desde siempre y no pueden explicar la emergencia de la ONM en los últimos años (**SEIOMM 2009**).

La trabeculación ósea es relativamente normal aunque irregular, con áreas radiolúcidas difusas que indican una curación de hueso incompleta en el área de la cirugía dental previa, secuestro óseo, “hueso moteado” o como “bocados de polilla”, o cambios líticos (**Estilo 2008**) (**Ruggiero 2005**).

La biopsia de tejidos blandos refleja la mucosa escamosa inflamada o tejido de granulación, pero ninguno muestra evidencias de malignidad (**Ruggiero2005**).

1.4.3. *Incidencia de las osteonecrosis maxilares*

La incidencia se define como el número de nuevos casos dentro de un grupo de población definido y durante un periodo de tiempo predeterminado. La incidencia real de ONMB se desconoce actualmente, ya que las cifras difieren entre los distintos autores entre 0,8%- 12% para BFs IV (**Bagán 2008 libro**) (**Erkan 2009**). Esta incidencia en tratamientos oncológicos se encuentra en 1 a 10 por cada 100 pacientes (**Drake 2008**) (**Estilo 2008**). El riesgo de osteonecrosis maxilar parece ser sustancialmente menor entre los pacientes

tratados con BFs por vía oral en terapia para la osteoporosis, con una incidencia estimada de aproximadamente 1 de cada 10.000 a 1 de cada 100.000 por paciente y año, aunque esta estimación se basa en datos incompletos (**Drake 2008**) (**Bagán 2008**) (**Erkan 2009**). Esto puede ser debido a que el número de pacientes varía de unas series a otras y hay pocos estudios prospectivos. Además hay que tener en cuenta la variación en la vida media de estos fármacos que puede llegar hasta los 10 años, además de que debe todavía determinarse su efecto acumulativo en el hueso (**Bagán 2008**).

También debemos considerar el tipo de BF empleado para el tratamiento de la enfermedad de base, así pues la nueva generación de ácido zoledrónico ha demostrado, significativamente, mayor riesgo acumulado comparado con pamidronato solo o con tratamientos secuenciales de pamidronato y zoledronato (**Hewitt 2007**). Para alendronato (el más común de los BFs orales prescritos), se aprecia una incidencia espontánea de ONM (o ritmo de nuevos casos acorridos) de aproximadamente 0,7 casos por cien mil personas- año expuestas. Pero otro problema adherido para conocer la verdadera incidencia es que no se suele datar, una verdadera relación causa y efecto entre ONM y BFs (**ADA 2006**).

Teniendo en cuenta que hasta la fecha la mandíbula y el maxilar son los huesos que presentan esta exposición, la localización y la frecuencia dentro de esta región también varía según los distintos estudios y los diferentes autores. En un estudio de Marx y cols. en 2005 de 119 pacientes el 68,1 % de las osteonecrosis ocurrieron exclusivamente en mandíbula, el 27,7% exclusivamente en maxilar y el 4,2% ocurrieron simultáneamente en mandíbula y maxilar datos similares son observados por Woo y cols. 2006 donde solo en mandíbula hay un 65%, en maxilar solo 26%, o ambos con un 9%.

En general la mandíbula suele ser la localización más común (**Estilo 2008**) y dentro de ella la parte posterior en el área de los molares, seguido por la parte posterior del maxilar (**Pazianas 2007**). Así pues las lesiones espontaneas se suelen hallar en zona posterior lingual de la mandíbula o en el área de la cresta milohioidea (**Pazianas 2007**) (**Woo 2006**). También se puede producir una afectación multifocal o bilateral en la que para algunos estudios fue ligeramente más frecuente en el maxilar superior que en la mandíbula (31%

vs 23%) (**Woo 2006**) y para otros se describió un único caso y fue bimandibular pero ninguno bimaxilar (**Pazianas 2007**).

El 60% de los casos ocurren después de una exodoncia o cirugía dentoalveolar, el resto de los casos se produce de forma espontánea. Estos últimos casos pueden aparecer en los pacientes que usan prótesis removibles orales, como una posible fuente de trauma local. Marx y sus colaboradores informaron que el 39% de los casos que se produjeron de forma espontánea estaba ubicado en exostosis óseas que fueron fácilmente traumatizadas (**Marx 2005**). También se ha descrito un caso de fracaso de los implantes dentales asociados con el uso de BFs (**Woo 2006**).

Haciendo una revisión de los casos clínicos publicados en la literatura científica y presentes en la base de datos Medline, presentamos dos tablas resumen en las que aparecen los artículos en los que se incluía un número de pacientes mayor de 10 (***Tabla 5***), y otra en la que se pueden observar los artículos con un número de casos inferior a 10 (***Tabla 6***).

Tabla 5: *Resumen de los artículos con más de 10 casos de ON asociada con BFs.*

Autor, año de referencia	Nº Pacientes	Sexo n, H	M	Diagnóstico primario (n=)	Lugares de ON(n=)	Procedimiento quirúrgico previo n (%)	BFs (n=)
Marx 2003	36	Sd	Sd	MM (18) CM (17) Osteoporosis (1)	Mb (29) Mx (5) Ambos (2)	28 (78)	PA (24) ZO (6) PA+ZO (6)
Ruggiero y cols., 2004	63	18	45	MM (29) CM (21) CP (3) CPI(1) Leiomiosarcoma uterino (1) Leucemia (1) Osteoporosis (7)	Mb (39) Mx (23) Ambos (1)	54 (86)	PA (34) ZO (9) PA+ZO (13) ALE (5) RI (1) ALE+ZO(1)
Estilo y cols., 2004	13	4	9	CM (9) MM (4)	Mb (6) Mx (5) Ambos (2)	9 (69)	BF intravenosos no especificado
Marx y cols., 2005	119	Sd	Sd	MM (62) CM (50) CP (4) Osteoporosis (3)	Mb (81) Mx (33) Ambos (5)	55 (46)	ZO (48) PA+ZO (36) PA (32) ALE (3)
Bagán y cols., 2005	10	2	8	CM (6) MM (4)	Mb (5) Ambos (5)	7(70)	ZO (2) PA(4) PA+ZO (4)

Migliorati y cols., 2005	18	4	14	CM (5) MM (3) CP (2) Cáncer de ovario (1) Cáncer ovario/mama (1) Osteoporosis (3)	Md (n=8) Mx (n=2) Ambos (n=1) Desconocido (n=7)	6 (33)	ZO (8) PA+ZO (6) PA (3) ALE (1)
Purcell y Boid 2005	13	7	6	CM (5) CP (4) MM (3) Osteoporosis (1)	Mb (4) Mx (2) Desconocido (7)	5 (38)	ZO (9) PA (2) PA+ZO (1) ALE (1)
Bagán y cols., 2006	20	5	15	CM (10) MM (9) CP (1)	Mb (11) Mx (1) Ambos (8)	11 (55)	ZO (9) PA+ZO (6) PA (5)
Pires y cols., 2005	12	9	3	CM (6) MM (4) CP (1) CPI (1)	Mb (8) Mx (3) Ambos (1)	8 (67)	PA+ZO (5) PA (4) ZO (3)
Bamias y cols., 2005	17	10	7	MM (11) CP (3) CM (2) Otras neoplasias (1)	Mb (14) Mx (3)	13 (76)	PA+ZO (9) ZO (7) ZO+IB (1)
Melo y Obeid, 2005	11	7	4	CM (3) MM (7) CPI (1)	Mb (8) Mx (2) Ambos (1)	9 (82)	ZO (4) PA (4) PA+ZO (3)
Khamaisi y cols., 2006	19	5	14	CM (8) MM (6) CP (1) Linfoma no- Hodkin (2) Osteoporosis (1) Artritis reumatoide (1)	Mb (10) Mx (8) Ambos (1)	13 (68)	PA (14) ZO (2) ALE (3)
Zarychanski y cols., 2006	12	7	5	MM (10) CM (1) Cáncer renal (1)	Mb (10) Mx (1) Ambos (1)	7(58)	PA (12)
Farrugia y cols 2006	23	Sd	Sd	Metástasis óseas (18) Osteoporosis/ enf Paget (5)	Sd	Sd	ZO y/o PA (18) ALE (5)
Badros y cols., 2006	22	17	5	MM (22)	Mb (15) Mx (2) Ambos (5)	12 (55)	PA (3) ZO (2 P+Z (17)
Hansen y cols., 2007	26	13	13	MM (10) CM (9) CP (6)	Mb (13) Mx (7) Ambos (6)	18 (69)	ZO (Sd) PA (Sd)
Magopuolos y cols., 2007	60	Sd	Sd	Sd	Mb (30) Mx (22) Ambos (8)	Sd	ZO(Sd)
Estilo y cols., 2008	35	Sd	Sd	CP (Sd) CM (Sd) MM (Sd)	Mb (21) Mx (12) Ambos (3)	18 (51)	PA (Sd) ZO (Sd) PA+ ZO (Sd)

Abreviaturas: **ALE:** Alendronato, **BF:** Bisfosfonato, **CM:** Cáncer de mama, **CP:** Cáncer de Próstata, **CPI:** Cáncer de pulmón, **IB:** Ibandronato, **Mb:** Mandíbula, **MM:** Mieloma Múltiple, **Mx:** Maxilar, **ON:** Osteonecrosis, **PA:** Pamidronato, **RI:** Risedronato, **Sd:** Sin datos, **ZO:** Zoledronato.

Tabla 6: *Resumen de los artículos con menos de 10 casos de ON asociada con BFs.*

Autor, año de referencia	Nº Pacientes	Sexo (n), H	M	Diagnóstico primario	Lugares de ON	Procedimiento quirúrgico previo n (%)	BFs (n=)
Wang y cols., 2003	3	0	3	Cáncer de mama (3)	Mb (1) Mx (2)	2(67)	PA (3)
Migliorati y cols .,2003	5	Sd	Sd	Sd	Cresta milohiodea (3) Lugar exodoncia (2)	2(40)	PA (Sd) ZO (Sd)
Lugassy y cols., 2004	3	2	1	MM (3)	Mb (3)	1(33)	PA ZO
Carter y cols., 2005	5	3	2	MM (2) Enfermedad de Paget (3)	Mx (4) Ambos (1)	4(80)	PA (4) ALE (1)
Merigo y cols., 2005	4	0	4	CM (2) MM (1) Mesotelioma Pleural (1)	Mb (3) Mx (1)	1(25)	PA (2) ZO(2)
Melo y Obeid 2005	1	0	1	CM (1)	Mx (1)	1(100)	ZO (1)
Vannuchi y cols .,2005	1	0	1	MM (1)	Mb (1)	Sd	ZO (1)
Schirmer y cols., 2005	6	4	2	MM (4) CM (2)	Sd	Sd	Sd
Viale y Lin 2005	1	0	1	CPI (1)	Mb (1)	0	ZO (1)
Maerovoet y cols., 2005	9	Sd	Sd	MM (4) CM (5)	Sd	Sd	ZO (Sd) PA (Sd)
Sarathy y cols., 2005	2	2	0	CP (2)	Mb (1) Mx (1)	0	PA (1) ZO (1)
Ficarra y cols., 2005	9	3	6	MM (3) CM(3) CP(1) CPI (1) Linfoma no Hodkin(1)	Mb (7) Ambos (2)	9(100)	PA (Sd) ZO (Sd)
Nase y cols., 2006	1	0	1	Osteoporosis (1)	Sd	1 (100)	Sd
Hansen y cols., 2006	8	3	5	MM (5) CM (3)	Mb (4) Mx (3) Ambos (1)	6 (75)	ZO (1) PA+ZO (6) ZO+IB (1)
Montarezi y cols., 2007	1	1	0	MM (1)	Mb (1)	1 (100)	CLO (1)
Borrás-Blasco y cols., 2007	1	1	0	CPI (1)	Mb(1)	1(100)	ZO (1)
García-Sáenz y cols., 2007	3	3	0	CP (3)	Mb(3)	2(67)	ZO (3)
Bocanegra y cols., 2008	2	1	1	CP (1) CM (1)	Mb (1)	1 (50)	ZO (2)
Smith y cols., 2009	1	1	0	Cáncer de páncreas (1)	Sd	Sd	ZO (1)
Cetiner y cols., 2009	5	4	1	MM (5)	Mb (2) Mx (1) Ambos(2)	5(100)	ZO (5)
Naik y Russo 2009	1	1	0	MM	Mx	Implante	PA
Tong y cols., 2010	2	0	2	Osteoporosis (2)	Mb (2)	2(100)	RI (1) ALE (1)

Abreviaturas: **ALE:** Alendronato, **BF:** Bisfosfonato, **CM:** Cáncer de mama, **CLO:** Clodronato, **CP:** Cáncer de Próstata, **CPI:** Cáncer de pulmón, **Mb:** Mandíbula, **MM:** Mieloma Múltiple, **Mx:** Maxilar, **ON:** Osteonecrosis, **PA:** Pamidronato, **RI:** Risedronato, **Sd:** Sin datos, **ZO:** Zoledronato.

Polizzotto y cols. publicaron en 2005 un caso de ON que no afectaba ni a maxilar ni a mandíbula y que apareció fuera de al cavidad oral, el paciente era un hombre de 64 años con seguimiento de 9 años por mieloma múltiple, en el que durante los primeros cuatro años fue sometido a tratamiento con pamidronato para luego seguir con zoledronato. El paciente desarrolló exostosis oseas bilaterales en los canales auditivos externos, con recurrentes suprainfecciones. Al cabo de un tiempo se le sometió a la exodoncia de los segundos molares derechos inferior y superior, y a la retirada de la exostosis del lado izquierdo. Seguidamente, presentó dolor y ulceración en ambas localizaciones quirúrgicas, en las cuales, siendo descartada la posibilidad de un mieloma, se asoció con la administración de BFs (**Polizzotto 2005**).

1.4.4. *Posibles factores de riesgo*

- **Relacionadas con los fármacos:**

- *Potencia del BF*

  Este tipo de ON se ha relacionado más frecuentemente con el uso de potentes aminobisfosfonatos, siendo más los casos en este tipo de fármacos en comparación con las terapias con BFs-NN (**Diel 2007**). Por orden de potencia, de mayor a menor, los principales BFs siguen el siguiente orden: zoledronato> pamidronato>alendronato> clodronato (**Campisi 2007**)(**Bamias 2005**). Así pues el tiempo trascurrido en la duración de la terapia hasta la aparición de la ONM fue menor en los pacientes con ácido zoledrónico, en comparación con pamidronato o terapias conjuntas de ambos (**Estilo2008**).

- *Vía de administración (IV> oral)*

  La vía de administración intravenosa de los BFs; que se utiliza en pacientes con cáncer, con un intervalo entre dosis de 3 a 4 semanas; está asociada con el mayor riesgo de desarrollar osteonecrosis mandibular o maxilar (**Campisi 2007**) (**Panzianas 2007**).

- *Duración de la terapia (***Campisi 2007***):*

  El tiempo de exposición a los BFs se definió como el tiempo, en meses, desde la infusión inicial de BF hasta la última infusión

registrada. En un estudio prospectivo de Bamias y cols. en 2005 observaron que a mayor tiempo de exposición a BFs y mayor número de infusiones mayor incidencia de ONM, sobre todo a partir de los dos años de tratamiento, produciéndose un incremento continuo de la incidencia después de los 5 años de exposición al fármaco (**Bamias 2005**).

También se ha evaluado la frecuencia de administración y se ha visto que los casos de ONM se reducen cuando esta frecuencia disminuye y aumenta el tiempo de intervalo entre las dosis, aprobando los regímenes mensuales en 2005 (**Pazianas 2007**). Recientemente se comprobó que reduciendo los horarios de administración de los BFs IV de 1 vez mensual a 1 vez cada tres meses, se disminuye la incidencia de la ONM (**Drake 2008**).

- **Factores de riesgo locales:**

Campisi y cols. elaboraron en 2007 una lista de los factores de riesgo locales que podrían influir en la aparición de la ONM.

- *Cirugía dentoalveolar:* de cualquier tipo como por ejemplo exodoncias, implantes dentales, cirugía periodontal, cirugía periapical, etc.
- *Trauma en mandibula o maxilar.*
- *Pobre higiene oral*. Sin embargo sobre este punto hay que mencionar que en un estudio de Estilo y cols. en 2008 ellos no encontraron asociación entre este estado oral y el aumento de riesgo de ONM.
- *Enfermedad periodontal.*
- *Enfermedad inflamatoria dental.*
- *Torus palatino y lingual, exostosis óseas, cresta milohioidea.*
- *Trauma por ajuste inadecuado de prótesis removibles.*
- *Abuso del tabaco y el alcohol.*
- *Historia de osteonecrosis /osteomielitis previa en los maxilares (**Campisi 2007**) (**Lam 2007**).*

Factores de riesgo demográficos y sistémicos.

- *Edad* (>65años) (**Campisi 2007**) (**Pazianas 2007**). Debido sobre todo al incremento de la prescripción de estos fármacos en personas mayores en comparación con personas más jóvenes (**Pazianas 2007**).
- *Género:* Femenino> masculino 8:1 (**Campisi 2007**) (**Pazianas 2007**) ó 3:2 (**Woo 2006**).
- *Raza caucásica.*
- *Terapia crónica con corticoides*.
- *Quimioterapia.*
- *Terapia estrogénica.*
- *Abuso alcohol y tabaco.*
- *Diagnostico de cáncer* (el riesgo va en aumento en mieloma multiple> cáncer de mama> cáncer de próstata>otros canceres).
- *Diagnostico de Osteopenia/ osteoporosis concordante con diagnostico de cáncer.*
- *Malnutrición.*
- *Diabetes.*
- *Inmunodeficiencia adquirida o inducida.*
- *Anemia y talasemia.*
- *Coagulopatías, discrasia sanguíneas y desordenes vasculares.*
- *Hiperlipemia enfermedades del tejido conectivo.*
- *Enfermedad Gaucher.*
- *Lupus eritematoso sistémico.*
- *Hipotiroidismo* (**Campisi 2007**).

En relación con las comorbilidades dentales, la periodontitis fue la más común clínica y radiográficamente. La placa bacteriana relacionada con la producción de la inflamación gingival y la reabsorción del hueso alveolar se encuentra presente en un alto porcentaje de pacientes. También se examinó la caries en dientes del área de hueso expuesto, la cual, puede ir aparejada a la formación de un absceso dental y/o el fracaso de tratamientos radiculares

previos con radiolucidez apical o relleno inadecuado. Además cabe reseñar que los pacientes con Torus mandibular tienen más probabilidad de desarrollar hueso expuesto lo que lo convierte en una comorbilidad anatómica (**Marx 2005**).

También se ha sugerido que la afectación previa de la zona de ONM por las lesiones del virus del herpes simple (VHS), provoca una ruptura de la integridad de la mucosa, aumentando el riesgo de afectación por osteonecrosis (**Pires 2005**).

- **Comorbilidades médicas:**

Sería lógico pensar que la enfermedad subyacente maligna del paciente debería ser considerada la comorbilidad más importante teniendo en cuenta sus efectos negativos a nivel sistémico en la nutrición, el sistema inmune, y la homeostasis diaria del tejido, por no hablar de las numerosas citocinas nocivas secretadas por los tumores. Sin embargo, es importante señalar que ciertos pacientes desarrollan un hueso expuesto por BFs no relacionado con cáncer y que las personas con los mismos tipos de cánceres y los protocolos de quimioterapia, pero que no habían recibido BFs no desarrollan este tipo de exposición ósea.

La morbilidad más frecuente suele ser una historia de quimioterapia sistémica, que, como es de esperar, es parte del tratamiento estándar de los pacientes con cáncer. Sin embargo, siguiendo la variedad de protocolos de fármacos, y el concomitante tratamiento con BFs, se observó que el único denominador común que presentaban los pacientes con ONM era el empleo de BFs, independientemente del resto de protocolos y fármacos. La más común de las comorbilidades por drogas viene dada por la dexametasona, generalmente se administra en dosis que oscilan entre 20 mg IV en el momento de la inyección con BF, para variar con administración oral durante todo el tratamiento. Después de la dexametasona, se detectaron diferentes comorbilidades no cuantificables, como el alcohol, el tabaquismo, la edad avanzada, y algunas veces el mantenimiento de la quimioterapia, anteriormente mencionadas (**Marx 2005**).

Por todo esto para algunos autores existe una asociación negativa entre el uso de quimioterápicos antiangiogénicos y el desarrollo de ONM (**Diel 2007)**, mientras que para otros sí que se produce un riesgo mayor en regímenes con estos quimioterápicos y corticoesteroides (**Estilo 2008**).

- **Evento iniciador**

El conocimiento de eventos inciadores o precipitantes puede ofrecer una vía hacia la prevención. Según la revisión hecha por Marx y cols. en 2005 en la zona de hueso expuesto que no cicatriza se identificaron 30 casos (25,2%) producidos de forma espontánea sin ninguna enfermedad dental aparente, tratamiento, o traumatismo. Sin embargo, 45 de los casos (37,8%) estaban relacionados con la extracción de uno o más dientes, 34 (28,6%) una obvia enfermedad periodontal existente, 5 (11,2%) con cirugía periodontal, 4 (3,4%) posterior a una colocación de implantes dentales, y 1 (0,8%) a una cirugía de apicectomía (**Marx 2005**).

1.4.5. *Posibles causas y mecanismos de producción de la ONMB*

La teoría principal sugiere que es causada por el cese de la remodelación y recambio óseo derivado del efecto inhibidor de los BFs sobre los osteoclastos, tanto si se dan para reducir la pérdida de densidad ósea en la osteoporosis o para prevenir la propagación del cáncer en el hueso.

En el tratamiento de la osteoporosis, la utilización de BFS menos potentes, como alendronato, restringen la función osteoclástica con menos severidad. El resultado es generalmente un control de la osteoporosis, pero no se ha publicado una prevalencia significativa de hueso expuesto, a menos que se produzcan dosis acumuladas de estos BFs al aumentar durante más tiempo el tratamiento con los mismos.

En el control de las metástasis asociadas al cáncer, los BFs más potentes, pamidronato y zoledronato inhiben de manera irreversible la acción de los osteoclastos a través de la interrupción de la vía del mevalonato,

causando toxicidad directa de estas células, cuyo resultado es la apoptosis de las mismas. Así la reabsorción ósea mediada por los osteoclastos es prevenida para muchos tumores malignos, a través de la elaboración de una variedad de factores de activación de los osteoclastos, tales como RANKL. En la presencia de estos BFs, la neoplasia no puede reabsorber un volumen de hueso en el que pueda proliferar, no importa cuántos factores de activación segreguen. Tal es el valor clínico de los BFs, que han reducido las complicaciones esqueléticas, el dolor, y así han mejorado la calidad de vida de las personas con metástasis ósea (**Marx 2005**) (**Ruggiero 2007**).

Los osteoblastos y los osteocitos tienen una vida aproximada de 150 días. Si, tras su muerte, la matriz mineral no es reabsorbida por los osteoclastos, los cuales liberan citoquinas de la proteína morfogenética ósea e insulinas de factores de crecimiento para inducir nuevos osteoblastos de la población de células madre, se convierte en la osteona acelular y necrótica (**Marx 2005**). Los pequeños capilares dentro del hueso se involucionan, y el hueso se convierte en avascular. Una ruptura espontánea de la mucosa, algún tipo de lesión, o una invasión quirúrgica en los maxilares suele causar este hueso necrótico expuesto que no cura.

La teoría de la competencia se basa únicamente en pruebas experimentales que muestran que el pamidronato y ácido zoledrónico también inhiben la neoangiogénesis capilar. Se ha demostrado en modelos experimentales en rata que estos BFs inhiben la angiogénesis, disminuyen la formación del tubo capilar, e inhiben el factor de crecimiento endotelial vascular y los brotes vasculares, tanto *in vitro* como en el modelo (**Marx 2005**) (**Ruggiero 2004**). Además, Wood y cols. han demostrado que los BFs inhiben la proliferación endotelial en los cultivos de la vena umbilical humana y en células del anillo aórtico de la rata (**Marx 2005**).

Estas propiedades antiangiogénicas, no reconocidas previamente, han generado un interés en el uso de BFs como potenciales agentes antitumorales. Además, estas propiedades de los BFs podrían explicarnos cambios, aparentes isquémicos, vistos en mandíbulas y maxilares de los pacientes. Estas complicaciones no aparecieron durante la etapa de prueba de estos fármacos.

Esto sugiere que los efectos isquémicos pueden ser acumulativos en la naturaleza (**Ruggiero 2005**).

Un apoyo adicional, para la teoría del mecanismo antiosteoclástico del hueso expuesto por BFs, viene dado por la comprensión de la enfermedad de la osteopetrosis, un rasgo de herencia autosómica dominante, caracterizada por la pérdida de desarrollo de los osteoclastos. Estos pacientes desarrollan una imagen clínica idéntica a la del hueso expuesto por BFs. Esta imagen es hueso expuesto avascular, que no resuelve, que ocurre casi exclusivamente en los maxilares, a veces espontáneamente, aunque suele ser precipitado por procedimientos invasivos dentales. En la osteopetrosis como en hueso expuesto por BFs, la angiogénesis en los tejidos blandos es normal. Por lo tanto, el clínico debe tener en cuenta que la ONM inducida por BFs es en realidad una forma químicamente inducida de osteopetrosis con un curso clínico de la enfermedad similar al de la forma relacionada genéticamente. La ON en cada forma es el producto final de la pérdida de la remodelación ósea osteoclástica y la renovación (**Marx 2005**).

Recientemente se ha hipotetizado que la captación de BFs, podría esencialmente ser (aproximadamente 100 veces) mayor en el hueso alveolar que otros lugares del esqueleto. Se ha propuesto que su mayor captación podría resultar en mayores concentraciones de BFs, suficientes para ser directamente toxicas para el epitelio oral, resultando pues en una infección secundaria del hueso subyacente (**Senel 2009**).

1.5. TRATAMIENTOS PROPUESTOS PARA LA ONMB

Debido a lo relativamente nueva que es esta entidad, a lo inexacto que es todavía el conocimiento de los mecanismos de producción de la misma, y a la falta de consenso global, se encuentran entre la bibliografía multitud de propuestas de tratamiento diferentes. Para poder elucidar mejor las opciones terapéuticas de que se disponen, las dividiremos en tres grupos según en la fase de tratamiento con BFs se encuentren y con la aparición clínica o no de ONM:

1.5.1. *Grupo 1: Pacientes que van a comenzar con la terapia de aminobisfosfonatos*

El inicio de la terapia con BFs debe ser aplazada hasta que los tratamientos orales y quirúrgicos se hayan completado. Como mínimo, el examen odontológico debe consistir en el registro de datos y exámenes clínicos y radiográficos (**Campisi 2007**) (**Marx 2005**). El tratamiento dental está dirigido a la eliminación de las infecciones o posibles focos de infección y a evitar la necesidad de procedimientos dentales invasivos en el futuro próximo (**Woo 2006**) (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**) (**Marx 2005**), así como la eliminación de los factores de riesgo locales (bordes afilados de coronas dentales, prótesis inadecuadas, etc). Del mismo modo, los pequeños torus mandibulares linguales no requieren su eliminación; mientras que los de mayor tamaño, torus multilobulados mandibulares o torus palatino de la línea media con fina mucosa que lo recubra, se recomienda eliminarlos (**Campisi2007**) (**Marx 2005**).

Como regla general, si el paciente sólo requiere tratamientos dentales no invasivos, tales como tartrectomía, aplicación de flúor, restauraciones dentales, prótesis, y así sucesivamente, la terapia de BFs no necesita ser demorado. Pero si el paciente requiere de procedimientos dentales invasivos, tales como el exodoncias, cirugía periodontal, o endodoncia, el inicio del tratamiento con BFs se aplazará por 1 mes para dar tiempo suficiente para que el hueso presente recuperación y curación (**Campisi2007**) (**Bagán 2007**) (**Marx 2005**). Para algunos autores estos pacientes no deben ser considerados como candidatos para los implantes dentales, ya que no tienen inserción epitelial ni crevicular y por lo tanto predisponen a los pacientes a la exposición de hueso (**Marx 2005**).

Por todo ello es fundamental el logro de una buena higiene bucal, fomentando el cuidado dental rutinario (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**) (**Woo 2006**), incluso prescribiendo colutorios antisépticos, como clorhexidina al 0,12% (**Marx 2005**). Además de una educación y asesoramiento del paciente sobre esta posible complicación, intentando inculcar un estilo de vida saludable evitando tabaco y alcohol (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**).

Una vez que el régimen de BFs ha comenzado, se recomienda un programa de vigilancia una vez cada 4 meses (**Marx 2005**).

1.5.2. *Grupo 2: Pacientes sin osteonecrosis maxilar que estén recibiendo terapia intravenosa con aminobisfosfonatos*

Las revisiones orales y los programas de vigilancia deben realizarse por lo menos una vez al año y lo más recomendable cada 3-6 meses (**Marx 2005**). Si el paciente ha estado recibiendo la terapia por menos de tres meses las indicaciones a seguir son las mismas que en el grupo anterior (**Campisi 2007**).

Sin embargo para pacientes con más de tres meses de tratatamiento con BFs el diagnóstico precoz de una posible etapa inicial de ONM es fundamental, por ello los exámenes orales deben ser exhaustivos en busca de signos de exposición ósea o de sospecha de la misma, y de síntomas asociados como dolor o disestesias (**Campisi 2007**); acompañados por exámenes radiográficos que evidencien cambios óseos (osteolisis, osteoesclerosis, ampliación del ligamento periodontal, etc), así como tomografías computerizadas en caso de duda (**Marx 2005**)(**Campisi 2007**).

Buscar alternativas a los procedimientos quirúrgicos, evitando en la medida de lo posible las exodoncias y postergando los tratamientos quirúrgicos electivos (**Marx 2005**) (**Woo 2006**) (**Bagán 2007**) (**Campisi 2007**).

En caso de ser necesarios la exodoncia o algún otro tratamiento quirúrgico se ha propuesto la discontinuación de la terapia con BFs desde 1 a 3 meses antes y después de la cirugía dentoalveolar, hasta la completa curación del tejido. El problema con esta medida es que actualmente no hay publicada ninguna evidencia científica que la soporte o la refute. Sin embargo, la detención de los efectos antiangiogénicos de la droga en los tejidos blandos y el periostio puede jugar un importante papel en mejorar la vascularización y más rápida curación después de la cirugía (**Campisi 2007**) (**Bagán 2007**) (**Khosla 2007**). Pero según algunos autores la detención o disminución de la terapia con BFs no parece alterar el curso de la ONM (**Estilo 2008**) (**Ruggiero 2005**). Además según algunas publicaciones se debe unir una cobertura antibiótica de entre 2-5 días antes y 10-20 días después del procedimiento con

antibióticos de amplio espectro, con aplicaciones de clorhexidina al 0,12% y continua vigilancia hasta la curación del proceso (**Campisi 2007**) (**Bagán 2007**) (**Khosla 2007**).

1.5.3. *Grupo 3: Pacientes con osteonecrosis de maxilares establecida*

Cuando se expone el hueso en los maxilares se debe valorar el grado de exposición del mismo así como los signos y síntomas que presenta el paciente. Realizando los exámenes orales y radiográficos como en estadios anteriores añadiendo investigaciones especiales como pueden ser cultivos microbiológicos para identificar patógenos bacterianos o microbiológicos con potencial para causar infecciones secundarias (**Campisi2007**) (**Bagán 2007**).

En casos de elección de una terapia no quirúrgica el tratamiento a seguir es el mismo que en el grupo anterior con más de 3 meses de terapia con BFs, tanto en tratamiento como en prevención, como en educación del paciente. Aunque si existe sospecha de metástasis ósea está indicada la realización de la biopsia (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**).

Suele ser necesario la suplementación con un tratamiento farmacológico pues si el paciente refiere dolor, se deben prescribir analgésicos sistémicos a fin de mitigar los síntomas (**Woo 2006**) (**Campisi 2007**). También se recomienda el riego del lecho necrótico expuesto con clorhexidina al 0,12% una vez cada 72 horas durante cuatro semanas (**Bagán 2007**). La mayoría de autores suelen estar de acuerdo en utilizar antibióticos de amplio espectro para reducir el componente infeccioso de la lesión pero en lo que no suelen coincidir es con las dosis y los regímenes de seguimiento (entre 10 y 21 días) que se deben prescribir, tanto si es oral como intravenosa (**Woo 2006**) (**Campisi 2007**) (**Bagán 2007**) (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**) (***Tabla 7***).

Tabla 7: *Terapia antibiótica para el tratamiento de ONM ya establecidas, propuesta por Woo y cols. en 2005 y por Campisi y cols. 2007.*

Antibacteriano	Dosis inicial	Dosis de mantenimiento
PRIMERA ELECCIÓN		
Penicilina	500 mgr 3-4 veces/día/10 días	500 mg cada 12 horas
Amoxicilina	500 mgr 3-4 veces/día/10 días	500 mg cada 12 horas
ALERGIA A PENICILINA		
Clindamicina	150-300 mg 4 veces/día	
Eritromicina	100 mg 4 veces /día	
Azitromicina	400 mg 4veces/día	
PACIENTES QUE NO RESPONDEN O EN CASO DE SINTOMATOLOGÍA SEVERA (EN ADICIÓN A LO PREVIO)		
Metronidazol	250.500 mg 3 veces/día/14 días	
EN CASO DE INFECCIÓN SEVERA		
Ampicilina	1 gr 4veces/día	
Ácido clavulánico	500mg 4 veces /día	
Metronidazol	500mg 3 veces /día	
EN CASO DE ALERGICOS A PENICILINA		
Ciprofloxacino + Metronidazol	500mg 2 veces /día 500mg 3 veces /día	
Eritromicina + Metronidazol	400mg 3 veces /día 500mg 3 veces /día	
Antifúngicos (cuando sean requeridos)		
En base al test de susceptibilidad		
Antivirales (cuando sean requeridos)		
Aciclovir	400mg 2veces/día	
Valaciclovir	500mg- 2gr 2 veces/día	

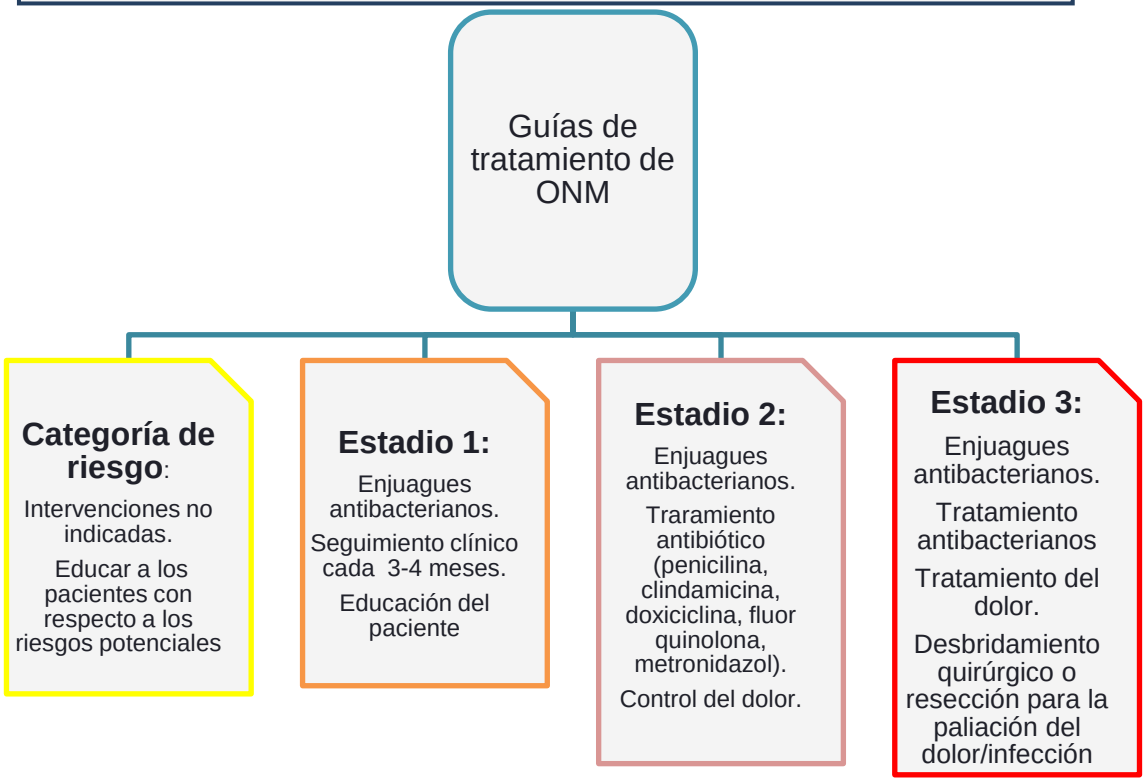
El tratamiento quirúrgico debe reservarse para aquellos pacientes que son sintomáticos, con regiones de hueso necrótico que son una fuente constante de infección y no son sensibles a la irrigación y la terapia antibiótica, y que por tanto son refractarios a estos tratamientos no quirúrgicos (**Marx2005) (Ruggiero 2004)**. En estos casos la remoción del hueso necrótico será los más conservativa posible y con el mínimo trauma para los tejidos, blandos y duros,

adyacentes (**Woo 2006**) (**Campisi2007**) (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**) (**Marx 2003**).

Se han propuesto diversas terapias alternativas en casos de exposición ósea o hueso necrótico, como el uso de láseres (**Campisi200**7), o el tratamiento con oxígeno hiperbárico, aunque esta técnica en si no ha demostrado tener mucha eficacia (**Boutsen 2008**) (**Bamias 2005**) (**Drake 2008**).

Dado que la cirugía no es efectiva, la cámara hiperbárica de oxígeno y la interrupción de los BFs son de poco o ningún beneficio el tratamiento debe estar dirigido a eliminar o controlar el dolor y la prevención de la progresión del hueso expuesto (**Marx 2005**) (**Lam 2007**). El hueso expuesto necrótico en sí no es doloroso y sigue siendo estructuralmente sólido para apoyar la función normal de la mandíbula. Sin embargo una vez infectado secundariamente sí puede haber dolor y puede conducir a la celulitis y la formación de fístulas. Las fracturas patológicas no suelen ocurrir a menos que el desbridamiento quirúrgico reduzca la integridad estructural de la mandíbula (**Marx 2005**). En general, es fundamental un enfoque multidisciplinario para lograr un resultado favorable en los pacientes con ONM. En la actualidad, no existe un tratamiento definitivo de la ONM por lo que la prevención es lo más importante (**Erkan 2008**).

Figura 6: *Resumen de las guías de tratamiento orientadas a los distintos estadios promulgados por la AAOMS para la ONM.*



Justificación y objetivos

2.1. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

Los bisfosfonatos están adquiriendo una relevancia terapéutica cada vez mayor, dada su utilidad en el manejo de diversas patologías. Paralelamente al incremento de su uso, se están documentando casos de necrosis ósea mandibular y maxilar, de difícil solución y con una importante afectación de la calidad de vida de los pacientes en tratamiento con estos fármacos, principalmente asociados al tratamiento con aminobisfosfonatos (pamidronato disódico y ácido zoledrónico).

Se han iniciado estudios observacionales con objeto de conocer la incidencia de la ONM en este tipo de pacientes y el papel que pueden tener en su aparición otros factores de riesgo como son el tratamiento con quimioterapia y radioterapia y/o corticosteroides, procesos neoplásicos, patologías concomitantes (problemas de coagulación, anemia, infecciones y patología bucal preexistente, entre otros) y otros factores asociados a la ONM.

Como consecuencia de estos datos de farmacovigilancia, se han actualizado las fichas técnicas y prospectos de pamidronato y ácido zoledrónico con objeto de incluir información de seguridad, así como recomendaciones específicas de prevención basadas en opiniones de expertos.

Debido a lo relativamente nueva que es esta entidad, a lo inexacto que es todavía el conocimiento de los mecanismos de producción de la misma, y a la falta de consenso global, se encuentran entre la bibliografía multitud de propuestas de tratamiento diferentes.

El factor que con mayor frecuencia desencadena el proceso es la actuación de los profesionales: odontólogos, estomatólogos y cirujanos orales y maxilofaciales. La previsión, las intervenciones atraumáticas y el tratamiento conservador, parecen ser los medios más adecuados para minimizar la incidencia o resolver las complicaciones.

Dada la actual escasez de información sobre la verdadera incidencia, factores de riesgo, y enfoque de estudio, tanto en la prevención y como el tratamiento de esta entidad; se hace necesaria la realización de estudios preclínicos básicos y con animales de experimentación, así como el diseño de ensayos clínicos. Por tanto son ineludibles este tipo de propuestas para identificar pacientes con mayor riesgo de desarrollo de osteonecrosis maxilar y comprender la asociación entre la terapia con bifosfonatos y la ONM.

Pero en la actualidad, son escasos los estudios experimentales de osteonecrosis maxilar que proporcionen información sobre el mecanismo de producción y la contribución de diversos factores, como puede ser la infección o la dosis acumulada en el desarrollo de la ONMB.

2.2. OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo pueden ser descritos en dos niveles; un objetivo general que determina el planteamiento global de la investigación y la hipótesis de trabajo, y unos objetivos específicos que articulan y ordenan los diversos aspectos del objetivo general.

- ***Objetivo general:***

El objetivo general de este trabajo fue estudiar mediante un modelo experimental, el riesgo de ONM en ratas Sprague-Dawley tratadas con Pamidronato Disódico y Dexametasona, o tratadas además con un antibiótico de amplio espectro.

El objetivo general ha sido desglosado en una serie de objetivos específicos que nos permiten sistematizar y responder a los diferentes aspectos que plantea nuestro estudio.

- ***Objetivos específicos:***

1. Valorar si el riesgo de ONM, en ratas tratadas con Pamidronato Disódico y Dexametasona a las que se les hacen exodoncias de molares, experimenta alguna variación tras la administración de un antibiótico preventivo.

2. Comparar como influye la administración de Bencilpenicilina Sódica sobre la localización de las ONMs, el tiempo de aparición de las mismas y la dosis farmacológica acumulada de Pamidronato Disódico y Dexametasona en animales de experimentación.

3. Establecer las posibles diferencias respecto a la extensión clínica, extensión radiológica y parámetros histologicos (vascularización e inflamación) de las ONMs en ratas tratadas con Pamidronato Disódico y Dexametasona, y animales a los que además se administra profilaxis antibiótica.

4. Comparar los cambios en los niveles de Calcio y Fosforo en la mandíbula y en la cabeza de fémur de ratas tratadas con Pamidronato Disódico y Dexametasona durante 7, 14 y 21 días.

Metodología

3.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Los animales de experimentación utilizados en este estudio fueron obtenidos del animalario del Servicio de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Murcia. Se emplearon un total de 130 ratas Sprague-Dawley hembras con un peso medio de 249,87 g (rango 210-382 g). El proyecto de investigación fue realizado entre Marzo de 2008 y Septiembre de 2009, tras haber sido aprobado por la comisión de Bioética de la Universidad de Murcia.

Antes de iniciar el estudio, se aclimató a los animales durante dos semanas mediante su manejo en jaulas de 5 animales cada una. Las condiciones ambientales se mantuvieron de forma constante a lo largo de todo el estudio, consistiendo en ciclos de 12 horas de luz y 12 de oscuridad a temperatura ambiente, con acceso *ad líbitum* al agua y comida comercial estándar para ratas y ratones para experimentación (Panlab®, Barcelona, España). Tras las exodoncias realizadas según el modelo experimental, la comida fue triturada mediante un triturador de alimento para animales de experimentación (Robot Coupe®, S.A, Bourgogne, Francia), consiguiendo así una dieta blanda (***Figura 7***).

Figura 7: *Triturador de alimento para animales de experimentación (Robot Coupe®, S.A, Bourgogne, Francia)*

Los animales fueron tratados siguiendo las normas de la Directiva Europea 86/609 y el Real Decreto 223/1988 del 14 de Marzo, sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos B.O.E Nº 68 de 18 de Marzo de 1988.

3.2. DISEÑO DEL ESTUDIO

Las sesiones quirúrgicas (exodoncias) fueron realizadas siempre por el mismo investigador con la colaboración de dos ayudantes, que ayudaron en la administración farmacológica, en el sacrificio y toma de muestras, debido a la complejidad del manejo de un número elevado de animales.

De las 130 ratas iniciales, 10 fueron sacrificadas tras un periodo de aclimatación para que sirvieran como valores normales control (sin la administración de ningún fármaco) de los niveles de Calcio y Fósforo en mandíbula y fémur.

Las 120 restantes fueron divididas aleatoriamente en dos grupos de 60 animales cada uno (**Grupo I** y **Grupo II**). Ambos grupos fueron divididos a su vez en tres subgrupos de 20 animales, en los que la administración farmacológica (Pamidronato Disódico y Dexametasona), previa a las exodoncias de molares, se realizó durante períodos de 7, 14 y 21 días.

En el **Grupo II** se administró además un antibiótico de amplio espectro 3 días antes de las exodoncias y 4 días después.

En ambos grupos los animales fueron sacrificados, en grupos homogéneos en número, a los 14 y 28 días después de las exodoncias de molares (***Figuras 8 y 9***).

Figura 8: *Algoritmo resumen del diseño experimental realizado sobre el Grupo I.*
Nota:, ***DX=*** *Dexametasona,* ***Mb=*** *Mandíbula,* ***Mx=*** *Maxilar,* ***PD=*** *Pamidronato Disódico,* ***TTº=*** *tratamiento.*

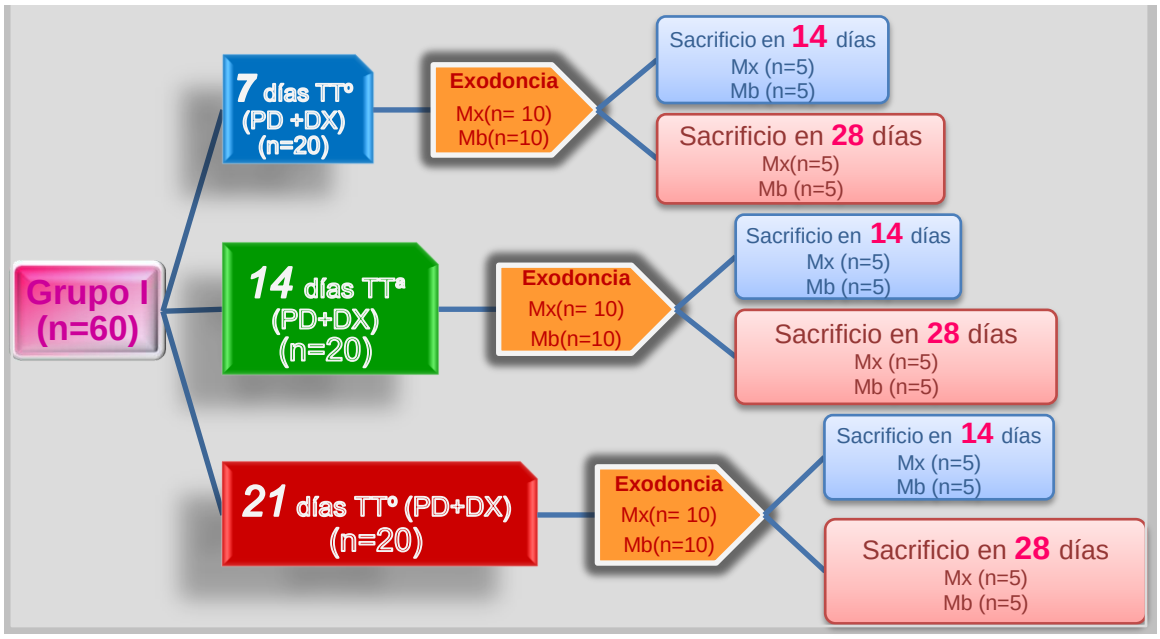
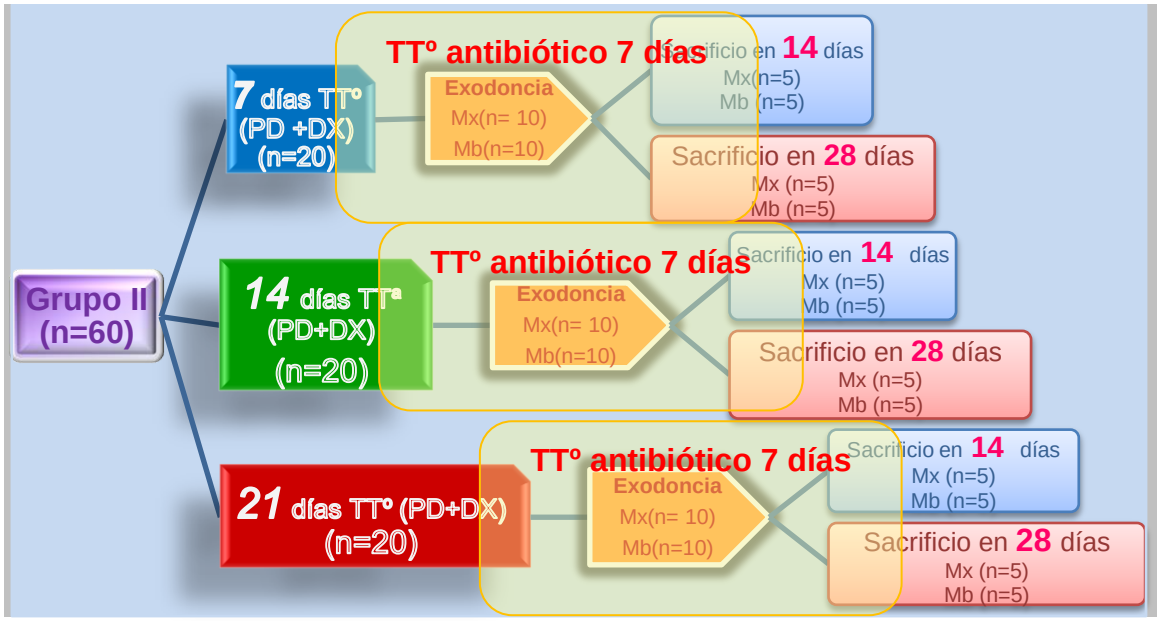


Figura 9: *Algoritmo resumen del diseño experimental realizado sobre el Grupo II.*
Nota:, ***DX=*** *Dexametasona,* ***Mb=*** *Mandíbula,* ***Mx=*** *Maxilar,* ***PD=*** *Pamidronato Disódico,* ***TTº=*** *tratamiento.*



3.3 FÁRMACOS UTILIZADOS

Figura 10: *Balanza de precisión para animales de laboratorio.*

Las dosis de fármacos fueron ajustadas diariamente al peso de cada animal de experimentación, que fue medido mediante una balanza de precisión para animales de laboratorio (Peso Mettler® PJ 15, Mettler Instrimente®, Greifensee-Zurich, Switzerland).

La vía de administración farmacológica fue siempre la intraperitoneal, ajustándonos diariamente a un rango horario para su administración que oscilaba entre las 9 y 12 a.m.

Pamidronato Disódico (Sigma-Aldrich Química S.A, Madrid, España)

La dosis diaria de Pamidronato Disódico fue de 3 mg/kg y corresponde a la dosis administrada en humanos para prevenir las metástasis óseas en el Mieloma Múltiple.

La dosis exacta en animales de experimentación de 250 g de peso fue de 0,75 mg (diluidos en un volumen de suero fisiológico de 0,2 ml).

Dexametasona (Fortecortin®, Laboratorios Merck, Darmstadt, Germany):

La dosis diaria de Dexametasona fue de 1 mg/Kg. La dosis exacta en animales de experimentación de 250 g de peso fue de 0,25 mg.

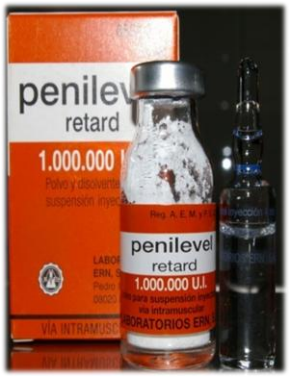
Figura 11: *Ampolla de Fortecortin® 4 mg.*

Cada ampolla de Fortecortin® 4 mg (*Laboratorios Merck, Darmstadt, Germany) contiene: Dexametasona 1 mg; Excipientes: Lactosa; almidón de maíz; talco;* estearato de magnesio. Cada ampolla de 1 ml contiene: Dexametasona fosfato (como sal sódica) 4 mg; Excipientes: citrato de sodio, creatinina, edetato de disodio, hidróxido de sodio 1 N, agua para preparaciones inyectables. Fortecortín contiene dexametasona, derivado fluorado de la 16 α-metilprednisolona, corticoide dotado de una actividad cinco veces superior a la de la prednisolona (***Figura 11***).

Bencilpenicilina sódica (Penilevel Retard® 1.000.000 U.I, Laboratorios ERN S.A, Barcelona, España)

La dosis diaria de Bencilpenicilina Sódica fue de 0,1 ml/kg y corresponde a la dosis indicada en humanos para conseguir concentraciones séricas bactericidas durante 6 horas e inhibitorias hasta las 24 horas.

Figura 12: *Ampolla de Penilevel Retard® 1.000.000 U.I.*



La dosis exacta en animales de experimentación de 250 g de peso fue de 0,025 ml.

Cada ampolla de Penilevel Retard® 1.000.000 UI (Laboratorios ERN S.A, Barcelona, España) contiene: 600.000 U.I., Fenoximetilpenicilina cálcica 200.000 U.I., Bencilpenicilina benzatina 200.000 U.I. (***Figura 12***).

Dosis Farmacológicas acumuladas

Tabla 8: *Dosis farmacológicas acumuladas en el **Grupo I.***

GRUPO I			
Fármacos	**7 días**	**14 días**	**21 días**
Pamidro	5,25 mg	10,5 mg	15,75 mg

natoDisódicoDexametasona	1, 75mg	3, 5mg	5, 25mg

Tabla 9: *Dosis farmacológicas acumuladas en el* ***Grupo II****.*

GRUPO II			
Fármacos	**7 días**	**14 días**	**21 días**
Pamidronato Disódico	5,25 mg	10,5 mg	15,75mg
Dexametasona	1, 75mg	3,5 mg	5, 25mg
Bencilpenicilina	0,175mg		

3.4. EXODONCIAS DE MOLARES

Figura 13: *Hemiarcada maxilar derecha previa a al exodoncia.*

Figura 14: *Hemiarcada maxilar derecha postexodoncia.*

Una vez finalizado el periodo de administración farmacológica, y conseguidas las dosis acumuladas reflejadas en las ***Tablas 9*** y ***10***, procedimos a realizar las exodoncias de los molares derechos en cada animal de experimentación (***Figuras 13 -16***).

Figura 15: *Hemiarcada mandibular derecha previa a la exodoncia.*

Figura 16: *Hemiarcada mandibular derecha postexodoncia.*

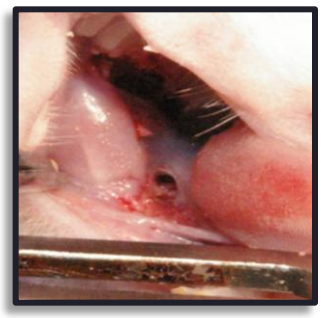
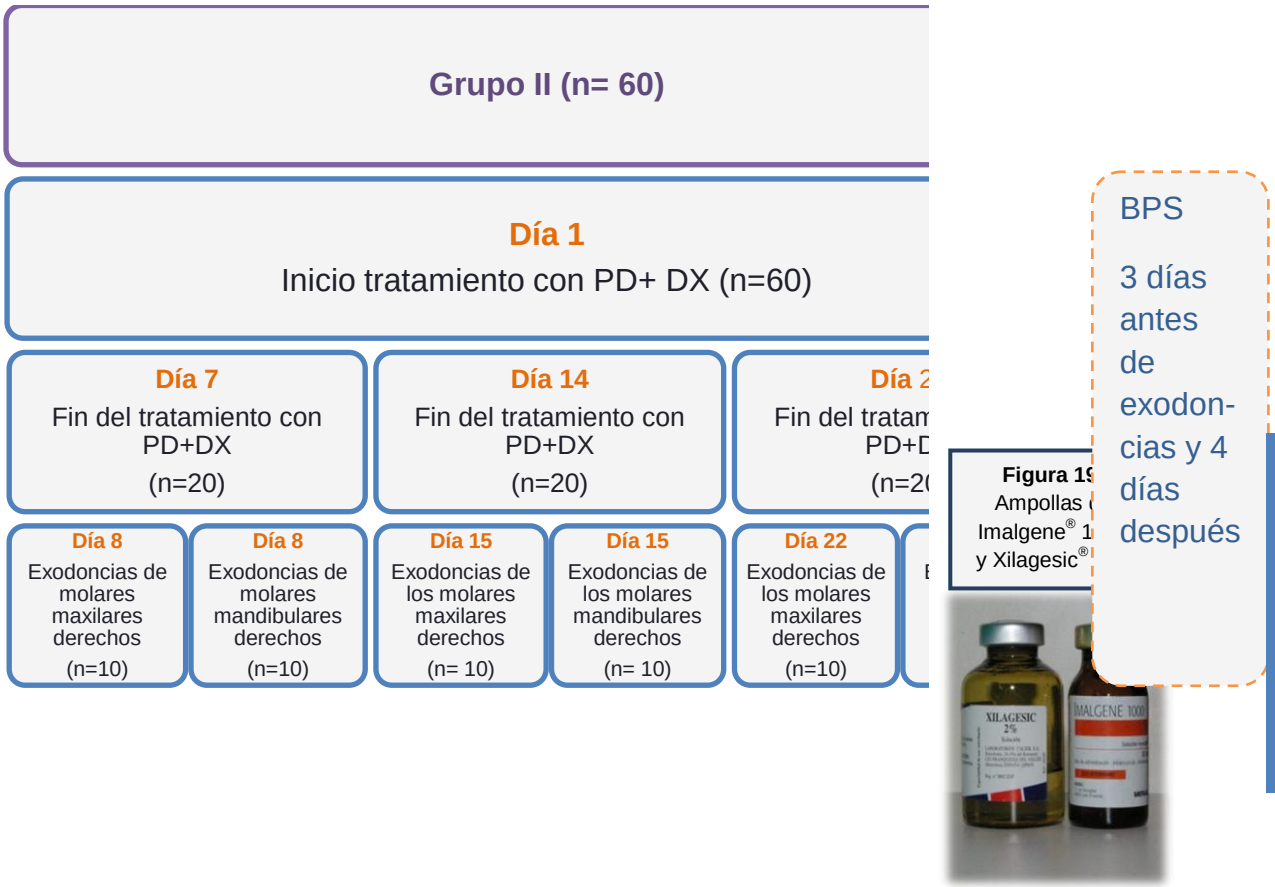


Figura 17: *Secuencia y número de exodoncias en el* ***Grupo I****.*
Nota: ***PD=*** *Pamidronato Disódico,* ***Dx=*** *Dexametasona.*

Todas las exodoncias fueron realizadas el día posterior a la finalización del tratamiento farmacológico, es decir, a los 8, 15 y 22 días, respectivamente desde el inicio del mismo.

La secuencia y número de exodoncias realizadas aparece reflejada en la ***figura 17 y 18***.

Figura 18: *Secuencia y número de exodoncias en el* ***Grupo II****. Nota:* ***PD=*** *Pamidronato Disódico,* ***Dx=*** *Dexametasona.*



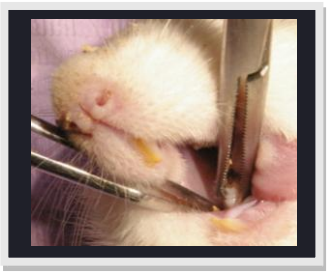
Para realizar las exodoncias, los animales fueron previamente anestesiados mediante una mezcla de Ketamina (Imalgene® 1000, Laboratorios Merial S.A, Lyon, Francia) y Xilacina (Xilagesic® 2%, Laboratorios Calier S.A, Barcelona, España) al 50% administrada por vía intraperitoneal en dosis de 0,1ml/100g:

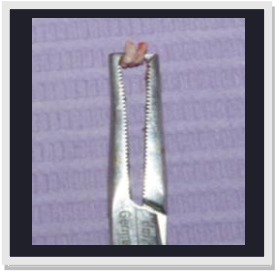
- ***Imalgene® 1000 inyectable*** (Laboratorios Merial S.A, Lyon, Francia): en frascos de 10 ml de excipientes c.s.p. Hipnótico de acción rápida y potente analgésico, de escasa acción como relajante muscular. No causa depresión respiratoria ni tiene efectos acumulativos, consiguiendo una acción anestésica suficiente para la cirugía a los 15- 20 minutos.
- ***Xilagesic® al 2% inyectable*** (Laboratorios Calier S.A, Barcelona, España): en frascos de 25 ml que contienen 20 mg de xilacina en solución y 1 ml de excipientes c.s.p. Sedante con acción analgésica y relajante muscular. Está indicado para producir un estado de sedación acompañado de un periodo corto de analgesia (***Figura 19***).

Figura 20: *Luxación y remoción de los molares de la hemiarcada mandibular derecha.*

Tras anestesiar a los animales de experimentación, fueron colocados en posición supina para proceder a las exodoncias. Cada una de las ratas recibió un suplemento de anestesia local mediante infiltración de 0,1 ml de **Clorhidrato de Lidocaina** al 2% con 1:100000 de Epinefrina (Ultracain®, Laboratorios Normon S.A, Madrid, España) para potenciar el efecto anestésico y conseguir una acción hemostática local.

Los molares fueron luxados y removidos mediante pinzas mosquito rectas dentadas (Hu-Friedy®, Chicago, USA) (***Figura 20***). Finalmente, las heridas fueron suturadas mediante sutura reabsorbible de 5/0 (Lorca Marín® S.A, Murcia, España).





Finalmente, para el manejo del dolor postoperatorio se administró a cada animal 0,15 mg/Kg de Buprenorfina (Tamgesic® 0,3 g/L, Schering-Plough, Levallois-Perret, Francia) de forma subcutánea, cada 12 horas durante las primeras 72 horas.

3.5. SACRIFICIO DE LOS ANIMALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS

Los animales fueron sacrificados mediante la inhalación de CO_2, introduciendo a los mismos en una campana de CO_2 y activando el gas durante

1 minuto a 2-3 atmósferas; una vez desactivado dicho gas los animales permanecieron en la campana, completamente sellada, durante 2-3 minutos más.

Una vez sacrificado el animal, procedimos a la maxilectomía (**Figura 21**) o mandibulectomía (**Figura 22**) (en función de la localización de las exodoncias de molares) y a la obtención del fémur derecho de cada animal (**Figura 23**).

Figura 24): *Algoritmo resumen de la secuencia de sacrificios y el número total de muestras obtenidas en el* ***Grupo I.***

Todas las muestras fueron inmediatamente fijadas en formolaldehído al 10% e individualizadas en recipientes estériles previamente enumerados y cuya codificación numérica fue registrada en la libreta de laboratorio.

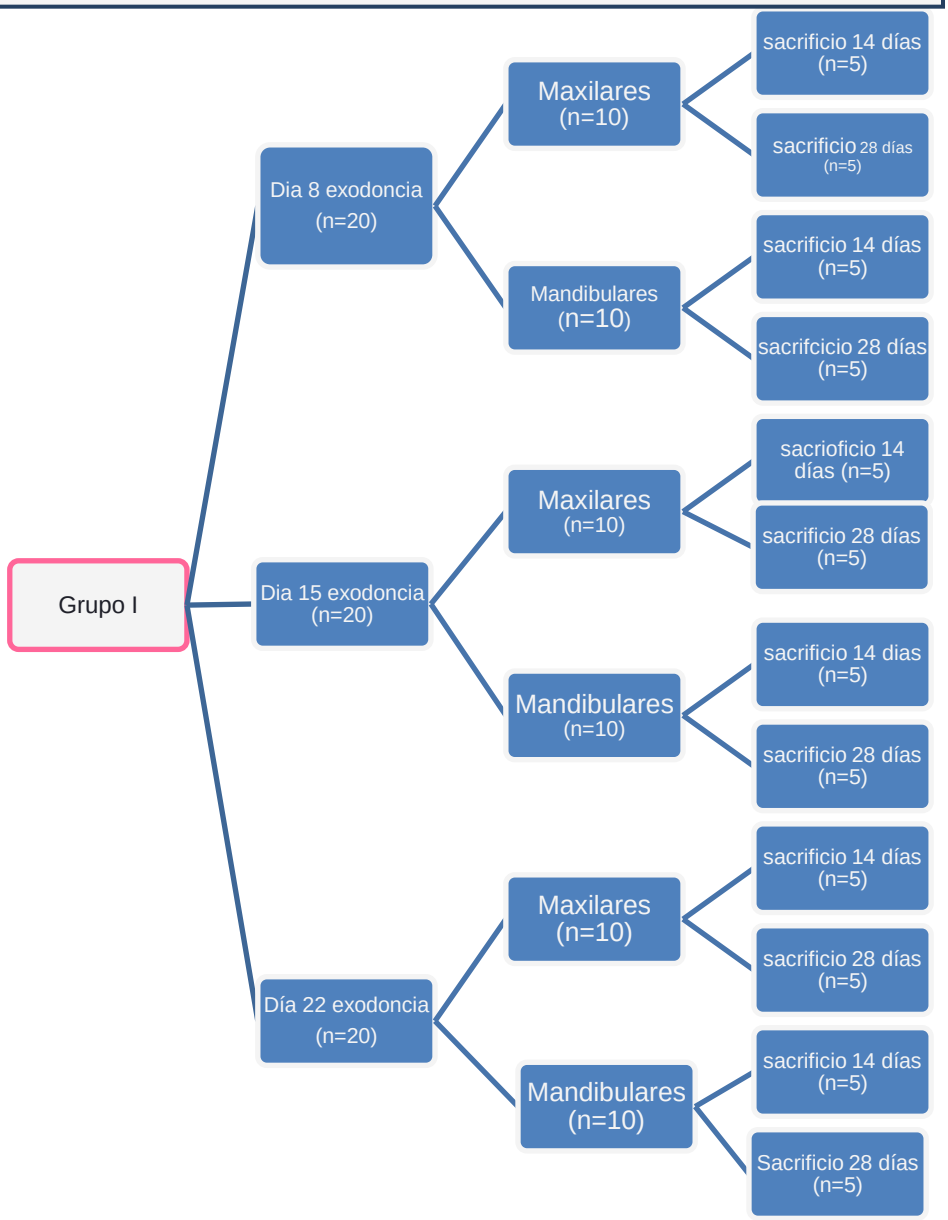
La secuencia de sacrificios y el número total de muestras de maxilares, mandíbulas y de fémures obtenidos aparece reflejada en las ***figuras 24 y 25***.

Figura 21: *Resección del maxilar superior.*

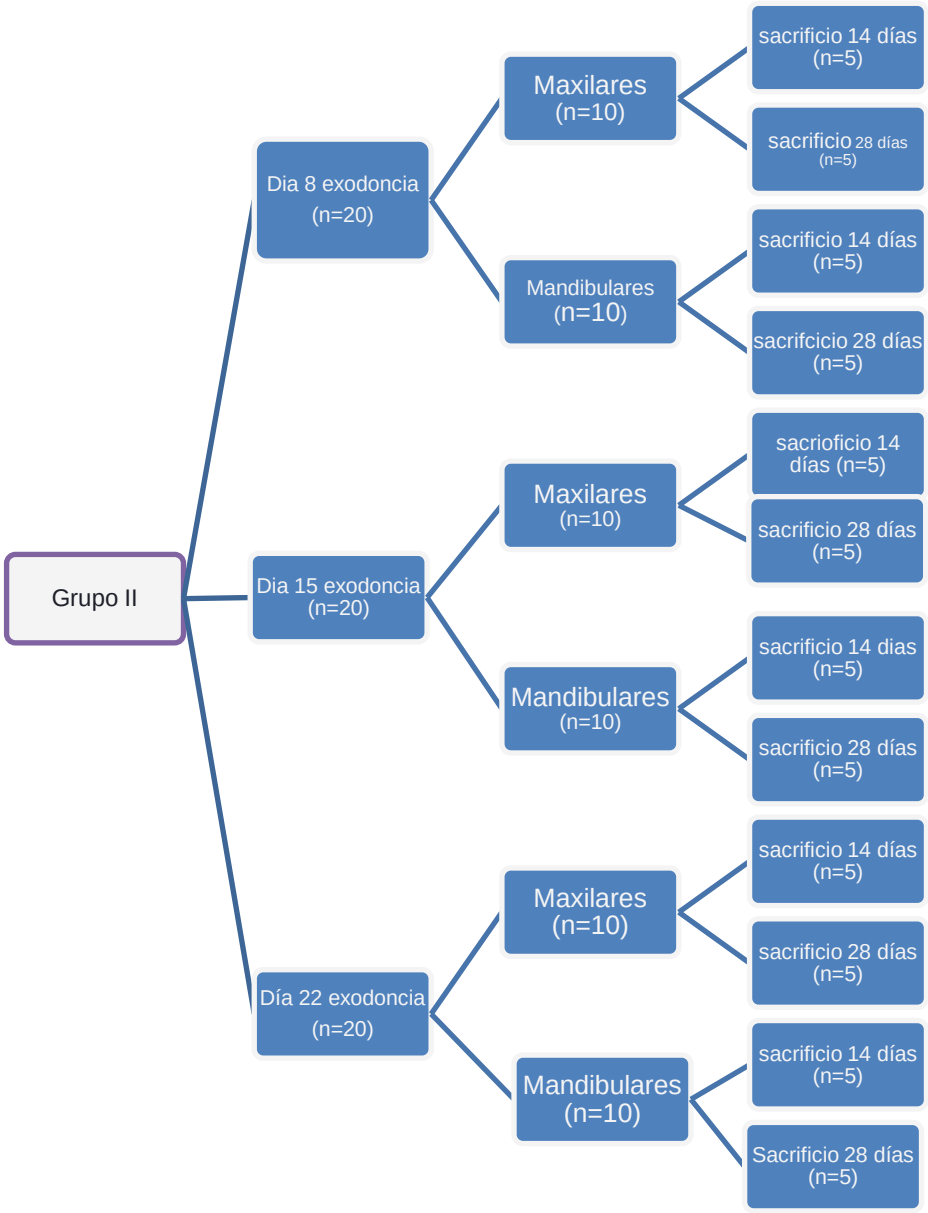
Figura 22: *Resección de la mandíbula.*

Figura 23: *Resección del Fémur derecho.*

Figura 25: *Algoritmo resumen de la secuencia de sacrificios y el número total de muestras obtenidas en el* ***Grupo II.***



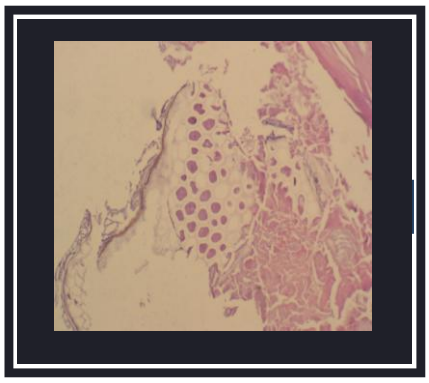
BPS 3 días antes de exodoncias y 4 días después .



Finalmente, en el día posterior al sacrificio de cada uno de los animales se realizaron los cortes de los maxilares y mandíbulas obteniendo la porción alveolar de la hemiarcada derecha (correspondiente a la zona de las exodoncias de molares). De igual modo, para el estudio de los niveles de Ca y P en mandíbula y fémur, se obtuvo una sección sagital del cuerpo mandibular,

posterior a la zona alveolar y procedimos a la obtención de la cabeza del fémur. Todas las secciones óseas fueron obtenidas mediante una fresa de disco (Komet®, Brasseler Group, Lemgo, Alemania) para pieza de mano.

Los cortes óseos de maxilar y mandíbula fueron descalcificados durante 7 días en ácido hipoclorhídrico al 10% y formaldehido al 4% (Osteomol®, Laboratorios Merck, Darmstadt, Alemania). Posteriormente, las muestras fueron incluidas en parafina por el método habitual y seccionadas por el plano perpendicular a los alveolos, obteniendo bloques de entre 5 y 7 µm de grosor. Las secciones histológicas fueron teñidas con hematoxilina-eosina (***Figura 26***) y Tricómico de Masson (***Figura 27***). El examen histopatológico fue realizado por el mismo observador, previamente entrenado y que realizó el estudio de forma cegada.



3.6. DIAGNOSTICO CLÍNICO PATOLÓGICO DE LA ONM

La confirmación de ONM en los animales de nuestra muestra, se realizó mediante un diagnóstico clínico-patológico, en el que debían confirmarse simultáneamente los siguientes criterios clínicos e histopatológicos:

Criterios clínicos:

Lesiones clínicas similares a las de osteoradionecrosis (**Estilo 2008**) en las que el alveolo postexodoncia no había cicatrizado o presentaba una exposición ósea, con progresión a la formación de un secuestro óseo asociado o no a inflamación y/ descarga purulenta (**Ruggiero 2004**) (***Figura 28***).

Criterios

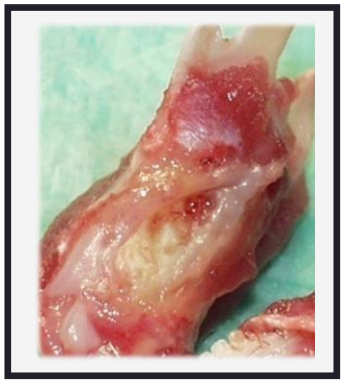


Figura 28: *Mandíbula de rata tratada durante 14 días con PD+DX, además de BPS y sacrificada a los 14 días. Presenta una lesión caracterizada por una base de hueso expuesto, de color blanco amarillento, con bordes de tejido blando editematosos y un poco de eritema.*

histopatológicos:

Presencia de hueso necrótico con o sin secuestro óseo y un marcado infiltrado inflamatorio mixto. Cantidades variables de osteoclastos, típicamente en los alrededores de los espacios medulares (**Ruggiero 2005**). Trabeculación ósea relativamente normal aunque irregular, con áreas radiolúcidas difusas que indicaban una curación de hueso incompleta en el área de las exodoncias de molares (**Estilo 2008**) (**Ruggiero 2005**) (***Figura 29***).

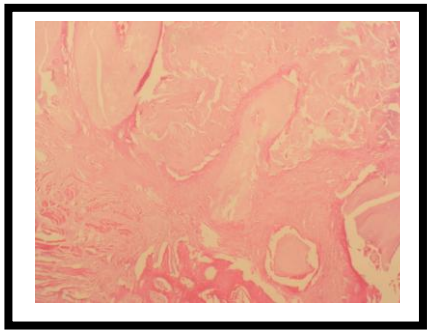


Figura 29: *Secuestro de hueso necrótico rodeado de un infiltrado inflamatorio consistente en granulocitos neutrofilos y frecuentemente linfocitos y células plasmáticas.*

3.7. MEDICIÓN DE LA EXTENSIÓN RADIOLÓGICA DE LAS ONMs

Una vez obtenidas las muestras de la porción alveolar de la hemiarcada derecha (correspondiente a la zona de las exodoncias de molares) de los maxilares y mandíbulas, y antes de su procesado para el estudio histopatológico, se procedió a realizar el estudio radiológico.

Para el estudio radiológico se utilizó un equipo de radiología intraoral Elitys® (Trophy Dental, Texas, USA) con un captador digital mediante el sistema RVG 6000 (Kodak Dental System, Madrid, España). Las imágenes obtenidas fueron procesadas mediante un ordenador convencional Pentium IV de 80 Gb de disco duro, a través del software Trophy Windows 5.06 para Windows (Trophy Dental, Texas, USA).

Con el objetivo de obtener imágenes radiológicas homogéneas, se realizaron siempre a 60 Kvp, 7 mA y 0,05 s de exposición. Para que el haz de rayos incidiera de forma homogénea en todas las muestras, se diseñó un soporte para el capatador digital de imagen, con silicona de adición (Normosil® condensación, Laboratorios Normon S.A, Madrid, España) (***Figura 30 y 31***) y se mantuvo constante una distancia foco-captador de 20 cm (***Figuras 32***).

Figura 30: *Captador digital de imagen.*

Figura 31: *Soporte para captador de imagen.*

Figura 32: *Equipo de radiología* intraoral.

Figura 33: *Radiografía de maxilar.*

Figura 34: *Radiografía de mandíbula.*

Estudio morfométrico de las radiografías digitales:

El estudio se llevó a cabo en el Servicio de Análisis de Imagen (SAI) de la Universidad de Murcia, sobre las radiografías digitales de las muestras de maxilares y mandíbulas.

El objetivo de este estudio fue determinar la extensión radiológica exacta de las ONMs, mediante la medición del área de la misma en mm^2.

Para ello se utilizó el siguiente equipo de morfometría digital (***Figura 35***):

- Ordenador de control con monitor color y tarjeta digitalizadora.
- Programa de captación de imágenes MIP4® advances v.5.01.02 (Digital Image System S.L, Barcelona, España).

Figura 35: *Equipo de morfometría digital.*

La obtención del área radiolúcida en la radiografía digital (RAR) (extensión radiológica de cada ONM) se obtuvo siguiendo los siguientes cinco pasos:

1. Delimitación digital de la imagen radiolúcida (***Figura 36***).
2. Captura de la imagen radiolúcida (***Figura 37***).
3. Determinación del área en mm^2 (***Figuras 38 y 39***).

Figura 36: *Proceso de análisis informático con el programa MIP4® advances v.5.01.02. cálculo del área a través de la imagen digitalizada de la radiografía. Delimitación de la imagen radiolúcida.*

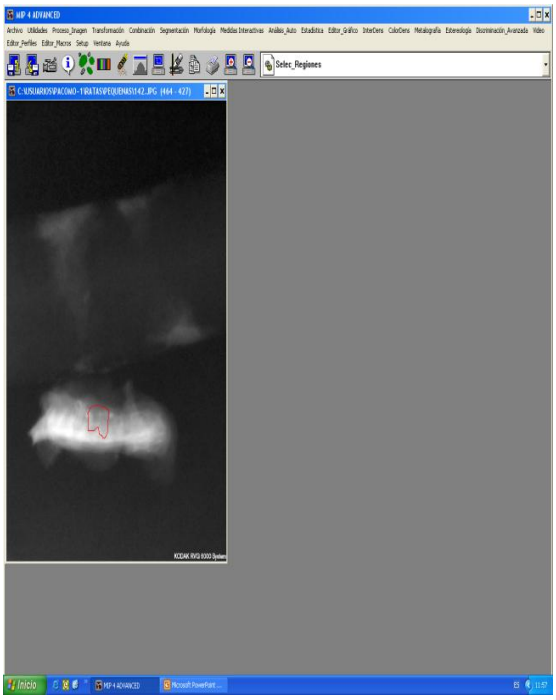


Figura 37: *Captura de la imagen radiolúcida.*

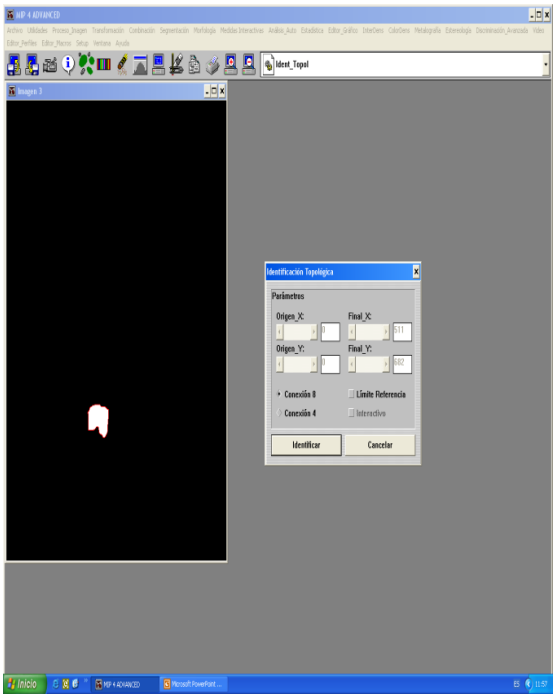


Figura 38: Determinación del área en mm^2.

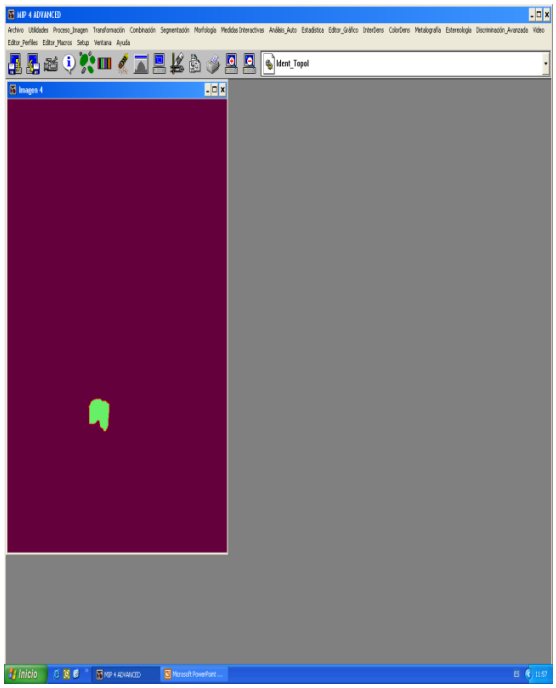
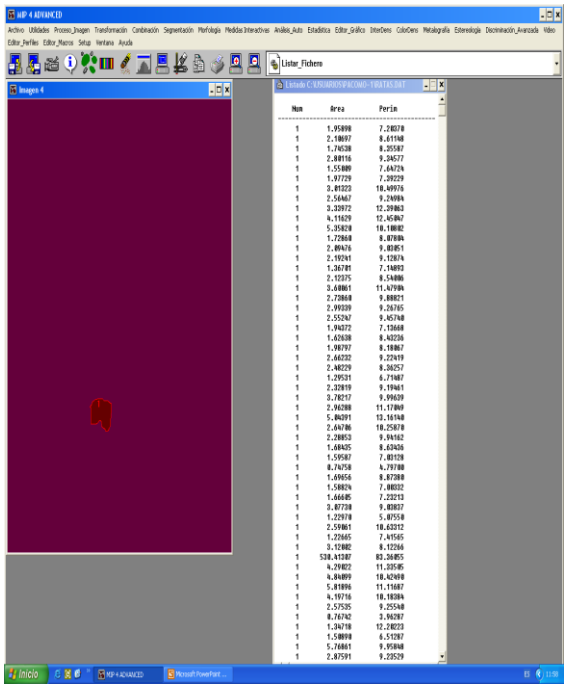


Figura 39: Determinación del área en mm^2.



3.8 VALORACIÓN DE LA EXTENSIÓN CLÍNICA DE LAS ONMs

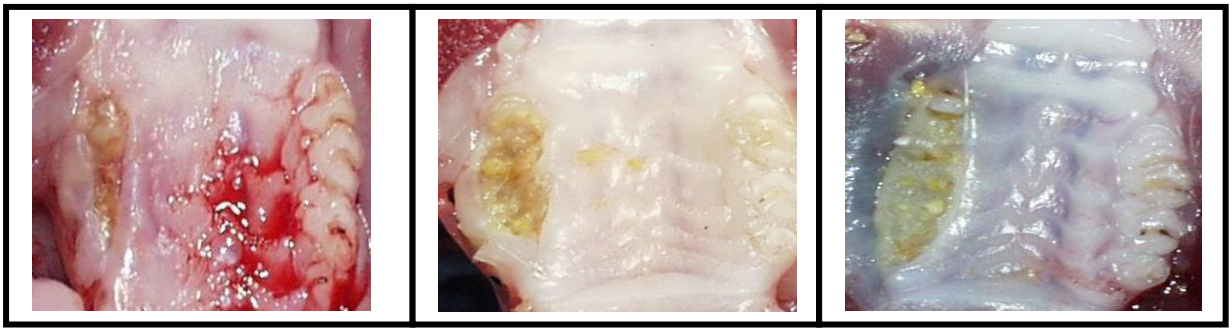
La extensión clínica de las ONMs fue clasificada en función del tamaño de ulceración de la mucosa oral y exposición de hueso, en tres grupos (Figuras 31-33):

1. < 3 mm.
2. 3-5 mm.
3. >5 mm.

Figura 40: *ON clínica <3mm.*

Figura 41: *ON clínica 3-5mm.*

Figura 42: *ON clínica >5mm.*

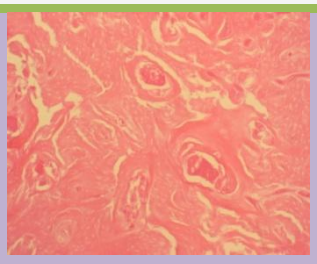
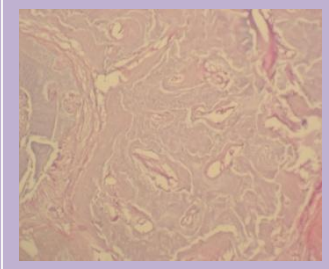
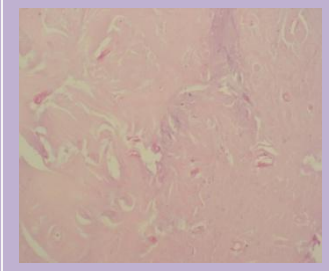
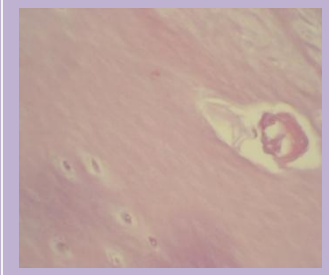


3.9 ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LA VASCULARIZACIÓN E INFLAMACIÓN EN LAS ONMs

Vascularización

Para cuantificar la vascularización de las muestras teñidas con hematoxilina-heosina que presentaban ONM, se utilizó un sistema de puntuación tipo Liker de 0 a 4, cuyo incremento en la escala indicaba un aumento de la intensidad de vasos sanguíneos (***Figura 43***).

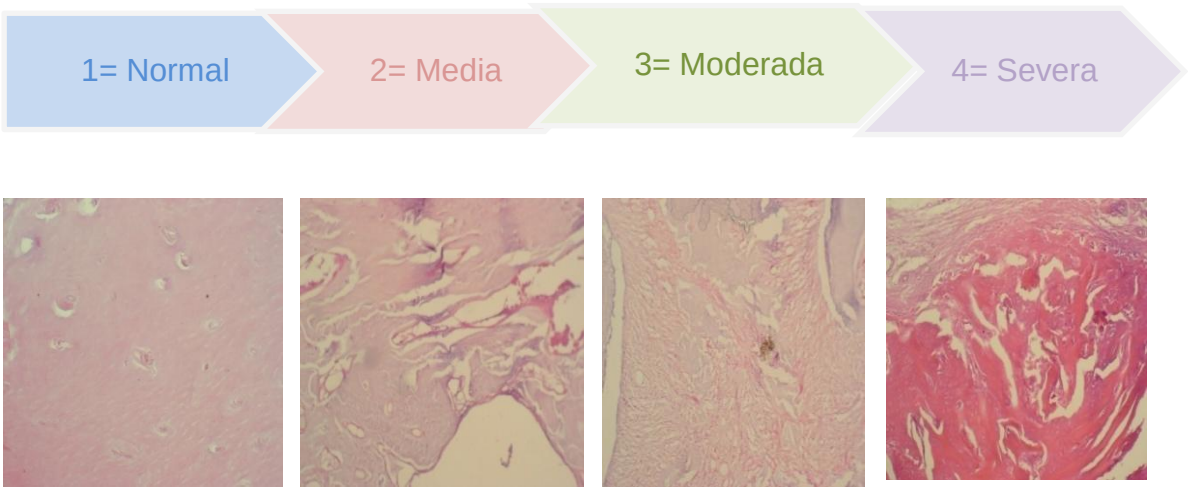
Figura 43: *Imágenes histológicas teñidas con hematoxilina-eosina, coincidentes con el grado de vascularidad.*

	Vascularidad	
	4= Incremento Severo	
	3= Incremento moderado	
	2= Leve incremento	
	1= Normal	
	0 = Reducida	

Inflamación

De igual modo, la intensidad del infiltrado inflamatorio presente en las ONMs, fue medido mediante una escala liker de 1 a 4 (***Figura 44***).

Figura 44: *Imágenes histológicas teñidas con hematoxilina-eosina coincidentes con el grado de inflamación.*

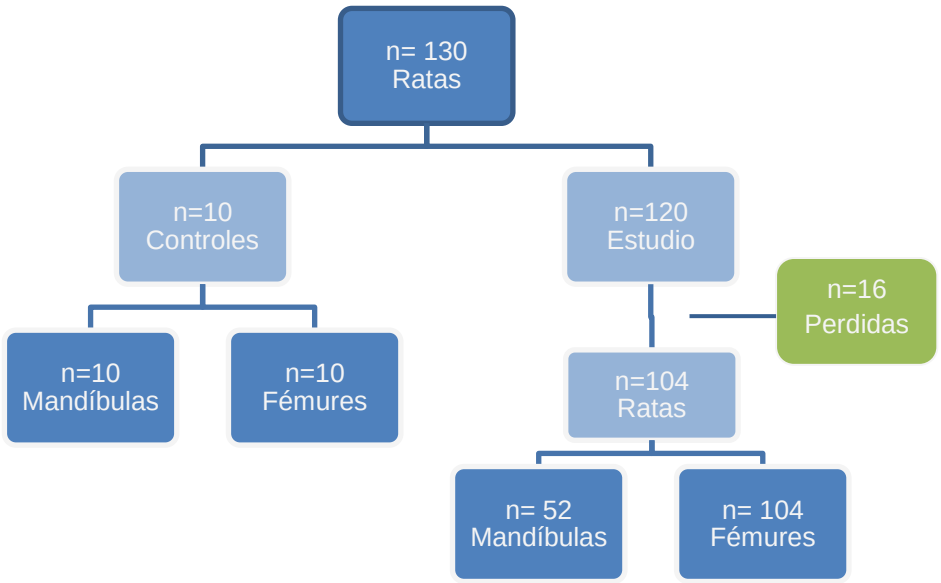


3.10 ESTUDIO DE LOS NIVELES DE Ca Y P EN MANDÍBULA Y CABEZA DE FÉMUR

Tal y como se describió en el apartado 3.5 de la metodología (sacrificio de los animales para la toma de muestras), las secciones sagitales correspondientes a la región posterior de la zona alveolar del cuerpo mandibular y los cortes transversales de la cabeza del fémur, no fueron descalcificados con el objetivo de medir los niveles de Ca y P mediante un sistema de microanálisis de elementos.

El número total de muestras de mandíbula y fémur en las que fueron medidos los niveles de Ca y P aparecen reflejadas en la ***figura 45***.

Figura 45: *Algoritmo resumen del número total de muestras en las que se midieron los niveles de Ca y P.*



Microanálisis de elementos:

El microanálisis de elementos fue realizado en el Servicio de Microscopia de la Universidad de Murcia (perteneciente al Servicio de Apoyo a la Investigación).

La cuantificación de los niveles de Ca y P fueron obtenidos siguiendo los siguientes cinco pasos:

1. Las muestras fueron embebidas en un gel de ácido fosfórico al 37% (Dentaflux®, Algete, Madrid) durante 15 segundos (***Figura 46***) y posteriormente fueron lavadas con abundante agua para retirar cualquier resto del ácido.

2. Montaje de las muestras en platinas para microscopio electrónico de barrido, en las que recibían un baño de Carbono (***Figura 47***).

3. Visualización de las muestras en el Microscopio Electrónico de Barrido con electrones secundarios (MEB) o retrodispersados (backscattered) (MEB-ES) Jeol® JSM-6100 (Scaning electron microscopes, Tokio, Japón) (***Figura 48***). Todas las muestras fueron estudiadas a 500 µm de aumento.

4. Digitalización de imágenes y medición de los niveles de Ca y P mediante el software Inca Microanalysis Systems® (Oxford Instrument S.A, Madrid, España) (***Figura 49***)

Figura 46: *Muestra embebida en un gel de ácido fosfórico al 37%.*

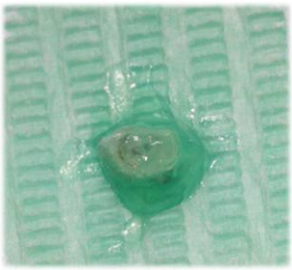
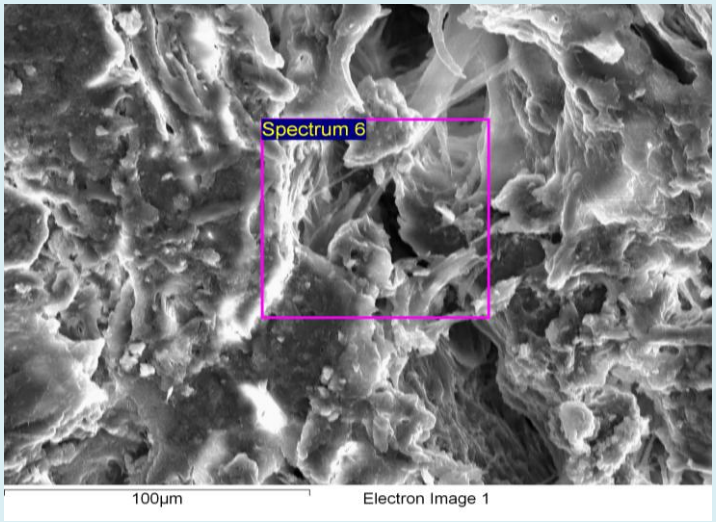
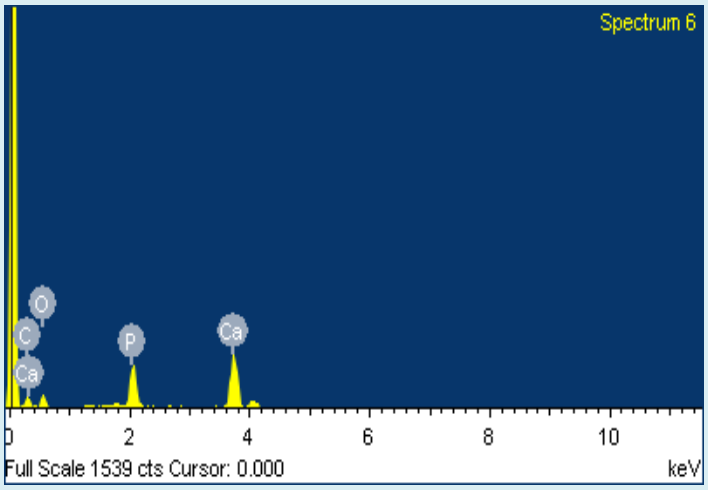


Figura 47: *Platina de montaje para el microscopio con muestras de maxilar y mandíbula de rata bañadas en carbono.*

Figura 48: *Microscopio electrónico de barrido.*

Figura 49: *Digitalización de imagen y análisis de microeloementos.*





Spectrum processing :
No peaks omitted

Processing option : All elements analyzed (Normalised)
Number of iterations = 5

Standard :
C CaCO3 1-jun-1999 12:00 AM
O SiO2 1-jun-1999 12:00 AM
P GaP 1-jun-1999 12:00 AM
Ca Wollastonite 1-jun-1999 12:00 AM

Element	Weight%	Atomic%
C K	43.51	58.59
O K	28.68	28.99
P K	10.08	5.26
Ca K	17.74	7.16
Totals	100.00	

3.11 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Analizamos los datos estadísticos con el paquete de software SPSS® versión 12.0 (SPSS® Inc, Chicago, IL, USA) para Windows, en el cual hemos efectuado los siguientes procedimientos estadísticos:

Estadística descriptiva:

En primer lugar, para el análisis descriptivo de la distribución general de la muestra, así como para el análisis de cada una de las variables (tanto en conjunto como para cada uno de los subgrupos); se han hallado valores tales como: media, mediana y los valores máximos y mínimos (rango).

Estadística inferencial:

En segundo lugar, para el análisis comparativo de las variables se consideró que la hipótesis nula (existencia de una relación de independencia entre las variables), se debería rechazar (cuando esta se rechaza, se considera que la relación entre las variables es de dependencia), cuando la probabilidad mínima de rechazo (el llamado "p-valor") no sea superior al nivel crítico estándar de 0.05. Para ello, se han realizado los siguientes contrastes:

1°. Estudio de las asociaciones entre las variables cualitativas:

- El estudio de las asociaciones entre las variables cualitativas, se llevó a cabo mediante la elaboración de tablas de contingencia; utilizando la prueba de χ^2 de Pearson para establecer los contrastes de hipótesis (ya que este tipo de χ^2 es la recomendada para tablas de contingencia con cualquier número de filas y columnas).

2º. Estudio de las asociaciones entre las variables cuantitativas continuas:

- Comprobamos la normalidad en la distribución de la muestra mediante el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y el test de homogeneidad de la varianza de Levene, y los datos no mostraron una distribución normal por lo que fueron analizados mediante test no paramétricos. El test no paramétrico utilizado para comparar dos muestras independientes fue el test U de Mann-Whitney.

Resultados

Nuestra muestra estaba formada por 130 ratas Sprague-Dawley hembras adultas, con un peso medio de 249,87 g (rango 210-382 g). Diez animales fueron sacrificados tras un corto periodo de aclimatación para que sirvieran como valores normales control (sin la administración de ningún fármaco) de los niveles de Calcio y Fósforo en mandíbula y fémur.

Las 120 restantes fueron divididas aleatoriamente en dos grupos de 60 animales cada uno, con un peso medio de 241,37 g (rango 210-357 g) en el **Grupo I** y de 257,28 g (rango 243-382 g) en el **Grupo II**.

Ambos grupos fueron divididos a su vez en tres subgrupos de 20 animales cada uno en los que la administración farmacológica (Pamidronato Disódico y Dexametasona) previa a las exodoncias de molares, se realizó durante períodos de 7, 14 y 21 días.

En el **Grupo II** se administró además Bencilpenicilina Sódica 3 días antes de las exodoncias y 4 días después.

En ambos grupos los animales fueron sacrificados en grupos homogéneos en número a los 14 y 28 días después de las exodoncias de molares.

Durante el desarrollo del estudio se produjo la pérdida de 16 animales, 8 de ellos pertenecientes al **Grupo I** y 8 al **Grupo II** (***Tabla 10***).

Tabla 10: *Distribución por grupos de estudio de los animales que murieron durante el desarrollo del estudio.*

Días de tratamiento	Grupo I (DX + PD)	Grupo II (DX + PD + BPS)
7 días	5	0
14 días	1	6
21 días	2	2
Total	8	8

Nota: ***BPS*** **=** *Bencilpenicilina Sódica*; ***DX*** = *Dexametasona*; ***PD*** **=** *Pamidronato Disódico.*

Finalmente, ambos grupos de estudio estaban compuestos por 52 animales cada uno (***Tabla 11***).

Tabla 11: *Muestra final sobre la que se estudió el riesgo de ONM.*

Días de tratamiento	Grupo I (DX + PD)	Grupo II (DX + PD + BPS)
7 días	15	20
14 días	19	14
21 días	18	18
Total	52	52

Nota: ***BPS*** **=** *Bencilpenicilina Sódica***;** ***DX*** *= Dexametasona***;** ***PD*** **=** *Pamidronato Disódico.*

De las 104 ratas Sprague-Dawley que componían finalmente la muestra total sobre la que se valoró el riesgo de ONM por Bisfosfonatos, fueron diagnosticadas clínico-patológicamente un total de 23 ONMs, es decir, un 22,11% del total de la muestra.

Al comparar la incidencia de ONMs por Bisfosfonatos en cada uno de los grupos de estudio observamos que la presencia de ONM fue mucho más frecuente en el **Grupo I** (34,61%) que en el **Grupo II** (9,61%), con diferencias estadísticamente significativas (***Tabla 12***).

Tabla 12: *Comparación de la incidencia de ONM por Bisfosfonatos en los dos grupos de estudio (Test χ^2 de Pearson).*

	Grupo I (DX + PD) n (%)	Grupo II (DX + PD + BPS) n (%)	*p-valor*
ONMs	**18 (34,61%)**	**5 (9,61%)**	**0,002**

Nota: ***DX*** **=** *Dexametasona;* ***PD*** **=** *Pamidronato Disódico;* ***BPS*** **=** *Bencilpenicilina Sódica*

La descripción de las ONMs diagnosticadas en el **Grupo I**, respecto a la dosis farmacológica acumulada (días de tratamiento), localización, tiempo de aparición transcurrido desde las exodoncias de molares, así como la extensión radiológica y clínica y las características histopatológicas de vascularización e inflamación aparecen reflejadas en la ***Tabla 13*.**

Respecto a los días de tratamiento (dosis farmacológica acumulada), 5 ONMs aparecieron a los 7 días de tratamiento (1,75 mg de DX y 5,25 mg de PD), 6 a los 14 días (3,5 mg de DX y 10,5 mg de PD) y 7 a los 21 días de tratamiento (5,25 mg de DX y 15,75 mg de PD).

De las 18 ONMs diagnosticadas en el **Grupo I**, 10 aparecieron en maxilar superior y 8 en mandíbula, diagnosticándose 11 de ellas a los 14 días de realizar las exodoncias de los molares y 7 a los 28 días posexodoncia.

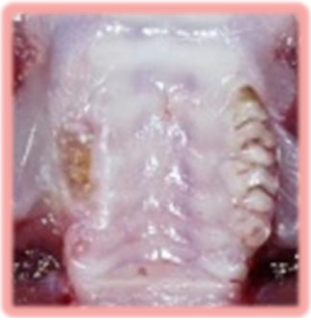
Tabla 13: *Descripción de las 18 ONMs por Bisfosfonatos diagnosticadas clínico-patológicamente en el* ***Grupo I.***

Caso	Días de TTº DX + PD	Localización	Sacrificio posexodoncia	RAR* (mm^2)	Extensión Clínica (mm)	Vascularidad**	Inflamación***
1	7días	Maxilar	14 días	1,22	<3	0	1
2	7días	Maxilar	14 días	3,12	>5	0	3
3	7días	Mandíbula	14 días	4,19	3-5	0	3
4	7días	Mandíbula	28 días	2,99	<3	0	2
5	7días	Mandíbula	28 días	13,92	>5	0	1
6	14 días	Maxilar	14 días	1,34	<3	0	1
7	14 días	Maxilar	14 días	5,76	3-5	0	3
8	14 días	Mandíbula	14 días	4,73	3-5	0	1
9	14 días	Maxilar	28 días	1,17	<3	0	2
10	14 días	Maxilar	28 días	2,05	3-5	0	4
11	14 días	Mandíbula	28 días	3,25	<3	0	2
12	21 días	Maxilar	14 días	2,93	>5	0	3
13	21 días	Maxilar	14 días	2,30	<3	0	2
14	21 días	Maxilar	14 días	2,42	3-5	0	2
15	21 días	Mandíbula	14 días	2,95	>5	0	3
16	21 días	Mandíbula	14 días	2,15	3-5	0	3
17	21 días	Maxilar	28 días	3,52	<3	0	3
18	21 días	Mandíbula	28 días	2,95	3-5	0	3

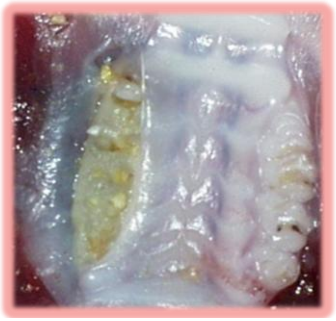
* **RAR** = Área Radiolúcida en Radiografía; ** **Vascularidad** = 0: reducida, 1: normal, 2: increment leva, 3: incremento moderado, 4: gran incremento; *** **Inflamación** = 1: normal, 2: leve, 3: moderada, 4: severa.
Nota: **DX=** Dexametasona, **PD=**Pamidronato Disodico, **TTº=** Tratamiento

En la ***Figura 50*** observamos las imágenes clínicas de las 18 ONMs por Bisfosfonatos que fueron diagnosticadas clínico-patológicamente en el **Grupo I**. Debemos destacar la presencia en el caso nº 5 (***Figura 50***) de una fístula extraoral submandibular con drenaje de contenido purulento (***Figura 51***).

Figura 50: *Imágenes clínicas de los 18 casos con ONMs por BFs diagnosticados en el* ***Grupo I.***
Nota: DX= *Dexametasona****, ON= Osteonecrosis, PD=****Pamidronato Disódico.*



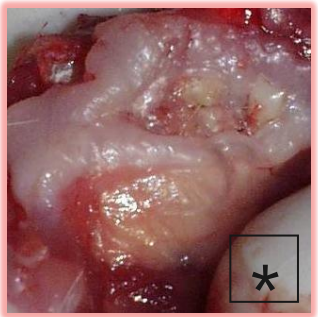
Caso 1.*ON Maxilar 7 días PD y DX sacrificio a los 14 días*



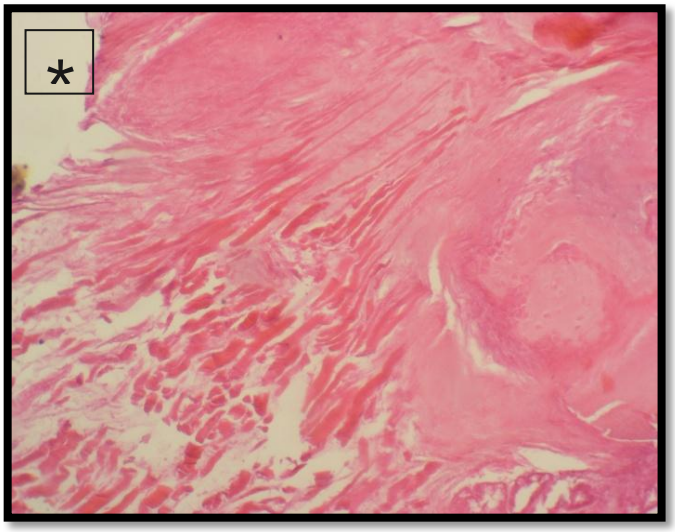
Caso 2.*ON Maxilar 7 días PD y DX sacrificio a los 14 días*

Caso 3.*ON Mandibular 7 días PD y DX sacrificio a los 14 días*

Caso 4.*ON Mandibular 7 días PD y DX sacrificio a los 28 días*



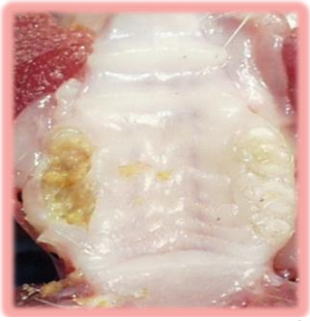
Caso 5.*ON Mandibular 7 días PD y DX sacrificio a los 28 días*



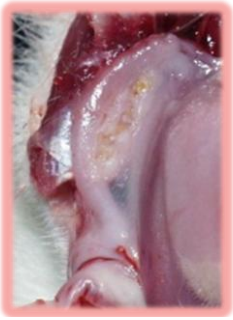
*

Figura51: *Imagen histopatológica del Caso nº 5 (con fístula extraoral) de ONM por Bisfosfonatos en el* ***Grupo I****. Podemos observar la aparición de tejido muscular entre dos segmentos de hueso y un importante infiltrado de células inflamatorias junto con leucocitos polimorfonucleares (Hematoxilina-Eosina a 100 X).*

Caso 6. *ON Maxilar 14 días PD y DX sacrificio a los 14 días*

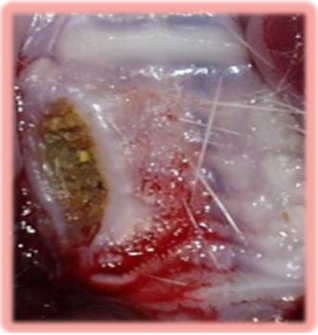


Caso 7.*ON Maxilar 14 días PD y DX sacrificio a los 14 días*



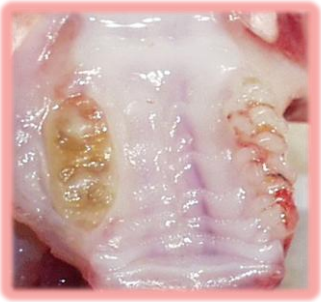
Caso 8.*ON Mandibular 14 días PD y DX sacrificio a los 14 días*

Caso 9*.ON Maxilar 14 días PD y DX sacrificio a los 28 días*

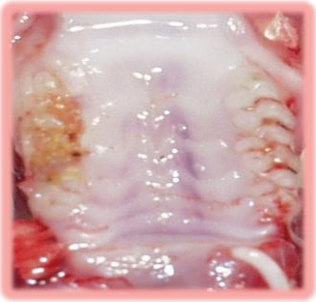


Caso 10.*ON Maxilar 14 días PD y DX sacrificio a los 28 días*

Caso 11.*ON Mandibular 14 días PD y DX sacrificio a los 28 días*



Caso 12.*ON Maxilar 21 días de tratamiento y sacrificio a los 14 días*



Caso 13.*ON Maxilar 21 días de tratamiento y sacrificio a los 14 días*

Caso 14.*ON Maxilar 21 días de tratamiento y sacrificio a los 14 días*

Caso 15.*ON Maxilar 21 días de tratamiento y sacrificio a los 14 días*

Caso 16.*ON Maxilar 21 días de tratamiento y sacrificio a los 14 días*

Caso 17.*ON Maxilar 21 días de tratamiento y sacrificio a los 28 días*

Caso 18.*ON Maxilar 21 días de tratamiento y sacrificio a los 14 días*

La descripción de las ONMs diagnosticadas en el **Grupo II**, respecto a la dosis farmacológica acumulada (días de tratamiento), localización, tiempo de aparición transcurrido desde las exodoncias de molares, así como la extensión radiológica y clínica y las características histopatológicas de vascularización e inflamación aparecen reflejadas en la ***Tabla 14***.

Respecto a los días de tratamiento (dosis farmacológica acumulada), 1 ONM apareció a los 7 días de tratamiento (1,75 mg de DX y 5,25 mg de PD), 2 a los 14 días (3,5 mg de DX y 10,5 mg de PD) y 2 a los 21 días de tratamiento (5,25 mg de DX y 15,75 mg de PD). Además, como ya se ha descrito, todos los animales del **Grupo II** tenían una dosis acumulada de Bencilpenicilina Sódica de 0,175 mg tras ser administrada durante 7 días.

De las 5 ONMs diagnosticadas en el **Grupo II**, 3 aparecieron en maxilar superior y 2 en mandíbula, diagnosticándose 2 de ellas a los 14 días de realizar las exodoncias de los molares y 3 a los 28 días posexodoncia.

Tabla 14*: Datos de las 5 ONMB que aparecieron en el grupo DX+ PD+ Bencilpenicilina. (**GrupoII**).*

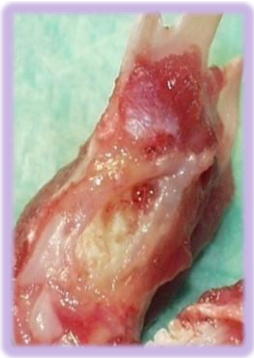
Caso	Días de TTº DX + PD	Localización	Sacrificio posexodoncia	RAR* (mm^2)	Extesión Clínica (mm)	Vascularidad**	Inflamación***
1	**7 días**	**Mandíbula**	**28 días**	**1,66**	**<3**	**0**	**3**
2	**14 días**	**Mandíbula**	**14 días**	**1,74**	**>5**	**0**	**1**
3	**14 días**	**Maxilar**	**14 días**	**1,70**	**3-5**	**0**	**2**
4	**21 días**	**Maxilar**	**28 días**	**1,87**	**>5**	**0**	**1**
5	**21 días**	**Maxilar**	**28 días**	**1,23**	**<3**	**0**	**3**

* **RAR** = Área Radiolúcida en Radiografía; ** **Vascularidad** = 0: reducida, 1: normal, 2: increment leve, 3: increment moderado, 4: gran incremento; *** **Inflamación**= 1: normal, 2: leve, 3: moderada, 4: severa
Nota: **DX=** Dexametasona**, PD=**Pamidronato Disodico**, TTº=** Tratamiento

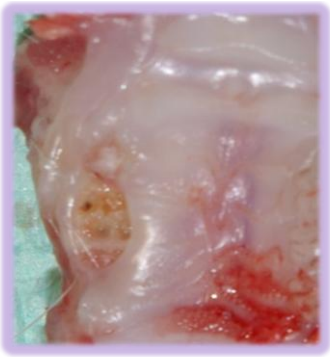
En la ***Figura 52*** observamos las imágenes clínicas de las 5 ONMs por Bisfosfonatos que fueron diagnosticadas clínico-patológicamente en el **Grupo II**.

Figura 52: *Imágenes clínicas de los 5 casos con ONMs por BFs diagnosticados en el* ***Grupo II.***

Caso 1.*ON Mandibular 7 días de tratamiento y sacrificio a los 28 días*

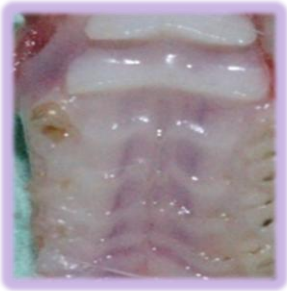


Caso 2.*ON Mandibular 14 días de tratamiento y sacrificio a los 14 días*



Caso 3.*ON Mandibular 14 días de tratamiento y sacrificio a los 14 días*

Caso 4.*ON Mandibular 21 días de tratamiento y sacrificio a los 28 días*



Caso 5.*ON Mandibular 21 días de tratamiento y sacrificio a los 28 días*

Al comparar el riesgo de aparición de ONM en relación a la dosis farmacológica acumulada (DX + PD) entre animales a los que no se administró Bencilpenicilina Sódia (**Grupo I**) y aquellos en los que sí se administró (**Grupo II**), observamos que la mayor incidencia de ONM por Bisfosfonatos se produjo en animales en los que se administró DX + PD durante 21 días (dosis acumulada 3,5 mg de DX y 10,5 mg de PD); siendo la incidencia más alta en el **Grupo II** (40%) frente a un 38,89% en el **Grupo I**, aunque no observamos diferencias estadísticamente significativas (*p=0,931*) (***Tabla 15***).

Respecto a la localización de las ONMs, fueron más frecuentes las localizadas en maxilar superior que en mandíbula en ambos grupos, siendo más frecuente esta localización en el **Grupo II** (60%) que en el **Grupo I**

(55,56%), aunque sin diferencias estadísticamente significativas (*p=0,839*) (***Tabla 15***).

Al estudiar el tiempo transcurrido desde las exodoncias de los molares hasta la aparición de las ONMs, observamos que en el **Grupo I** aparecieron con más frecuencia a los 14 días postexodoncia (61,11%) mientras que en el **Grupo II** fueron más frecuentes a los 28 días postexodoncia (60%), sin embargo no hallamos diferencias estadísticamente significativas (*p=0,400*) (***Tabla 15***).

Tabla 15*: Comparación de las ONMs por Bisfosfonatos entre el grupo I y el grupo II en relación a la dosis farmacológica acumulada, localización y tiempo transcurrido de aparición tras la exodoncia de molares (Test χ^2 de Pearson).*

23 ONMB características	DX + PD (n=18)	DX + PD + Bencil Penicilina (n=5)	*p-value*
Días de tratamiento (DX + PD): n (%)			0,931
7 días	5 (27,78)	1 (20)	
14 días	6 (33,33)	2 (40)	
21 días	7 (38,89)	2 (40)	
Localización: n (%)			0,859
Maxilar	10 (55,56)	3 (60)	
Mandíbula	8 (44,44)	2 (40)	
Sacrifio postexodoncia: n (%)			0,400
14 días	11 (61,11)	2 (40)	
28 días	7 (38,89)	3 (60)	

Cuando comparamos la extensión radiológica de las ONMs entre el **Grupo I** y el **Grupo II**, observamos que las ONMs del **Grupo I** presentaban una extensión mayor [2,95 (1,17-13,92)] que las del **Grupo II** [1,70 (1,23-1,87)], con diferencias estadísticamente significativas (*p=0,021*) (***Tabla 16***).

Clínicamente, las ONMs del **Grupo I** presentaron un mayor número de lesiones cuya extensión era < 3 mm (38,88%) y de 3-5 mm (38,88%), mientras

que en el **Grupo II** el mayor porcentaje de lesiones tenían una extensión de <3 mm (40%) y >5 mm (40%), sin observar diferencias estadísticamente significativas (*p=0,645*) (***Tabla 16***).

Respecto a las características histopatológicas de vascularización e inflamación, ambos grupos presentaron un valor constante de vascularización (valor 0 = vascularidad reducida) por lo que no se pudo realizar inferencia estadística. Finalmente al comparar la inflamación de las ONMs de ambos grupos, observamos que la mayoría de lesiones del **Grupo I** (44,44%) y del **Grupo II** (40%) presentaron una inflamación moderada, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ellas (*p=0,835*) (***Tabla 16***)

Table 16: *Comparación de las ONMs por Bisfosfonatos entre el grupo I y el grupo II en relación a la extensión radiológica y clínica, vascularización e inflamación (Test de U Mann-Whitney y χ^2 de Pearson).*

23 ONMB características	DX + PD (n=18)	DX + PD + Bencil Penicilina (n=5)	*p-value*
RAR (mm^2): mediana (rango)	2.95 (1.17-13.92)	1.70 (1.23-1.87)	0.021
Extensión Clínica (mm): n (%)			0.645
<3	7 (38.88)	2 (40)	
3-5	7 (38.88)	1 (20)	
>5	4 (22.24)	2 (40)	
Vascularidad: n (%)			--------
0	18 (100)	5 (100)	
1	0 (0)	0 (0)	
2	0 (0)	0 (0)	
3	0 (0)	0 (0)	
4	0 (0)	0 (0)	
Inflamación: n (%)			0.835
1	4 (22.22)	2 (40)	
2	5 (27.77)	1 (20)	
3	8 (44.44)	2 (40)	
4	1 (5.57)	0 (0)	

Por último, comparamos la evolución de los niveles de Ca y P en mandíbula y cabeza de fémur de todos los animales tratados con Pamidronato Disódico durante 7, 14 y 21 días.

A los 7 días de tratamiento, se produjo un mayor aumento del porcentaje de peso de Ca [10,44 (-350,45-34,30)] y P [8,55 (-303,51-33,08)] en mandíbula respecto a cabeza de fémur**,** Ca [-3,34 (-28,11-23,94)] y P [-0,53 (-7,24-10,63)], aunque sin diferencias estadísticamente significativas (*p=0,199* y *p=0,406* respectivamente) (***Tabla 17***).

Al estudiar la evolución a los 14 días de tratamiento, observamos un mayor aumento del porcentaje de peso de Ca [15,95 (-4,07-335,37)] y P [9,10 (-289,48-23,35)] en la mandíbula que en el fémur, Ca [0,75 (-8,70-7,23)] y P [-0,32 (-6,75-1,00)], aunque tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas (*p=0,120* y *p=0,120* respectivamente) (***Tabla 18***).

Finalmente, al valorar la evolución a los 21 días de tratamiento, observamos un mayor aumento del porcentaje de peso de Ca [16,38 (-321,85-30,27)] y P [16,08 (-274,49-29,62)] en mandíbula que en cabeza de fémur, Ca [-1,59 (-14,75-11,38)] y P [-0,36 (-7,67-4,30)], con diferencias estadísticamente significativas (*p=0,007* y *p=0,013* respectivamente) (***Tabla 19***).

Tabla 17: *Comparación de la evolución de los niveles de calcio y fósforo, tras 7 días de tratamiento con Pamidronato Disódico y Dexametasona, en mandíbula y cabeza de fémur, (Test de U Mann-Whitney y χ^2 de Pearson)*

Elementos	DX + PD 7 días en mandíbula Evolución: día 7 (n=10) – día 0 (n=10)	DX + PD 7 días en fémur Evolución: día 7 (n=10) – día 0 (n=10)	p-valor
Calcio: mediana (rango)			
Peso %	19,39 (2,91-34,63) – 12,88 (0,33-353,36) = 10,44 (-350,45-34,30)	26,64 (20,06-35,13) – 28,27 (11,19-52,50) = -3,34 (-28,11-23,94)	0,199
Atómico %	4,01 (0,83-6,25) – 5,22 (0,11-9,42) = 0,53 (-5,55-6,44)	14,13 (10,22-21,96) – 15,60 (4,29-34,73) = -2,65 (-22,05-17,67)	0,174
Fósforo: mediana (rango)			
Peso %	16,40 (2,82-34,50) – 9,57 (1,42-306,33) = 8,55 (-303,51-33,08)	16,40 (11,12-20,72) – 17,84 (6,79-20,53) = -0,53 (-7,24-10,63)	0,406
Atómico %	4,02 (1,04-7,67) – 5,08 (0,62-12,27) = -0,15 (-8,12-5,79)	11,30 (7,34-14,66) – 13,10 (3,73-16,19) = -1,48 (-6,14-10,72)	0,880

Nota: DX = Dexametasona, PD = Pamidronato Disódico

Tabla 18: *Comparación de la evolución de los niveles de calcio y fósforo, tras 14 días de tratamiento con Pamidronato Disódico y Dexametasona, en mandíbula y cabeza de fémur, (Test de U Mann-Whitney y χ^2 de Pearson)*

Elementos	DX + PD 14 días en mandíbula Evolución: día 14 (n=10) – día 0 (n=10)	DX + PD 14 días en fémur Evolución: día 14 (n=10) – día 0 (n=10)	p-valor
Calcio: mediana (rango)			
Peso %	22,22 (11,28-33,83) – 12,88 (0,33-353,36) = 15,95 (-4,07-335,37)	21,01 (18,42-27,87) – 28,27 (11,19-52,50) = 0,75 (-8,70-7,23)	0,120
Atómico %	5,88 (2,45-15,98) – 5,22 (0,11-9,42) = -0,78 (-3,35-12,05)	9,76 (7,45-14,86) – 15,60 (4,29-34,73) = 0,51 (-7,06-3,55)	0,572
Fósforo: mediana (rango)			
Peso %	18,32 (9,27-32,42) – 9,57 (1,42-306,33) = 9,10 (-289,48-23,35)	11,52 (8,52-17,31) – 17,84 (6,79-20,53) = -0,32 (-6,75-1,00)	0,120
Atómico %	6,35 (2,61-14,80) – 5,08 (0,62-12,27) = 1,32 (-3,40-12,12)	7,22 (4,45-11,57) – 13,10 (3,73-16,19) = -1,41 (-9,03-1,23)	0,203

Nota: DX = Dexametasona, PD = Pamidronato Disódico

Tabla 19: *Comparación de la evolución de los niveles de calcio y fósforo, tras 21 días de tratamiento con Pamidronato Disódico y Dexametasona, en mandíbula y cabeza de fémur, (Test de U Mann-Whitney y χ^2 de Pearson)*

Elementos	*DX + PD 21 días en mandíbula* ---------- *Evolución: día 21 (n=10) – día 0 (n=10)*	*DX + PD 21 días en fémur* ---------- *Evolución: día 21 (n=10) – día 0 (n=10)*	p-valor
Calcio: mediana (rango)			
Peso %	**28,96 (17,72-36,46) – 12,88 (0,33-353,36) = 16,38 (-321,85-30,27)**	**25,39 (16,97-40,08) – 28,27 (11,19-52,50) = -1,59 (-34,75-11,38)**	**0,007**
Atómico %	**5,76 (4,85-16,70) – 5,22 (0,11-9,42) = -0,12 (-4,57-11,95)**	**3,51 (7,05-23,06) – 15,60 (4,29-34,73) = -1,28 (-27,52-7,42)**	**0,290**
Fósforo: mediana (rango)			
Peso %	**25,08 (16,18-33,29) – 9,57 (1,42-306,33) = 16,08 (-274,49-29,62)**	**17,40 (9,12-19,73) – 17,84 (6,79-20,53) = -0,36 (-7,67-4,30)**	**0,013**
Atómico %	**7,05 (4,58-15,97) – 5,08 (0,62-12,27) = 1,61 (-7,69-10,65)**	**12,01 (4,79-13,56) – 13,10 (3,73-16,19) = -0,61 (-9,58-2,50)**	**0,112**

Nota: **DX = Dexametasona, PD = Pamidronato Disódico**

Discusión

Considerando que no hay en la literatura una dosis estandarizada de pamidronato disódico para uso en animales, las cantidades de BFs que nosotros elegimos debían reproducir en ratas la posología usada en humanos para la terapia de enfermedades en las cuales son empleados estos BFs, p.ej. la enfermedad hematológica del Mieloma Multiple, teniendo siempre en cuenta las diferencias que existen entre las dos especies en relación con el metabolismo óseo. Estudios previos como el de Biasotto y cols. en 2010 extrapolaron las dosis de ácido zoledrónico de pacientes con MM al modelo de ratas Wistar.

Para la reproducción del tratamiento de esta patología es necesario el empleo, junto con el BF, de un corticoide, en nuestro caso la Dexametasona. En condiciones inflamatorias crónicas, donde es habitual la prescripción de altas dosis de corticoides, se ha demostrado que pueden llevar aparejada la presencia de osteonecrosis localizadas en cabeza de fémur, húmero y rodilla, aunque el mecanismo exacto por el que se producen es desconocido. Así en casos de inflamación crónica del intestino las altas dosis de corticoides incrementan el riesgo de osteonecrosis, sin embargo en la enfermedad de Crohn no se ha encontrado esta relación, lo que indicaría que el riesgo de aparición de osteonecrosis no puede ser solo explicado por los corticoides y que puede ser en conjunto parte de la enfermedad (**Klingenstein 2005**), pues su rol dentro de la patogénesis no está claro (**Estilo 2008**). En nuestro trabajo aunque la dexametasona podría ser un factor que retrasara la cicatrización de la herida y fomentara la dehiscencia de la misma, tras una actuación quirúrgica, para algunos autores la asociación entre la ON encontrada en maxilar o mandíbula y la exposición a la terapia con corticoides es negativa y en los estudios hasta ahora publicados no han demostrado un riesgo adicional, aunque se necesita de más investigación (**Wang 2003**) (**Estilo 2008**) (**Woo 2006**).

Bamias y cols. publicaron en 2005 un estudio retrospectivo que resaltaba la importancia que puede tener, sobre la incidencia de ONMB, el número de infusiones realizadas y el tiempo de exposición a los BFs. En su grupo de pacientes observaron un incremento continuo de la incidencia cuando aumentaban estas dos variables (**Bamias 2005**) (**Diel 2007**) (**Smith 2009**).

Aunque en nuestro estudio no obtuvimos unos resultados significativos, si que apreciamos un ligero ascenso del número de lesiones en concordancia con el incremento de los días de la administración del fármaco y el acumulo de la dosis.

En el diseño del estudio nos proponemos analizar la vascularidad de los casos diagnosticados como ON dada la controversia que hay en torno a que este sea un posible mecanismo de producción de necrosis avasculares que darían lugar a las ONMB. En un estudio realizado por Sonis y cols. en 2008 en el que emplearon el zoledronato junto con dexametasona los hallazgos no mostraron diferencias entre la vascularidad de los casos controles y los tratados. Sin embargo a través del análisis histopatológico en nuestro estudio encontramos una vascularidad reducida en todas las muestras que fueron diagnosticadas como osteonecrosis. Esto podría coincidir con las propiedades antiangiogénicas atribuidas a los BFs (**Marx 2005**) (**Ruggiero 2007**). En teoría la proliferación de células endoteliales puede ser inhibida por el mecanismo de acción de los BFs (**Marx 2005**), de hecho en estudios recientes se ha demostrado la inhibición de la función endotelial *in vitro* e *in vivo* (**Biasotto 2010**). Este efecto conduce a la pérdida de aporte sanguíneo, que impide el sangrado del hueso y por tanto induce que se produzca una necrosis avascular (**Marx 2005**).

Aunque esta es una de las hipótesis barajadas como posible causante de la ON, con antiangiogénicos más potenetes de uso clínico, como la talidomida, penicilamina, e interferón alfa-2; así como los que se dan en ensayos clínicos avanzados, tales como endostatina, bortezomide, y angiostatina, no se ha demostrado que puedan producir hueso expuesto en los maxilares (**Marx 2005**). Esto coincide con los hallazgos encontrados por Estilo y cols. en 2008 en los que 74 pacientes tratados con agentes antiangiogénicos como son bevacizumab, bortezomib, y thalidomida, mostraron una asociación negativa con la ON. Hansen y cols. han informado de la normalidad en el patrón vascular en 7 de 8 biopsias de pacientes con ONM, hallazgos similares a los descritos por otros autores. En 2007 estos mismos autores publicaron un artículo en el que solo encontraban esta reducción de la vascularidad en un 30% de las muestras analizadas (**Hansen 2007**). Por alguna razón se ha

tendido a equiparar la ONM a la necrosis avascular del hueso en otros lugares, como en la cadera, cuando no existe ningún paralelismo clínico ni fisiológico entre ambas entidades (**SEIOMM 2009**).

La mayoría de autores y de guías de consenso consultadas (**Woo 2006**) (**Campisi 2007**) (**Bagan 2007**) (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**) (**ADA 2006**) (**Marx 2005**) (**Ruggiero2004**) proponen la utilización de antibióticos como método de tratamiento ante la instauración de una osteonecrosis maxilar o mandibular, confirmada clínica y radiológicamente, debido a la asociación infecciosa que parece confluir en este tipo de lesiones.

En los cultivos de hueso expuesto en varios trabajos se han podido identificar especies de *Actinomices;* 32 de 32 pacientes (**Bisdas 2008**), 8 de 8 pacientes (**Hansen 2006**), 2 de 3 pacientes (**Lugassy 2004**), 10 de 11 pacientes (**Biasotto 2006**), 28 de 30 pacientes (**Lazarovici 2009**), 26 de 26 pacientes (**Hansen 2007**), 1 de 4 pacientes (**Merigo 2005**),1 de 12 pacientes (**Pires 2005**), 1 de 1 paciente (**Melo 2005**)1 de 12 casos (**Zarichanski 2006**), 7 de 20 pacientes (**Badros 2006**), 13 de 13 pacientes analizados (**Estilo 2008)**, 1 de 2 pacientes (**Tong 2010**]). Pero se debe tener cuidado en distinguir entre una verdadera infección supurativa o una mera colonización de la superficie por *Actinomyces*, porque este organismo coloniza colon, vagina y boca (**Naik 2009**), siendo un componente común de la placa dental (**Woo 2006**). Estos microorganismos provocan una actinomicosis, que suele ser una infección indolora capaz de afectar por proximidad a todos los sitios del cuerpo, la disrupción de la mucosa es la llave de paso en la patogénesis (**Naik 2009**).

La actinomicosis es una enfermedad crónica causada por especies bacterianas anaeróbicas o microaerofílicas que no forman esporas y cuyo género es *Actinomices*. Las especies de actinomices son Gram positivas, pleomórficas y son microbios levemente filamentosos (**Hansen 2007**), que típicamente forman numerosos gránulos de sulfuro (**Hansen 2006**). Característicamente la actinomicosis es una infección polimicorbial, pero la especie más frecuente es el *Actinomyces israelii* (**Hansen 2007**), aunque en un caso también se ha descrito el *Actinomyces Viscosus* (**Naik 2009**). La forma más común de actinomicosis es la enfermedad oro-cervicofacial. Los *Actinomices* pueden ser comúnmente encontrados en crevículo gingivodental.

Se sabe que el paso inicial en la patogénesis de la actinomicosis es la disrupción de la barrera de la mucosa, la cual permite la implantación dentro del tejido dañado. Una causa de este defecto mucoso puede ser la exodoncia dental, la cual está frecuentemente asociada con ON. Pero también se ha visto sin extracción dental, sugiriendo que el trauma superficial no es el único portal de entrada para los agentes infecciosos. Así que puede haber otras causas de defecto mucoso, como infección endodóntica y periodontal, por lo tanto la exodoncia es una causa importante pero no la única (**Hansen 2007**).

En el estudio de Hansen y cols. estas colonias de bacterias a veces eran encontradas entre el tejido de revestimiento y el tejido óseo. Incluso en un paciente que presentaba una fístula (que llegaba desde el revestimiento epitelial de la mucosa oral al hueso) hay que remarcar que en el inicio de la fístula los actinomices podían ser observados en contacto directo con el tejido óseo, mientras que la fístula por sí misma y en el tejido blando de alrededor no era directamente afectado por este microbio (**Hansen 2007**). Por tanto si la presencia de *Actinomices* representa una verdadera infección actinomicótica primaria o una sobreinfección de hueso necrótico por estos microorganismos es debatible (**Melo 2005**) (**Biasotto 2010**), y por ello la actinomicosis puede ser interpretada como una enfermedad oportunista (**Hansen 2007**).

Pero no hay que olvidar que se han detectado muchos otros microorganismos, pertenecientes a la flora mixta oral, en los cultivos de especímenes óseos osteonecróticos. Así pues adicionalmente se han encontrado hongos formando hifas no septadas y esporas, que han sido relacionados principalmente con la familia *Candida* (**Hansen 2007**), más concretamente en otros casos con la aparición de *Candida Albicans* (**Merigo 2005**). Otros organismos infecciosos simultaneos incluían *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* sp, **Eikenella**, *Prevotella*, *Porfiromonas* y especies de *Fusobacterium* (**Badros 2006**). Marx en 2005 también describió la *Eikenella corrodens* y especies similares colonizando frecuentemente el hueso expuesto.

La presencia de todos estos microorganismos como posibles causantes, iniciadores o facilitadores de la ONMB, remarca la importancia que puede tener una profilaxis antibiótica previa a cualquier tratamiento quirúrgico, que sea

inevitable, dentro de la cavidad oral; pues la prevención de la aparición de estos factores y por tanto de la facilitación del proceso, puede ser más beneficiosa para el paciente que el posterior tratamiento, el cual muchas veces no llega a ser curativo. Aunque algunos autores si proponen una profilaxis durante el proceso de cicatrización de la herida o de algunos días previos a la producción de ésta, no hay un consenso entre dosis y periodo, ni unas pautas basadas en la evidencia (**Woo 2006**) (**Campisi 2007**) (**Bagan 2007**) (**Canadian Consensus Practice Guidelines 2008**) (**ADA 2006)**.

En nuestro estudio la inclusión de un antibiótico de amplio espectro, como es la Bencilpenicilina Sódica, que cubra todo el rango de bacterias asociadas de manera normal a la flora oral (independientemente de la especie bacteriana predominante), provoca una disminución estadísticamente significativa de la aparición del número de lesiones postexodoncia que pueden ser asociadas con ON. Además este tipo de lesiones presentaba mayor extensión radiológica en aquellos animales que no habían recibido la BPS, con diferencias significativas.

Según todos estos datos Naik y cols. en 2009 propusieron un modelo biológico secuencial que podría dar una explicación lógica al mecanismo de producción de la ON. Primero, el uso de BFs inhibe la homeostasis normal y/ o establece un nicho para los actinomices dentro del hueso. Seguidamente (aunque no en todos los pacientes) tiene lugar una disrupción de la mucosa, un paso crítico en la patogénesis de la actinomicosis, por procesos dentales, trauma, cirugía oncológica, o enfermedad dental subyacente (**Diel 2007**) (**Naik 2009)**. La inhibición de la vida media de los queratinocitos por parte de los BFs puede perpetuar la rotura de la mucosa e impedir la reparación (Naik 2009). Además los BFs podrían ser tóxicos para el epitelio supra yacente con el resultado de una inhibición de la proliferación y de la cicatrización de la herida a través de un mecanismo similar al descrito para la mucosa gástrica (**Kyrgidis 2009**). La presencia de osteocitos vivos en el hueso de algunos pacientes da crédito a la idea de que los actinomices infectan el hueso vivo y no secundariamente al hueso necrótico (**Naik 2009).**

Hikita y cols. en 2009 demostraron que la administración de alendronato en ratas antes de una exodoncia inhibe la reabsorción inicial del alveolo, lo que

retrasa la cicatrización inicial, que junto con una infección durante los estadios tempranos del proceso de curación puede desembocar en un alveolo no curado que iniciaría la ON **(Hikita 2009).** En este mismo estudio el volumen de nuevo hueso formado fue significativamente mayor en el grupo de ratas sin BF a los 7 días de las exodoncias, pero no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre controles y tratados con BFs a los 10 y 14 días de la exodoncia. También se observó que la remodelación del septum y la nueva aposición de hueso fueron mayores para el grupo control. Mientras que la densidad del nuevo hueso fue mucho mayor para el grupo BF.

El mayor recambio óseo en la mandíbula (especialmente en el hueso alveolar), probablemente consecuencia de su mayor carga mecánica, podría promover una mayor captación local de BF, que contribuiría al desarrollo de ON en el hueso. Recientemente ha sido hipotetizado que la concentración de BF en los maxilares excedería a la de otros lugares dentro del esqueleto, y subsecuentemente se produciría la pronunciada reducción en el recambio óseo, paso esencial para promover ON (**Bauss 2008**) (**Merigo2005**). Además este mayor acumulo (unas 100 veces mayor) podría ser tóxico directamente sobre el tejido óseo (**Bauss 2008**). La inhibición irreversible de los osteoclastos impide el remodelado óseo, lo que incrementa la mineralización ósea y un mayor acúmulo de microfracturas (**Diel 2007**). En un estudio en ratas que con diferentes dosis de ibandronato, la captación de BF en la mandíbula, de animales con un recambio óseo normal, es relativamente similar al de otros huesos en el esqueleto (fémur y vertebras) o incluso menor pero no mayor. Además los datos presentes no soportan la hipótesis de que una captación preferencial de BFs en la mandibula sea la razón para la exclusiva ocurrencia de ON en el hueso. Pero sin embargo, el diseño de este estudio no permite tener ninguna conclusión sobre la captación en mandíbula en presencia de factores que puedan contribuir a ON y puedan por ello modificar la captación, p.ej. cirugía dental (**Bauss 2008**). Siguiendo estas hipótesis analizamos la mayor captación de Calcio y Fósforo en mandíbula y cabeza de fémur, (dos zonas de gran recambio óseo) como un dato relacionado con la mayor captación de BFs por estos huesos, ya que el aumento de estas de Ca y P en el hueso podría indicar una mayor captación de BF en la zona pues es rápidamente unido a estas sustancias formando complejos. Los BFs se unen al

Ca_I y Ca_{II} de la HA y aunque inhiben la predipitacion de novo del fosfato cálcico, retrasando la transformación de la HA cristalizada, también inhiben la disolución de los cristales (**Russell 2008**) (**Fleisch 1998**), además la disminución de la reabsorción está acompañado por un incremento en el balance del calcio y en el contenido mineral del hueso (**Fleisch 1998**). Nuestros resultados demuestran mayores valores de calcio y fósforo en mandíbula que en cabeza de fémur, en aquellos animales que habían sido tratados con el PD, tanto a los 7,14 y 21 días, teniendo a los 21 días diferencias significativas con mayores valores de acumulación en mandíbula que en fémur. Por tanto nuestros resultados no coinciden con los estudios realizados por Bauss en 2008 y apoyan las teorías que avalan el hecho de que hay una mayor captación de BFs en mandíbula. Los maxilares en general tienen un suministro sanguíneo mayor que otros huesos y un recambio óseo más rápido; relacionando ambos a la actividad diaria y la presencia de los dientes (los cuales necesitan diariamente remodelación ósea en el ligamento periodontal circundante), por esto los BFs están en mayor concentración en la mandíbula. Uniendo esto con enfermedades invasivas crónicas de los dientes y tratamientos en la mucosa que recubre el hueso, esta concentración anatómica de BFs causa esta condición que hace a la ONMB manifestarse exclusivamente en los maxilares. La exposición de hueso en los maxilares es el resultado directo de la acción de estos BFs en el remodelado diario y reposición de hueso (**Marx 2005).**

Un factor que podría intervenir como sesgo en el estudio es el hecho de que los modelos animales con roedores presentan una ausencia generalizada de remodelado intracortical normal lo que podría limitar su uso como modelo para ON. Pero por otro lado si se produce hueso expuesto en los maxilares (con o sin intervención adicional) podría evidenciar que la supresión del recambio intracortical no forma parte de la fisopatología de la ON (**Allen 2007**).

Un modelo animal de ON debería de ser aquel tratado con BFs el cual desarrolla hueso expuesto que persiste por al menos un periodo equivalente al periodo de tiempo requerido para la cicatrización normal en esa especie animal (**Burr 2009**). Según la definición de la AAOMS para que una lesión sea considerada como ONMB en humanos ésta debe persistir por más de 8

semanas. Biasotto y cols. en 2010 administraron ácido zoledrónico a ratas durante 5 semanas y también realizaron exodoncias dentales, sacrificando a los animales a las 8 semanas para valorar las posibles ONMB. Pero Sonis y cols. encontraron los cambios (hueso expuesto), en tiempos más cortos, probablemente por las diferencias en el metabolismo óseo entre ratas y humanos (**Sonis 2008**). Sin embargo en nuestro estudio los animales fueron sacrificados a los 14 y 28 días tras el procedimiento quirúrgico. En estudios histológicos previos sobre la curación de las exodoncias en ratas normales se ha demostrado que el nuevo hueso empieza a formarse en el fondo del alveolo sobre los dos primeros días, y que éste llega a estar lleno, con nuevo hueso formado a los 14 días, después de la exodoncia (**Hikita 2009**). Por tanto el hueso expuesto por más de estos días podría significar una perpetuación de la lesión de ON.

Lo que también llama la atención es el hecho de que nos aparezcan más casos de ON maxilares que mandibulares cuando en la gran mayoría de estudios con casos publicados el mayor porcentaje de lesiones está ubicado en la mandíbula. Esto podría venir explicado por las diferencias entre el recambio óseo entre ambas especies. Puede ser debido a la dosis total acumulada pues en un estudio realizado por Senel en ratas Sprague-Dawley, con ZO y DX, del segundo ciclo de administración de BFs al tercero varia el porcentaje de lesiones en maxilar y mandíbula, pasando de un 50% en maxilar y un 60% en mandíbula, hasta un 80% en maxilar y un 60% en mandíbula para el tercer ciclo (**Sonis 2008**).

Respecto a los resultados obtenidos en el infiltrado inflamatorio la mayoría de los valores se encontraban en un rango que oscilaba entre leve y moderado tanto para el grupo tratado con PD y Dx como el grupo tratado con PD+DX+BPS, sin variaciones entre ambos sobre todo a los 14 días. Lo que también indica que el empleo de un antibiótico modifica mínimamente la presencia y gravedad del infiltrado inflamatorio. Tan solo hubo una inflamación severa a los 28 días en el grupo sin BPS. La ausencia de infiltrados severos podría estar asociada al empleo de dexametasona, corticoide que disminuiría este proceso inflamatorio. Esto queda demostrado en el estudio realizado por

Sonis y cols. en el cual las ratas con BFs más DX presentan menor inflamación que las tratadas exclusivamente con BF.

En la actualidad se plantean nuevas líneas de estudio que investiguen si estas ON pueden producirse en otras regiones del esqueleto, ya que si esta enfermedad dependiera exclusivamente del factor provocado por lo BFs cabría esperar que se afectaran varios huesos en localizaciones distintas (**Polizzotto 2005**). La posibilidad de que esta ON represente una enfermedad sistémica con manifestación inicial en la mandíbula, que puede ir afectando a otros huesos a medida que los pacientes aumentan su vida e incrementa la duración de la terapia, todavía no ha sido demostrada. Puesto que a excepción de 4 casos de osteonecrosis de cadera en pacientes que también recibieron tratamiento con esteroides (elevando así la posibilidad de necrosis avascular mediada por esteroides) (**Badros 2006**) y un único caso desarrolladlo en el meato auditivo externo (un área rápidamente accesible para los *Actinomyces*), la ONMB es esencialmente un síndrome que afecta a mandíbula y maxilar (**Naik 2009)**.

Tabla 20: *Tabla resumen de los trabajos encontrados en Medline relacionados con la administración de BFs, y la producción o no de ON. En la tabla aparecen los autores y año de publicación así como las características principales de las que está compuesto cada estudio*

Autor/año	Animal de experimentación	BF/ dosis/ tiempo de duración	Tipo de estudio	Conclusiones
Allen y cols. 2007	Hembras de perro de la raza Beagle, esqueléticamente maduras	Alendronato: 0,20 mg/kg/día y 1,0 mg/kg/ día. Durante 1 a 3 años. BFs orales	Casos y controles. Comparativa con otros estudios previos de distintos tipos de animales de experimentación	Se observan áreas de matriz necrótica en zonas con gran recambio óseo. Los perros son buenos animales de experimentación ya que su recambio intracortical es similar al de los humanos.

Allen y cols. 2008	36 hembras de perro de raza Beagle, esqueléticamente maduras	Alendronato: 0,20 mg/kg/día oral, dosis parecida a la empleada en osteoporosis en humanos y 1,0 mg/kg/ día oral, para simular tratamiento en enfermedad ósea de Paget. Durante 1 a 3 años.	Casos y controles. Con administración del fármaco sin otros agentes externos. Búsqueda al microscopio de matriz necrótica.	Tratamiento diario durante tres años, reduce significativamente el recambio óseo e incrementa la incidencia de matriz necrótica
Hikita y cols. 2008	60 ratas Wistar hembras, de 5 semanas de edad.	Alendronato 1.0 mgr/kg. Subperióstica	Casos y controles. Inyección en el subperiostio vestibular del lado derecho, cada 4 días durante 16 días, empezando 2 días antes de las exodoncias. Un grupo control con inyecciones de suero salino. Eutanasias a los 3, 7, 10 o 14 días después de las exodoncias.	La proporción de nuevo hueso formado tras la exodoncia era, a los 7 días, mayor para el grupo control. Pero a los 10 y 14 días no había diferencias significativas.
Sonis y cols. 2008	92 ratas Sprague-Dowley, de 10-12 semanas de crecimiento	Ácido zoledrónico 0,75µgr/kg, inyección subcutánea una vez a la semana, durante 1, 2 o 3 semanas.	Casos y controles. Tratamiento durante 7, 14, 21 días. Además otros grupos eran tratados con dexametasona. Eran sometidos a exodoncias.	Con histopatología se encuentra, inflamación y vascularización aumentada. Con la tinción de PAS no se detectaron *Actinomices.*

Burr y cols. 2009	Hembras de perro de la raza Beagle esqueléticamente maduras	Alendronato: 0,20 mg/kg/dia 1,0 mg/kg/ dia. Durante 1 a tres años. BFs orales	Casos y controles. Con administración del fármaco sin agentes externos, búsqueda de matriz necrótica a través de tinciones histológicas	La reducción del remodelado óseo por parte de los BFs puede contribuir a la patogénesis de de la matriz necrótica
Senel y col. 2009	60 ratas hembra de Sprague Dawley, de10 -12 semanas de evolución.	Un grupo con solución salina Otro grupo con zoledronato 0,1mg/kg 3 veces a la semana por 6 semanas. Pamidronato 3mg/kg/ 3 veces a la semana por 6 semanas, Y otros tres grupos con la misma dosis pero durante 8 semanas.	Casos y controles. Evaluación histopatológica de mandíbula y fémur	Los BFs fueron asociados a los cambios inflamatorios en el tejido blando y en hueso mandibular. Dichos cambios pueden sentar las bases de una cicatrización alterada relacionada con la ONM.
Biasotto y cols. 2010	10 ratas hembras Wistar, maduras esqueléticamente .	Ácido Zoledrónico: 0,04 mg IV/ una vez a la semana 5 semanas (reproducción dosis del mieloma).	Casos y controles. 5 ratas con tratamiento de BFs. Tras dos semanas con BFs se hacen exodoncias y se crea un defecto de 4mm. A la octava semana se las sacrificó. Otras 5 ratas sin zoledronico.	Las ratas pueden ser un buen modelo de estudio. Ratas tratadas con zoledrónico presentaban falta de cicatrización, expansión del defecto y hueso expuesto. Las otras cinco no tratadas curaron normalmente, aunque el proceso de reparación no era completo

Presente estudio	130 ratas hembra de Sprague Dawley, de 249,87 g (210-382)	Un grupo con Pamidronato Disódico 3mg/kg, (reproducción dosis del mieloma multiple). Dexametasona 1 mg/Kg. Ambos una vez al día durante 7, 14 o 21 días. Bencilpenicilin a Sódica 0,1ml/ Kg,una vez al día 7 días	10 ratas control 60 ratas con Pamidronato disódico y dexametasona. 60 ratas con pamidronato disódico, dexametasona y bencilpenicilina sódica	La administración de un antibiótico de amplio espectro disminuye el riesgo de ONMB la extensión radiológica de la misma, con diferencias significativas. La acumulación de Ca y P es mayor en mandíbula que en cabeza de fémur con diferencias estadísticamente significativas a los 21 días con pamidronato.

Conclusiones

1. El riesgo de ONM es mayor en ratas tratadas con Pamidronato Disódico y Dexametasona a las que se les hacen exodoncias de molares, disminuyendo con diferencias estadísticamente significativas al administrar Bencilpenicilina Sódica.

2. La localización y tiempo de aparición de las ONMs, así como el riesgo asociado a la dosis farmacológica acumulada en ratas tratadas con Pamidronato Disódico y Dexametasona no se ven modificados por la administración preventiva de un antibiótico.

3. La extensión radiológica de las ONMs de ratas tratadas con Pamidronato Disódico y Dexametasona es mayor cuando no se administra Bencilpenicilina Sódica con diferencias estadísticamente significativas; sin embargo, no se observan diferencias en la extensión clínica ni en la vascularización y/o inflamación de las ONMs al administrar o no un antibiótico preventivo.

4. La administración de Pamidronato Disódico durante 7, 14 y 21 días en ratas adultas hembras produce un mayor aumento de los niveles de Ca y P en mandíbula respecto a la cabeza de fémur, observando diferencias estadísticamente significativas a partir 21 días de su administración.

Bibliografía

American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons **Position Paper on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw- 2009.** Aust Endod J. 2009; 35(3):119-130.

American Dental Association Council on Scientific Affairs. **Dental management of patients receiving oral bisphosphonate therapy: Expert panel recommendations.** J Am Dent Assoc 2006; 137:1144-1150.

American Society for Bone and Mineral Research. **Bisphosphonate-Associated Osteonecrosis of the Jaw: Report of a Task Force of the American Society for Bone and Mineral Research.** J Bone Miner Res 2007; 22:1479–1491.

Allen M.R. **Animal models of osteonecrosis of the jaw.** J Musculoskelet Neuronal Interact 2007; 7(4):358-360

Allen M.R, Burr D.B. **Mandible matrix necrosis in beagle dogs After 3-years of daily oral bisphosphonate treatment.** J Oral Maxillofac Surg 2008; 66(5): 987–994.

Badros A, Weikel D, Salama A, Goloubeva O, Schneider A, Rapoport A, et. al. Osteonecrosis of the Jaw in Multiple Myeloma Patients: Clinical Features and Risk Factors. J Clin Oncol 2006; 24:945-952.

Bagan J.V., Murillo J., Jimenez Y., Poveda R., Milian M.A., Sanchis J.M., et. al. **Avascular jaw osteonecrosis in association with cáncer chemotherapy: series of 10 cases.** J Oral Pathol Med 2005 34: 120–3

Bagán J, Blade J, Cozar JM, Constela M, García-Sanz R, Gómez-Veiga F, et. al. **Recommendations for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw (ONJ) in cancer patients treated with bisphosphonates.** Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2007; 12: E336-40.

Bagan J. **Osteonecrosis de los Maxilares por Bisfosfonatos.** Valencia: Medicina Oral S.L. 2008

Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Moulopoulos L.A, Melakopoulos I, Bozas G, et. al. Osteonecrosis of the Jaw in Cancer After Treatment With Bisphosphonates: Incidence and Risk Factors J Clin Oncol 2005; 23:8580-8587.

Bauss F, Pfi ster T, Papapoulos S. Ibandronate uptake in the jaw is similar to long bones and vertebraein the rat. J Bone Miner Metab 2008; 26:406–408

Bergmann P, Body J.J,Boonen S,Boutsen Y,Devogelaer J.P,Goemaere S,et. al. **Members of the Advisory Board on Bone Markers. Evidence-based guidelines for the use of biochemical markers of bone turnover in the selection and monitoring of bisphosphonate treatment in osteoporosis: a consensus document of the Belgian Bone Club.** Int J Clin Pract 2009; 63 (1): 19–26.

Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, Moimas S, Dore F, Pozzato G, et. al. **A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw.** J Oral Pathol Med Febr 2010; 1-7

Bocanegra S, Barrero M.V, Sosa M, Knezevic M, Castellano J.M, Rodríguez J. **Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. A proposal for conservative treatment**. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2008;13(12):E770-773.

Borrás-Blasco J, Rosique-Robles D, Giner-Marco V, Galan-Brotons A, Casterá E, Costa S. **Possible delayed onset of osteonecrosis of the jaw in association with zoledronic acid.** J Clin Pharm Ther 2007; 32: 651-654.

Boutsen Y, Jamart J, Esselinckx W, Devogelaer J.P. **Primary Prevention of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis with Intravenous Pamidronate and Calcium: A Prospective Controlled 1-Year Study Comparing a Single Infusion, an Infusion Given Once Every 3 Months, and Calcium Alone**. J Bone and Mineral Research 2001; 16 (1): 104-12.

Burr D.B, Allen M.R. **Mandibular necrosis in beagle dogs treated with Bisphosphonates.** Orthod Craniofac Res 2009;12:221–228.

Campisi G, Di Fede O, Musciotto A, Lo Casto A, Lo Muzio L, Fulfaro F,et. al. **Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): run dental management designs and issuesin diagnosis.** Annals of Oncology 2007; 18 Supl 6: vi168–vi172.

Canadian Consensus **Practice Guidelines for Bisphosphonate Associated Osteonecrosis of the Jaw.** The Journal of Rheumatology 2008; 35:7.

Carey JJ, Palomo L. **Bisphosphonates end osteonecrosis of the jaw: Innocent association or significant risk?**. Cleve Clin J Med 2008; 75(12): 871-879.

Carter G, Goss AN, Doecke C. **Bisphosphonates and avascular necrosis of the jaw: a possible association.** Med J Aust. 2005; 182(8):413-415

Cartsos VM, Zhu S, Zavras AI. **Bisphosphonate Use and the Risk of Adverse Jaw Outcomes A medical claims study of 714,217 people.** J Am Dent Assoc 2008; 139(1):23-30.

Cetiner S, SucakGT, Kahraman SA, Ak SZ, Kocakahyaoglu B, Gultekin SE, et al. **Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple mieloma treated with zoledronic acid.** J Bone Miner Metab 2009; 27:435-443.

Diel IJ, Fogelman I, Al-Nawas B, Hoffmeister B, Migliorati C, Gligorov J,et. al. **Pathophysiology, risk factors and management of bisphosphonate-**

associated osteonecrosis of the jaw: Is there a diverse relationship of amino- and non-aminobisphosphonates?. 2007; 64(3):198-207

Drake MT, Clarke BL, Khosla S. **Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice.** Mayo Clin Proc. 2008; 83(9):1032-1045.

Eekman DA, Vis M, Bultink IE, Derikx HJ, Dijkmans BA, Lems WF. **Treatment with intravenous pamidronate is a good alternative in case of gastrointestinal side effects or contraindications for oral bisphosphonates.** BMC Musculoskeletal Disorders 2009, 10:86.

Erkan M, Bilgi O, Mutluoğlu M, Uzun G. **Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw in Cancer Patients and Hyperbaric Oxygen Therapy**. J Pancreas (Online) 2009 Sep 4; 10(5):579-580.

Estilo CL, Van Poznak CH,Wiliamz T, Bohle GC, Lwin PT, Zhou Q. **Osteonecrosis of the Maxilla and Mandible in Patients with Advanced Cancer Treated with Bisphosphonate Therapy**. The Oncologist 2008; 13:911–920.

Fleisch H. **Bisphosphonates: Mechanisms of Action.** Endocrine Reviews 2009 19(1): 80–100.

García-Sáenz JA, Lopez-Tarruella S, García-Paredes B, Rodríguez-Lajusticia L, Villalobos L, Díaz-Rubio E. **Osteonecrosis of the jaws as an adverse bisphosphonate event: three cases of bone metastatic prostate cáncer patients treated with zoledronic acid.** Med Oral Cir Bucal 2007; 12: E351-6

Hansen T, Kunkel M, Weber A, Kirkpatrick CJ. **Osteonecrosis of the jaws in patients treated with bisphosphonates–histomorphologic analysis in comparison with infected osteoradionecrosis.** J Oral Pathol Med 2006; 35: 155–160

Hansen T, Kunkel M, Springer E, Walter C, Weber A, Siegel E, Kirkpatrick CJ. **Actinomycosis of the jaws—histopathological study of 45 patients shows significant involvement in bisphosphonate-associated osteonecrosis and infected osteoradionecrosis.** Virchows Arch 2007; 451:1009–1017.

Hess LM, Jeter JM, Benham-Hutchins M, Alberts DS. **Factors associated with osteonecrosis of the jaw among bisphosponate users**. Am J Med 2008; 121(6): 475–483.

Hewitt C, Farah CS. **Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a comprehensive review.** J Oral Pathol Med 2007; 36: 319–28.

Hikita H, Miyazawa K, Tabuchi M, Kimura M, Goto S. **Bisphosphonate administration prior to tooth extraction delays initial healing of the extraction socket in rats.** J Bone Miner Metab 2009; 27:663–672.

Khamaisi M, Regev E, Yarom N, Avni B, Leitersdorf E, Raz I, et al. **Possible Association between Diabetes and Bisphosphonate-Related Jaw Osteonecrosis.** JCEM 2006; 92(3): 1172-1175.

Kavanagh KL, Guo K, Dunford JE, Wu X, Knapp S, Ebetino FH. **The molecular mechanism of nitrogen-containing bisphosphonates as antiosteoporosis drugs.** PNAS 2006; 103 (20): 7829–7834.

Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D. et al. **Bisphosphonate- Associated Osteonecrosis of the Jaw: Report of a Task Force of the American Society for Bone and Mineral Research.** J Bone Miner Res 2007; 22: 1479-1491.

Kimmel DB. **Mechanism of Action, Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile, and Clinical Applications of Nitrogen-containing Bisphosphonates.** J Dent Res 2007; 86(11):1022-1033.

Kyrgidis A, Triaridis S. Comment on: **Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extracctions mimic bisphosphonate- related osteonecrosis in cancer patients.** Oral Oncology 2009; 45: e38.

Kyrgidis A. **Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in randomized clinical trials.** Breast Cancer Res Treat 2010; 119:253-254.

Kyrgidis A, Vahtsevanos K. **Osteonecrosis of the jaw in patients receiving oral bisphosphonates.** Osteoporos Int 2010; 21: 535-536.

Klingenstein G, Levy RN, Kornbluth A, Shah AK, Present DH. **Inflammatory bowel disease related osteonecrosis: report of a large series with a review of the literatura.** Aliment Pharmacol Ther 2005; 21: 243–249.

Lam DK, Sándor GK, Holmes HI, Evans AW, Clokie CM. **A Review of Bisphosphonate-Associated Osteonecrosis of the Jaws and Its Management.** JCDA 2007; 73 (5): 417-22.

Lipton A, Theriault RL, Hortobagyi GN, Simeone J, Knight RD, Mellars K. **Pamidronate Prevents Skeletal Complications and Is Effective Palliative Treatment in Women with Breast Carcinoma and Osteolytic Bone Metastases Long Term Follow-Up of Two Randomized, Placebo-Controlled Trials**. Cancer 2000; 88 (5): 1082-90.

Little DG, Peat RA, Mcevoy A, Williams PR, Smith EJ, Baldock PA. **Zoledronic Acid Treatment Results in Retention of Femoral Head Structure After Traumatic Osteonecrosis in Young Wistar Rats**. J Bone Miner Res 2003; 18:2016–2022.

Mariotti A. **Bisphosphonates and Osteonecrosis of the Jaws.** *Journal of Dental Education* 2008; *72 (8): 919-29.*

Marx RE. **Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic.** J Oral Maxillofac Surg 2003; 61:1115-1118.

Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. **Bisphosphonate-Induced Exposed Bone (Osteonecrosis/Osteopetrosis) of the Jaws: Risk Factors, Recognition, Prevention, and Treatment.** J Oral Maxillofac Surg 2005; 63:1567–1575.

Mariotti A. **Bisphosphonates and Osteonecrosis of the Jaws.** J Dent Educ 2008; 72(8): 919-929.

Melo MD, Obeid G. **Osteonecrosis of the Maxilla in a Patient with a History of Bisphosphonate Therapy.** J Can Dent Assoc 2005; 71(2):111–113.

Merigo E, Manfredi M, Meleti M, Corradi D, Vescovi P. **Jaw bone necrosis without previous dental extractions associated with the use of bisphosphonates (pamidronate and zoledronate): a four-case report.** J Oral Pathol Med 2005; 34: 613–617.

Migliorati CA, Casiglia J, Epstein J, Jacobsen PL, Siegel MA, Woo SB. **Managing the care of patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis: An American Academy of Oral Medicine position paper.** J Am Dent Assoc 2005; 136:1658-68.

Montazeri AH, Erskine JG, McQuaker IG. **Oral sodium clodronate induced osteonecrosis of the jaw in a patient with mieloma.** Journal compilation 2007; 79: 69–71.

Montoya JM, Parra P, Ramírez P, Morata IM, Mompeán MC, Calvo JL. **Dental implants in patients treated with oral bisphosphonates. A bibliographic Review.** Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2010; 15 (1):e65-9.

Naik NH, Russo TA. **Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: The Role of Actinomyces.** Clinical Infectious Diseases 2009; 49: 1729-32.

Pazianas M, Miller P, Blumentals WA, Bernal M, Kothawala P. A Review of the **Literature on Osteonecrosis of the Jaw in Patients with Osteoporosis Treated with Oral Bisphosphonates: Prevalence, Risk Factors, and Clinical Characteristics.** Clin Ther 2007; 29:1548-1558.

Pires FR, Miranda ÁMMA, Cardoso ES, Cardoso AS, Fregnani ER, Pereira CM, et al. **Oral avascular bone necrosis associated with chemotherapy and biphosphonate therapy.** Oral Diseases 2005; 11, 365–369.

Polizzotto MN, Cousins V, Schwarer AP. **Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the auditory canal.** British Journal of Haematology 2005; 132: 114-17.

Rogers MJ, Gordon S, Frith JC, Coxon FP, Dunford J, Thompson K. **New insights into the molecular mechanisms of action of bisphosphonates.** Curr Pharm Des. 2003;9(32):2643-58.

Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. **Osteonecrosis of the Jaws Associated With the Use of Bisphosphonates: A Review of 63 Cases**. J Oral Maxillofac Surg 2004; 62:527-534.

Ruggiero SL, Drew SJ. **Osteonecrosis of the Jaws and Bisphosphonate Therapy**. J Dent Res 2007; 86(11):1013-1021.

Russell RGG, Watts NB, Ebetino FH, Rogers MJ. **Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy**. Osteoporos Int 2008; 19:733–759.

SEIOMM (Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral. Osteonecrosis de los Maxilares. Edicomplet 2009

Senel FC, Duman MK, Muci E, Cankaya M, Pampu AA, Ersoz S, Gunhan O. **Jaw bone changes in rats after treatment with zoledronate and pamidronate.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2010; 109(3):385-91.

Smith A, Kressley A, Saif MW. **Oral Osteonecrosis Associated with the Use of Zoledronic Acid: First Case of a Patient with Advanced Pancreatic Cancer and Bone Metastases.** J Pancreas (Online) 2009; 10(2):212-214.

Sonis ST, Walkins BA, Lyng GD, Lerman MA, Anderson KC. **Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cáncer patients.** Oral Oncology 2009; 45: 164-172.

Terpos E, Sezer O, Croucher PI, García-Sanz R, Boccadoro M, San Miguel J. **The use of bisphosphonates in multiple myeloma: recommendations of an expert panel on behalf of the European Myeloma Network.** Annals of Oncology 2009; 20: 1303–17.

Tong CK, Ho ST, Wong SL. **Osteonecrosis of the jaw after oral bisphosphonate for osteoporosis.** Hong Kong Med J 2010; 16: 145-148.

Wang J, Goodger NM, Pogre Mal. **Osteonecrosis of the Jaws Associated With Cancer Chemotherapy.** J Oral Maxillofac Surg 2003; 61:1104-1107.

Willey JS, Livingston EW, Robbins ME, Bourland JD, Tirado-Lee L, Smith-Sielicki H, Bateman TA. **Risedronate prevents early radiation-induced osteoporosis in mice at multiple skeletal locations.** Bone 46 (2010) 101–111.

Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. **Systematic Review: Bisphosphonates and Osteonecrosis of the Jaws.** Ann Intern Med 2006; 144:753-761.

Yang KH, Won JH, Yoon HK, Ryu JH, Choo KS, Kim JS. **High Concentrations of Pamidronate in Bone Weaken the Mechanical Properties of Intact Femora in a Rat Model.** Yonsei Medical Journal 2007; 48(4): 653-8.

Zarychanski R, Elphee E, Walton P, Johnston J. **Osteonecrosis of the Jaw Associated With Pamidronate Therapy.** American Journal of Hematology 2006; 81:73–75