



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA

**“EFECTO DEL NIVEL DE ENERGÍA DEL LÁSER TERAPÉUTICO
INFRARROJO SOBRE LA REPARACIÓN ÓSEA EN TIBIA DE
RATTUS NORVEGICUS”**

Tesis para optar el grado académico de:

MAESTRO EN ESTOMATOLOGÍA

Presentado Por:

C.D. JOSÉ WILLIAM CUBAS MOGOLLÓN

Asesor:

DR. ELIAS ERNESTO AGUIRRE SIANCAS

LIMA – PERÚ

2018

	Reglamento de Grados y Títulos
---	--------------------------------

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Lima, a los **01** días del mes de **JULIO** del **2020**, siendo las 08:00 horas, con la asistencia del Jurado de Tesis, Presidido por el **DR. FERNANDO ORTÍZ CULCA**, los miembros del Jurado **DRA. ANGELA QUISPE SALCEDO** Y **MG. CARMEN GARCÍA RUPAYA**. El Asesor de la Tesis **DR. ELÍAS AGUIRRE SIANCAS**; el **BACH. JOSÉ WILLIAM CUBAS MOGOLLÓN**, autor de la tesis Titulada: “**EFFECTO DEL NIVEL DE ENERGÍA DEL LÁSER TERAPÉUTICO INFRARROJO SOBRE LA REPARACIÓN ÓSEA EN TIBIA DE RATTUS NORVEGICUS**” con el fin de optar el Grado Académico de **MAESTRO EN ESTOMATOLOGÍA**.

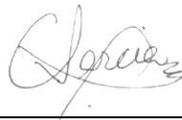
Concluida la exposición, se procedió a la evaluación y deliberación por parte del Jurado correspondiente, habiendo sido **APROBADO**. con el calificativo de **APROBADO . 15 (QUINCE)**..... Se extiende la presente acta en tres originales y siendo las 9:15 horas, se da por concluido el Acto Académico de Sustentación.




Presidente
DR. FERNANDO ORTÍZ CULCA
DNI: 07747839



Miembro
DRA ANGELA QUISPE SALCEDO
DNI: 41900187



Miembro
MG. CARMEN GARCÍA RUPAYA
DNI: 09075393



Asesor
MG. ELÍAS AGUIRRE SIANCAS
DNI: 10179548

DEDICATORIA

A mis padres, José Cubas Morales y Gladys Vivas Mogollón por todo el apoyo que me han dado durante estos años, por estar conmigo siempre, por creer en mí y darme todo su cariño.

A mi esposa Lucciana y mi hija Aria Lucia, las cuales son mi motivo constante de superación, y me acompañaron en todo el camino formando parte de esta meta.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la oportunidad de lograr esta meta, por estar siempre conmigo y darme la fuerza para seguir con cada uno de mis objetivos.

A mi asesor, Dr. Elías Aguirre Siancas por todo su apoyo, motivación y tiempo brindado para acompañarme en todo este camino, orientándome en esta investigación y sobre todo demostrándome su amistad.

A todos los profesores de la Maestría en Estomatología, porque cada uno de ellos fue parte de mi formación académica.

RESUMEN

OBJETIVO: Determinar el efecto del nivel de energía del láser terapéutico infrarrojo sobre la reparación ósea en tibias de *rattus norvegicus*.

MATERIALES Y MÉTODOS: Experimento donde 42 ratas se dividieron en 3 grupos de 12 animales (grupos A, B y C), y un grupo de 6 (grupo D). En los grupos A, B y C se realizaron osteotomías en las tibias de las patas izquierdas con fresas quirúrgicas de 4 mm de diámetro. Luego del procedimiento, al grupo A se le aplicó 1 Joule (J) de energía por medio de un láser infrarrojo. En el grupo B se aplicó de 3 J de energía. No se aplicó láser al grupo C (control positivo). La mitad de los roedores de los 3 grupos fueron sacrificados a los 15 días y el resto a los 30. El grupo D se sacrificó el primer día de experimentación, sin osteotomía ni aplicación de láser (grupo control negativo). Luego del sacrificio se obtuvo las biopsias para el análisis histopatológico.

RESULTADOS: El número de osteoblastos entre los grupos A, B y C tuvieron diferencia significativa a los 15 y 30 días; sin embargo, a los 15 días los grupos A y C mostraron mayor número de células, disminuyendo dicha cantidad a los 30 días.

Hubo diferencia estadística entre los 15 y 30 días en el número de osteocitos entre los grupos B y C; sin embargo, el grupo B presentó mayor cantidad celular a los 15 días, disminuyendo dicha cantidad considerablemente el día 30.

CONCLUSIONES: El empleo de 1 J de energía de láser infrarrojo tiene un efecto más estructurado y organizado en la proliferación celular que el empleo de 3 J respecto al proceso de reparación ósea evaluado a los 15 y 30 días.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To determine the effect of the energy level of the infrared therapeutic láser on bone repair in tibiae of *rattus norvegicus*.

MATERIALS AND METHODS: Experiment where 42 rats were divided into 3 groups of 12 animals (groups A, B and C), and a group of 6 animals (group D). In groups A, B and C, osteotomies were performed in the tibiae of the left legs with surgical drills 4 mm in diameter. After the procedure, group A was applied 1 Joule (J) of energy by means of an infrared láser. Group B was applied 3 J of energy. No láser was applied to group C (positive control). Half of the rodents in the 3 groups were sacrificed at the 15th day and the rest at the 30th day. Group D was sacrificed on the first day of experimentation, without osteotomy or láser application (negative control group). After sacrifice, biopsies were obtained for histopathological analysis.

RESULTS: The number of osteoblasts between groups A, B and C had a significant difference at the 15th day and the 30th day; however, at the 15th day, groups A and C showed a greater number of cells, said quantity decreasing considerably on day 30.

There was a statistical difference between the 15th day and the 30th day in the number of osteocytes between groups B and C; however, group B showed a greater number of cells at the 15th day, said quantity decreasing considerably on day 30.

CONCLUSION: The use of 1 J of infrared láser energy has more structured and organized effects on cell proliferation than the use of 3 J regarding the bone repair process evaluated at 15 and 30th days.

CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	OBJETIVOS	4
	1. OBJETIVO GENERAL	4
	2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
III.	HIPÓTESIS	5
IV.	METODOLOGÍA	6
	1. DISEÑO DE ESTUDIO	6
	2. POBLACIÓN Y MUESTRA	6
	3. CRITERIOS DE SELECCIÓN	7
	4. VARIABLES	7
	5. MÉTODO Y TÉCNICAS	8
	6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	14
V.	RESULTADOS	15
VI.	DISCUSIÓN	18
VII.	CONCLUSIONES	23
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
IX.	ANEXOS	29

I. INTRODUCCIÓN

Los sistemas láser son dispositivos que han ido alcanzando un constante progreso e inclusión en la odontología, siendo utilizados en diversas especialidades como periodoncia, implantología y ortodoncia.¹ Clasificándose en dos grupos de acuerdo a su potencia, los quirúrgicos o de alta potencia y los terapéuticos o de baja potencia, teniendo estos últimos un efecto biomodular, analgésico y antiinflamatorio.²

El mecanismo de acción consiste en modular el comportamiento celular obteniendo como resultado una absorción de energía en los tejidos edematosos.³ Respecto al lugar donde se produce la absorción de energía de los sistemas láser es necesario mencionar a los cromóforos o también denominados foto receptores, los cuales son grupos de moléculas interrelacionadas las cuales pueden ser enzimas, membranas celulares o cualquier otra sustancia extracelular que presente la capacidad de absorber la luz frente a una determinada longitud de onda. Por lo tanto la irradiación de células bajo una longitud de onda adecuada conllevará a la activación de componentes celulares produciendo reacciones químicas específicas.⁴

De acuerdo a la energía empleada el efecto del láser es en primera instancia a nivel superficial, alcanzando posteriormente zonas más profundas teniendo interacción con el tejido óseo.⁵ La energía es una magnitud física que en el sistema internacional se mide en Joule (J). En el equipo láser, la energía aplicada se obtiene de la multiplicación de la potencia del equipo por el tiempo de empleo del mismo. Así, la energía se expresa como: Energía (J)= Potencia (W) x Tiempo (s). El equipo empleado es un láser infrarrojo de baja potencia, el cual de acuerdo a su programación emite automáticamente 10 segundos por cada Joule, por lo tanto al emplear también 30 segundos serán 3 J el que nos brindará.⁶

El tejido óseo es un tipo de tejido conectivo especializado que contiene un componente mineral (cristales de hidroxapatita) el cual comprende células maduras delimitadas por una matriz extracelular que representa el 65% de su peso, además de agua y elementos orgánicos, donde el colágeno tipo I es el que resalta.⁷

Cuando se produce una lesión ósea, como una osteotomía o una fractura, se activa la reparación donde predominan los mecanismos de formación, debido a que el tejido que presenta lesión necesita una recuperación efectiva. Durante el transcurso de la reparación ósea los osteoblastos y las células osteoprogenitoras cumplen un papel primordial.⁸

En la reparación ósea las células osteoprogenitoras, se diferencian en osteoblastos (células formadoras de hueso) las cuales tienen un papel secretor y sintetizador. La matriz ósea rodea a los osteoblastos para luego mineralizarse, quedando estas células aisladas en pequeñas cavidades (osteoplasto), cuando este acontecimiento se produce se denomina osteocito.⁹ Los osteocitos son las células maduras del tejido; pueden comunicarse entre sí a través de largas prolongaciones citoplasmáticas situadas en estrechos canales denominados canalículos calcóforos, los osteocitos reciben nutrientes suficientes para sobrevivir y así mantener el adecuado metabolismo del hueso. Los osteoclastos son células grandes multinucleadas que derivan de los monocitos encontrándose adheridos a la superficie del hueso en zonas de resorción ósea activa, a menudo en depresiones que ellos mismos han excavado denominadas lagunas de Howship. Debido al conocimiento de la fisiología del metabolismo óseo para evaluar la reparación ósea en el presente estudio se tomaran como indicadores el conteo de osteocitos y osteoblastos debido al tiempo de experimentación.¹⁰⁻¹¹

En la clínica odontológica los láseres terapéuticos se emplean para procesos de reparación tisular y se clasifican de acuerdo a su longitud de onda en rojo e infrarrojo, situándose la franja del color rojo entre los 630 a 700 nm, mientras que los infrarrojos entre los 700 a 904 nm. El láser rojo se caracteriza por ser menos penetrante indicado para lesiones superficiales tales como reparo residual, cicatrización y drenaje local, por otro lado el láser infrarrojo es más penetrante debido a que ocasiona cambios en la polaridad de la biomembrana de las células, siendo el complemento de elección para el reparo neurológico y óseo.¹²⁻¹³ Diversas investigaciones han evidenciado resultados favorables respecto al uso del láser terapéutico infrarrojo como una herramienta para mejorar las respuestas de reparación ósea¹⁴⁻¹⁶ como el estudio de Azevedo¹⁸, donde el láser terapéutico con una dosis de 1 J tuvo un efecto positivo en la reparación ósea post – cirugía en tibias de ratas Wistar, evidenciando a los 14 días en las muestras donde se aplicó láser terapéutico infrarrojo trabéculas óseas maduras y una gran cantidad de osteoblastos en contraste a las muestras control. Así mismo, Park¹⁹ concluye que el uso del láser terapéutico infrarrojo con una dosis de 1 J incrementaría la formación ósea, resultado observable a la tercera semana del experimento. Coincidiendo con Balleza²⁰ quien concluye que la reparación ósea es estimulada con rapidez empleando el láser terapéutico infrarrojo de manera adecuada. Por otra parte, hay estudios donde no se evidencia mejora

con la aplicación del láser infrarrojo comparado con los controles.²¹⁻²² Por tal motivo es necesario realizar estudios que contribuyan a esclarecer y afianzar el uso de esta alternativa de tratamiento, estableciendo parámetros adecuados para generar respuestas biológicas en los tejidos dado que diversas investigaciones concluyen que la aplicación de dosis altas como 3 J tienen resultados positivos.

Por lo tanto el propósito de esta investigación será comprobar si existen diferencias entre aplicaciones de láser terapéutico de 1 J y 3 J debido a que es recomendable buscar una menor dosis de energía aplicable sobre tejidos vivos.

II. OBJETIVOS

1. Objetivo general

Determinar el efecto del nivel de energía del láser terapéutico infrarrojo sobre la reparación ósea en tibias de ratas albinas en dos tiempos de evaluación.

2. Objetivos específicos

2.1. Evaluar el efecto del nivel de energía de 1 J del láser terapéutico infrarrojo sobre la reparación ósea en tibias de ratas albinas a los 15 días.

2.2. Evaluar el efecto del nivel de energía de 1 J del láser terapéutico infrarrojo sobre la reparación ósea en tibias de ratas albinas a los 30 días.

2.3. Evaluar el efecto del nivel de energía de 3 J del láser terapéutico infrarrojo sobre la reparación ósea en tibias de ratas albinas a los 15 días.

2.4. Evaluar el efecto del nivel de energía de 3 J del láser terapéutico infrarrojo sobre la reparación ósea en tibias de ratas albinas a los 30 días.

III. HIPÓTESIS

Los niveles de energía de 1J y 3J tienen efectos positivos y similares sobre la reparación ósea.

IV. METODOLOGÍA

1. Diseño de estudio

Esta investigación fue de tipo experimental in vivo.

2. Población

La población estuvo conformada por ratas albinas machos (*Rattus norvegicus albinus*) de la cepa Holtzman entre 8 y 9 semanas de edad, con un peso de 250 - 380g obtenidas del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

2.1. Muestra

La muestra estuvo conformada por 42 ratas albinas machos (*Rattus norvegicus albinus*) de la cepa Holtzman entre 8 y 9 semanas de edad, con un peso de 250 – 380g, dicha muestra se dividió en 3 grupos (1J, 3J y control positivo) de 12 especímenes por grupo, los cuales se dividieron a su vez en 2 subgrupos de 6 ratas. El grupo control negativo estuvo conformado solo por 6 especímenes.

El número de integrantes de cada subgrupo de trabajo (6 roedores) se tomó de estudios similares respecto al uso de animales de experimentación los cuales emplearon el mismo número por cada subgrupo experimental.²³⁻²⁵

3. Criterios de selección

3.1. Criterios de inclusión

Ratas albinas machos (*Rattus norvegicus albinus*) de la cepa Holtzman criadas en el bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Ratas albinas entre 250 – 380g de peso.

Ratas albinas en buen estado de salud.

Ratas albinas entre 8 y 9 semanas de edad.

3.2. Criterios de exclusión

Ratas albinas que hayan tenido experiencias anteriores en estudios experimentales.

Ratas albinas que se encuentren enfermas o que en el desarrollo del experimento mueran.

4. Variables

4.1. Reparación Ósea:

Variable cuantitativa de razón, valorizada en número de células contabilizadas donde se evaluara el aspecto formativo del proceso de reparación ósea mediante el conteo de osteoblastos y osteocitos por campo de 400X.

4.2. Nivel de Energía:

Variable cualitativa ordinal medida J.

4.3. Tiempo de Evaluación:

Variable cualitativa, ordinal, medida y valorizada en días de sacrificio, día 15 y 30.
(Anexo 1)

5. Métodos y técnicas

5.1. Autorización y Consideraciones éticas

Se envió el proyecto del trabajo al comité de ética de la Universidad Científica del Sur, exponiendo y resaltando los cuidados que se tendrían para con los animales de experimentación.

El proyecto fue aprobado por el comité institucional de ética en investigación con animales y biodiversidad de la Universidad Científica del Sur, con dictamen:

179-2018-POS99. (Anexo 2)

5.2. Obtención de los especímenes de trabajo

Se utilizaron 42 ratas Albinas machos, obtenidos del Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Los animales se ubicaron en jaulas comunes con alimento balanceado de 17% de proteínas, bebedor compartido Ad Libitum, a una temperatura de 24 °C y con ventilación continua.

5.3. Lugar de trabajo

Los especímenes fueron trasladados del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia al laboratorio de fisiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde se realizó la cirugía, se contó con el apoyo de un especialista en el manejo del láser terapéutico, un médico veterinario, especialista en el manejo y anestesia de los animales y el encargado en la crianza de los animales en el Bioterio. Se programaron dos visitas al laboratorio de fisiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en la primera visita se trabajó con los grupos A y B de 8:00am a 2:00pm y dos días después se programó trabajar con los grupos C y D. Concluida la operación, tuvimos un tiempo de espera de 2 horas para que los animales se reincorporen y despierten de la anestesia para luego trasladarlos al bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

5.4. Selección de Grupos

Los animales fueron divididos en 4 grupos de la siguiente manera:

Grupo A: Conformado por 12 especímenes a los cuales se les realizó la cirugía y posteriormente se aplicó láser infrarrojo de 1 J, el presente grupo se dividió en 2 subgrupos:

A15: Conformado por 6 animales sacrificados a los 15 días.

A30: Conformado por 6 animales sacrificados a los 30 días.

Grupo B: Conformado por 12 especímenes a los cuales se les realizó la cirugía y posteriormente se aplicó láser infrarrojo de 3 J, el presente grupo se dividió en 2 subgrupos.

B15: Conformado por 6 animales sacrificados a los 15 días.

B30: Conformado por 6 animales sacrificados a los 30 días.

Grupo C (control positivo): Conformado por 12 especímenes, a los cuales solamente se les realizó la cirugía y no se les aplicó láser infrarrojo, el presente grupo se dividió en 2 subgrupos.

C15: Conformado por 6 animales sacrificados a los 15 días.

C30: Conformado por 6 animales sacrificados a los 30 días.

Grupo D (control negativo): Conformado por 6 especímenes, a los cuales no se les realizó la cirugía y tampoco se aplicó láser infrarrojo.

5.5. Preparación del Campo Quirúrgico

En el laboratorio de Fisiología de la UNMSM se aisló el espacio a trabajar con campos descartables, sobre los cuales se colocaron todos los animales a utilizar esterilizados. Además, se usó una camilla pequeña donde se apoyaron los animales durante el acto quirúrgico y un frontoluz para mejorar la visualización del lugar de trabajo, se usaron fichas de identificación para cada animal; anotando su grupo, peso, color y la aplicación o no del láser (Anexo 3).

5.6. Medicación Pre Anestésica

La primera condición del investigador que trabaja con animales de laboratorio es el respeto por la vida, el dolor o el sufrimiento que estos pueden padecer durante los trabajos experimentales, por lo tanto se debe considerar como objetivo importante minimizar estos cuadros ya que además el dolor y el estrés a nivel biológico tienden a alterar el balance homeostático del animal provocando cambios endocrinos e inmunológicos, disminuyendo el consumo de agua y alimentos, causando complicaciones postoperatorias.

Por lo tanto, se aplicó como medicación pre anestésica a cada animal una dosis de 4 mg por kilo de peso de Tramadol (Algen20[®]), fármaco de elección debido a su efecto analgésico de tipo opioide, el cual alivia rápidamente el dolor actuando sobre las células nerviosas específicas de la medula espinal y cerebro.²⁶⁻²⁷ (Anexo 4)

5.7. Inducción de los animales de experimentación

Inmediatamente después se aplicó una sedación mediante Ketamina (Ket-A-100[®]) de 30 mg por kilogramo + Xilacina (DORMI-XYL[®] 2) de 6 mg por kilogramo + Midazolam (Dormonid[®]) de 0.2 mg por kilogramo de peso esperando unos 10 a 15 minutos hasta que se observen los efectos de los fármacos en la sedación del espécimen.²⁸ (Anexo 5)

5.8. Aplicación de crema depiladora

Se procedió a aplicar crema depiladora corporal (Depile – Aloe Vera y Argón, Veet®) en las patas izquierdas de los animales de experimentación, esperando 5 minutos para poder retirar el pelo de la zona a intervenir con una gasa estéril. (Anexo 6)

5.9. Cirugía en animal de experimentación

Previamente se realizó un piloto donde se confirmó la dosis farmacológica adecuada, la cual posteriormente se aplicó a todos los grupos de experimentación, durante el piloto se monitoreo los signos vitales mediante la observación de la respiración del animal y de su frecuencia cardiaca. Los animales empleados en la prueba piloto sobrevivieron sin problemas a los fármacos expuestos.

Adicionalmente se afinó el procedimiento experimental, eligiendo como zona de trabajo la tibia del animal debido al mejor acceso y visibilidad anatómica del área, disminuyendo el tiempo quirúrgico y posibles lesiones en tejidos circundantes.

Se procedió a medir la longitud de la tibia izquierda de cada rata estableciendo un punto medio donde se realizaron incisiones longitudinales a lo largo del eje de las tibias con un bisturí convencional número 15 (Elite® – Surgical Blades) en la zona anterior de la pata trasera de los animales (Anexo 7), exponiendo el tejido muscular para luego realizar el decolado del periostio con un periostotomo Williger (Carl Martin®) el cual presentaba 160 mm de largo y una punta activa 8 mm de ancho (Anexo 8).

Posteriormente se realizaron perforaciones de 2 segundos en las tibias con fresas quirúrgicas de marca PRIMA CLASSIC® de 4 mm de la casa dental Prima Dental, introduciéndolas con ayuda de un adaptador en un equipo DREMEL 3000, trabajando con irrigación constante de suero fisiológico (Cloruro de Sodio 0,9%), el cual fue colocado en una jeringa de 10 centímetros cúbicos Omnifix® (Anexo 9).

Posteriormente, en los grupos A y B se procedió con la aplicación del láser terapéutico infrarrojo directamente en la zona intervenida (Anexo 10), con las energías mencionadas anteriormente, para luego continuar con la colocación de sutura reabsorbible 4/0, punta cortante (medipac®) en la zona de intervención (Anexo 11).

En el grupo control positivo (Grupo C) no se aplicó dispositivo alguno por lo tanto inmediatamente después de la cirugía se procedió con la sutura, mientras que en el grupo D no se realizó cirugía ni se aplicó dispositivo alguno .¹⁷

5.10. Aplicación del láser terapéutico infrarrojo

Se aplicó inmediatamente después de la intervención quirúrgica (grupo A) el láser terapéutico infrarrojo THERAPY XT - DMC, de AsGaAl, con una longitud de onda de 808 nm, potencia de 100 mW, empleando 1 Joule de energía, área del spot de 1 cm² por 10 segundos, tiempo empleado debido a que los equipos láser infrarrojos se encuentran programados a emitir luz 10 segundos por joule empleado, se aplicó de forma puntual, a contacto y emisión modo continuo.

Se repitió el procedimiento para el grupo B empleando una longitud de onda de 808 nm y una potencia de 100 mW; sin embargo, aplicando 3 Joule de energía, área del spot de 1 cm² por 30 segundos debido a la elección de 3 Joule que se programó en el equipo láser infrarrojo, se aplicó de forma puntual, a contacto y emisión modo continuo. (Anexo 8)

5.11. Aplicación de Fentalino como analgésico post cirugía

Para aliviar el dolor post quirúrgico se administró Fentalino (Fentanyl[®]) con una dosis de 0.01 mg/kg por vía intraperitoneal, fármaco agonista sintético opioide utilizado por sus acciones de analgesia y anestesia, produciendo anestesia principalmente a través de la activación de tres receptores estero específicos pre sinápticos y post sinápticos los cuales se encuentran principalmente en el sistema nervioso. 29-31

5.12. Eutanasia de animales de experimentación

Los animales de experimentación del grupo D (control negativo) se sacrificaron el primer día como lectura basal, mientras que los animales de los grupos A, B y C se sacrificaron a la mitad de ellos a los 15 y a la otra mitad a los 30 días después de la intervención quirúrgica, se les administro una sobredosis de 150 mg/kg de peso de Pentobarbital Sódico (Penta-Hypnol[®])³² esperando a que desaparezcan los signos vitales.

5.13. Obtención de muestras y preparación de láminas histológicas

Se realizó las separaciones de las extremidades izquierdas de los especímenes, colocándolas en distintos frascos rotulados que contenían formol al 10% distribuyéndolas de acuerdo a los grupos que conformaban.

Posteriormente en cada muestra se realizó una marca en la zona intervenida de la tibia de cada animal, sirviendo de guía para la disección, la cual se trabajó con un margen de 6 mm de la región intervenida quirúrgicamente, las muestras se fijaron en solución salina tamponada con fosfato al 10% durante 24 horas, luego se sometió a descalcificación con ácido etilendiaminotetraacético a temperatura ambiente durante 5 a 6 semanas. Luego las muestras fueron deshidratadas con etanol y embebidos en parafina, posteriormente cortadas en secciones de 5 mm empleando un micrótopo (Kedee KD2258) y teñidos con hematoxilina y eosina.

5.14. Lectura de láminas histológicas.

Las láminas histológicas fueron analizadas por un especialista, en el Laboratorio de patología de la Universidad Científica del Sur en un microscopio Óptico ALPHAOPTICS, realizando primero un aumento de 10x para obtener una vista panorámica de la zona para posteriormente visualizar la lámina a un aumento de 400x de la zona intervenida dentro de la misma área. La lectura se realizó por conteo celular de osteoblastos y osteocitos. Para obtener la lectura de cada lámina se fotografiaron 3 áreas diferentes pero de la misma zona intervenida de cada animal y luego del conteo celular de cada fotografía se sacó el promedio de las tres fotografías y ese fue el valor de osteoblastos y osteocitos para cada lámina de cada espécimen, dicho procedimiento se tomó de estudios publicados en revistas en Scopus y en

SciELO que trabajaron el mismo indicar de conteo celular.^{10-11,33-34} (Anexo 12)

6. Análisis estadístico

El procesamiento y análisis de los datos se realizó por medio del programa estadístico SPSS v23. Se realizó un análisis descriptivo de las variables de estudio en los dos momentos de evaluación por medio de medidas de resumen (valor mínimo, máximo, media y desviación estándar). Además, se realizó un análisis bivariado, determinando en primer lugar, la distribución normal de los datos por medio de la prueba de Shapiro-Wilk. Para la comparación intragrupos; a los 15 y 30 días, de las variables de estudio se aplicó la prueba t de Student para muestras relacionadas, mientras que para la comparación intergrupos se aplicó la prueba de ANOVA de un factor, verificándose la homocedasticidad de los datos por medio de la prueba de Levene. Para la comparación pareada se empleó la prueba de Tukey. Las pruebas se trabajaron a un nivel de significancia de 5%.

V. RESULTADOS

Se observa en la Tabla 1 y 2 el número de osteoblastos y de osteocitos a los 15 y 30 días respectivamente

TABLA 1

Comparación del número de osteoblastos a los 15 y 30 días

Tiempo de Evaluación	Grupo	n	Mínimo	Máximo	Media	DE*
15 días	1 J	6	53	79,3	61,4	9,6
	3 J	6	18	32,8	26,2	5,3
	Control +	6	51,3	89,4	68,4	13,5
	Control -	6	16,6	29,6	22,0	4,8
30 días	1 J	6	15	27	20,9	4,4
	3 J	6	12,4	25	17,9	4,7
	Control +	6	21,6	34	29,2	4,1
	Control -					

*DE= Desviación estándar

TABLA 2

Comparación del número de osteocitos a los 15 y 30 días

Tiempo de Evaluación	Grupo	n	Mínimo	Máximo	Media	DE*
15 días	1 J	6	32	43	38,0	4,0
	3 J	6	35	61	48,7	10,0
	Control +	6	12,6	34,3	24,7	7,9
	Control -	6	31,3	46	41,1	5,6
30 días	1 J	6	35	60	43,8	8,9
	3 J	6	28	41,2	34,9	4,7
	Control +	6	40	50,3	45,8	4,4
	Control -					

*DE= Desviación estándar

Luego de realizar la prueba de normalidad, se aplicó la prueba de Shapiro – Wilk donde se obtuvieron en todos los casos valores mayores a 0.05; por lo tanto, se acepta que los datos en todos los casos tengan distribución normal. (Anexo 13,14)

En la tabla 3 y 4 se evalúan los resultados dentro de cada grupo experimental a los 15 y 30 días para osteoblastos (Tabla 3) también 15 y 30 días para osteocitos (Tabla 4).

TABLA 3

Comparación intragrupos del número de osteoblastos entre los 15 y 30 días

Grupo	15 d			30 d			
	N	Media	DE*	N	Media	DE*	Valor p†
1 J	6	61,4	9,6	6	20,9	4,4	<0,001
3 J	6	26,2	5,3	6	17,9	4,7	0,009
Control +	6	68,4	13,5	6	29,2	4,1	<0,001

*DE= Desviación estándar

† Prueba t de Student para muestras relacionadas

TABLA 4

Comparación intragrupos del número de osteocitos entre los 15 y 30 días

Grupo	15 d			30 d			
	N	Media	DE*	n	Media	DE*	Valor p†
1 J	6	38,0	4,0	6	43,8	8,9	0,173
3 J	6	48,7	10,0	6	34,9	4,7	0,022
Control +	6	24,7	7,9	6	45,8	4,4	0,004

*DE= Desviación estándar

† Prueba t de Student para muestras relacionadas

Se observa la comparación entre los 4 grupos experimentales en la tabla 5 y tabla 6 donde se aplicó la prueba de ANOVA y la prueba de Tukey

TABLA 5
Comparación de los 4 grupos experimentales a los 15 días

Grupo	Osteoblasto			Valor p†	Osteocito			Valor p†
	n	Media‡	DE*		n	Media‡	DE*	
1 J	6	61,4 ^A	9,6	<0,001	6	38,0 ^A	4,0	<0,001
3 J	6	26,2 ^B	5,3		6	48,7 ^A	10,0	
Control +	6	68,4 ^A	13,5		6	24,7 ^B	7,9	
<u>Control -</u>	6	22,0 ^B	4,8		6	41,1 ^A	5,6	

*DE= Desviación estándar

† Prueba de ANOVA de un factor

‡ Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas

TABLA 6
Comparación de los 4 grupos experimentales a los 30 días

Grupo	Osteoblastos			Valor p†	Osteocito			Valor p†
	N	Media‡	DE*		n	Media‡	DE*	
1 J	6	20,9 ^A	4,4	0,002	6	43,8 ^{A,B}	8,9	0,032
3 J	6	17,9 ^A	4,7		6	34,9 ^A	4,7	
Control +	6	29,2 ^B	4,1		6	45,8 ^B	4,4	
Control -	6	22,0 ^{A,B}	4,8		6	41,1 ^{A,B}	5,6	

*DE= Desviación estándar

† Prueba de ANOVA de un factor

‡ Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas

VI. DISCUSIÓN

El presente estudio estuvo conformado por 42 ratas albinas machos de la cepa Holtzman, las cuales se dividieron en 3 grupos (1J, 3J y control positivo) de 12 especímenes por grupo, los cuales se dividieron a su vez en 2 subgrupos de 6 ratas. El grupo control negativo estuvo conformado solo por 6 especímenes.

En los grupos A, B y C se midió la longitud de la tibia de cada espécimen estableciendo un punto medio donde se realizaron incisiones longitudinales a lo largo del eje de las tibias para luego aplicar en los grupos A y B láser terapéutico infrarrojo de AsGaAl. En el grupo A se aplicó el láser con una longitud de onda de 808 nm, potencia de 100 mW y 1 Joule de energía durante 10 segundos. En el grupo B se repitió el procedimiento empleando una longitud de onda de 808 nm y una potencia de 100 mW, sin embargo empleando 3 joule de energía durante 30 segundos, al grupo C no se le aplicó dispositivo alguno, mientras que al grupo D conformado por 6 especímenes, no se le realizó procedimiento quirúrgico en la tibia y fueron sacrificados desde el primer día de la experimentación, para conformar el control negativo de donde se obtuvo la lectura basal de osteocitos y osteoblastos.

Los grupos A, B y C se albergaron posteriormente a la cirugía en el bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, donde se establecieron dos tiempos de sacrificio, 15 y 30 días, para luego realizar la elaboración de las láminas y conteo histológico de osteoblastos y osteocitos.

En la comparación intragrupos entre los 3 grupos experimentales, respecto al número de osteoblastos se evidenció que los 3 grupos presentaron diferencias significativas entre los 15 y 30 días de evaluación. Por otro lado, los grupos de 1 J y control positivo presentaron una mayor cantidad del número de osteoblastos a los 15 días de evaluación, número que disminuyó al día 30 de investigación, debido a que el proceso de reparación se encontraba avanzado y muchas de estas células (osteoblastos) maduraron. Como se sabe los osteoblastos son células que se encuentran en las etapas iniciales del proceso de formación ósea, mientras que los osteocitos aparecen cuando el tejido se encuentra en un estado de maduración.⁵ Por otra parte, en la lectura del día 15 en el grupo de 3 J se evidenció un menor número de osteoblastos. Probablemente la dosis energética aplicada sobre tejidos vivos pudo contribuir a la disminución o retraso de la reparación ósea.

En la comparación intragrupos entre los 3 grupos experimentales respecto al número de osteocitos entre los 15 y 30 días se observa que el único grupo sin diferencias estadísticas es el grupo 1 J. Además, el grupo de 3 J a los 15 días de estudio presentó una mayor cantidad de osteocitos, la cual disminuye considerablemente al día 30, presentando diferencia estadística evidenciando un declive respecto al proceso de maduración ósea basado en el conteo de osteocito. Además, los grupos de 1 J y control positivo a los 15 días presentan una menor cantidad de osteocitos en comparación al grupo 3 J; sin embargo, a los 30 días los grupos de 1J y control positivo evidenciaron un aumento respecto al número de osteocitos, lo cual se relacionaría con una reparación células más ordenada, resaltando la similitud en el proceso óseo entre el grupo de 1 J y el grupo control positivo. Por lo tanto una mayor potencia no necesariamente implica un mejor comportamiento en la reparación por el comportamiento celular observado en el grupo 3 J.

En la comparación entre los 4 grupos experimentales, respecto al número de osteoblastos a los 15 días se encontró similitud entre el grupo 1 J con el grupo control positivo, y entre el grupo 3 J con el grupo control negativo. Resaltando que el número de osteoblastos fue mayor en los grupos 1 J y control positivo con respecto a los otros 2 grupos de manera significativa. Probablemente la dosis de 3 J fue excesiva sobre el tejido y ello originó una menor reparación en dicho grupo al considerar el conteo de osteoblastos.

Al evaluar los 4 grupos experimentales, respecto al conteo de osteoblastos a los 30 días se observa que el grupo 3 J tuvo una menor cantidad de osteoblastos siendo dicha diferencia significativa al compararlo con el grupo control positivo. Además, no hubo diferencia estadística entre los grupos 1 J, 3 J, y control negativo, ni entre los grupos 1 J, control positivo y control negativo. De todo ello se destaca que la reparación ósea en el grupo 3 J tuvo un comportamiento deficiente con respecto al resto.

En la comparación entre los 4 grupos experimentales, respecto al número de osteocitos a los 15 días, se encontró que los grupos de 1 J, 3 J y el grupo control negativo no tuvieron diferencia significativa entre ellos; sin embargo, si se encontró diferencia estadística entre la menor cantidad de osteocitos entre el control positivo y los otros 3 grupos a los 15 días. Podría entenderse que la falta de estímulo en el grupo control positivo, a diferencia de los grupos de 1 J y de 3 J, contribuye a que este grupo presente una menor cantidad de osteocitos a diferencia de los grupos tratados con láser.

Al evaluar los 4 grupos experimentales, respecto al conteo de osteocitos a los 30 días, se observa que el grupo 3 J tuvo menor cantidad de osteocitos siendo dicha diferencia significativa al compararlo con el grupo control positivo. Por otro lado, no hubo diferencia estadística entre los grupos 1 J, 3 J y control negativo, ni entre los grupos 1 J, control positivo y control negativo. Destacando nuevamente que la reparación ósea en el grupo 3 J tuvo un comportamiento deficiente con respecto al resto teniendo como indicador el conteo de osteocitos a los 30 días.

El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del láser terapéutico infrarrojo de 808 nm empleando diferentes niveles de energía, 1 J y 3 J, se cree que cuanto mayor es la intensidad de energía se puede obtener un mejor efecto bioestimulante durante el proceso de reparación ósea; sin embargo, los hallazgos del estudio evidenciaron que el láser infrarrojo con una energía elevada puede no tener un efecto inductivo adecuado durante el proceso de reparación ósea. Nuestro estudio concuerda con Kerem¹⁴, el cual trabajó con 3 distintos niveles de energía, 5 J, 10 J y 20 J, teniendo 3 grupos experimentales y adicionalmente el grupo control positivo donde no se aplicó láser, no se encontraron resultados favorables en la comparación del número de osteocitos y osteoblastos entre los 3 grupos experimentales donde se aplicó láser terapéutico infrarrojo a los 30 y 60 días del estudio. Por otro lado el estudio de Shehab³⁵ donde se trabajó con 2 grupos de estudio, 1 J (grupo 1) y grupo control positivo donde no se aplicó láser infrarrojo (grupo 2), evidenció en el grupo 1 a partir del día 45 una gran cantidad de osteocitos pero también trabéculas óseas de forma irregular e inmaduras en el conteo histológico, cabe resaltar que el tiempo de aplicación fue de 5 minutos y en 2 tiempos determinados, inmediatamente después de la cirugía y luego de 72 horas pudiendo así inhibir o retardar la proliferación celular.

En nuestro estudio el grupo que evidenció un mejor desempeño respecto a la reparación celular fue el grupo A de 1 J, coincidiendo con los estudios de Park¹⁹ Azebedo¹⁸, y Cruz³⁶, donde el último autor en mención aplicó láser terapéutico infrarrojo en alveolos post exodoncia de ratas albinas empleando parámetros energéticos iguales a nuestro trabajo (1 J de energía durante 10 segundos), teniendo en sus resultados efectos más fisiológicos y significativos, evidenciando una mayor cantidad de osteoblastos y osteocitos a diferencia del grupo control positivo donde no se aplicó dispositivo alguno a los 14 días. Sin embargo Cruz¹⁶ aplicó láser terapéutico infrarrojo en dos ubicaciones del alveolo, por lo tanto tuvo dos zonas de aplicación del láser: uno directamente en el alveolo y el otro por la zona palatina,

empleando 1 J por cada punto, sumando en el área un total de 2 J, a diferencia de nuestro trabajo donde solo se empleó un punto de aplicación, debido al tamaño del defecto óseo en tibia, el cual fue mucho menor en diámetro a los alveolos post exodoncia en ratas alvinas. Por otro lado, el estudio de Azebedo¹⁸, trabajo con 3 grupos de experimentación, 1 J (grupo A), 6 J (grupo B) y grupo control positivo (grupo C) donde no se aplicó láser, encontrando en la comparación de los grupos experimentales resultados favorables en el grupo donde se aplicó 1 J, observando a los 14 días una mayor cantidad de osteoblastos y trabéculas óseas maduras en comparación al resto de los grupos.

Por otro lado Park¹⁹ empleo láser infrarrojo para promover aceleración de la reparación ósea, teniendo 2 grupos de evaluación, donde el grupo que recibió láser tuvo resultados favorables a los 14 días de evaluación a pesar de aplicar terapias láser posteriores a la del día de la intervención quirúrgica estableciendo 4 sesiones más a los 3, 5, 7 y 14 días empleando la misma dosis de 1 J en todas ellas. A diferencia de nuestro trabajo donde no se consideró aplicaciones adicionales debido a los posibles cuadros de stress que podrían producirse en los animales de experimentación durante el retiro respectivo de las jaulas para la aplicación del láser infrarrojo. Por lo tanto un mayor número de sesiones empleando bajas potencias podría estimular la reparación ósea.

A diferencia de nuestro estudio, Azebedo¹⁸ aplicó láser infrarrojo después de la sutura obteniendo resultados favorables a diferencia del grupo B donde se aplicó 6 J, demostrando así, que a pesar de la lejanía del láser con la zona de intervención, tuvo un efecto fisiológico positivo en la reparación ósea, en nuestro trabajo se aplicó láser infrarrojo directamente en la zona de intervención debido a que los puntos de sutura, y tejidos superpuestos al tejido óseo podrían causar una absorción de la luz previa, llegando la energía en menor cantidad al defecto realizado en la tibia de los animales de experimentación. Sin embargo evidenciamos que la energía de la luz aplicada sobre los tejidos superpuestos a una lesión o directamente en ella tendría de igual manera un efecto en la misma.

El tiempo de aplicación y número de sesiones debe ser considerado como un factor determinante en la respuesta tisular que deseamos conseguir. En el presente trabajo se realizó una sola sesión de láser infrarrojo, la cual fue inmediatamente después de la cirugía obteniendo un resultado más fisiológico y favorable en el grupo de 1 J, sin embargo cabe resaltar que se pudo considerar una sesión adicional posterior a la cirugía, empleando los

mismos parámetros energéticos para producir una mejor bioestimulación celular, aprovechando así la aplicación de modo continuo que caracteriza este láser, la cual nos permite garantizar que toda la energía empleada sea depositada totalmente en el tejido por los segundos de tiempo utilizado.

En base a lo expuesto y discutido podemos entender que la aplicación de 1 J de energía, tiene un efecto estructurado y organizado en la proliferación celular a diferencia del empleo de 3 J de energía respecto al proceso de reparación ósea, con lo cual la hipótesis planteada inicialmente se descarta, debido a que no se evidencio similitud de respuestas, observándose mejor respuesta en la aplicación de 1 J, respecto a 3 J de energía.

VII. CONCLUSIONES

El empleo de 1 J de energía del láser infrarrojo tiene un efecto más estructurado y organizado en la proliferación celular que el empleo de 3 J respecto al proceso de reparación ósea evaluado a los 15 y 30 días.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ruíz M, Ricse C, Villanueva V. Láser en ortodoncia. Rev. Estomatol Herediana.

- 2014; 23(3): 154-61.
2. Tost A, Arnabat D, Escoda G. Aplicaciones del Láser en Odontología. Rev.RCOE. 2004; 9(5):567-576.
 3. Holmberg P, Fabres S, Sánchez C. Uso del láser terapéutico en el control del dolor en Ortodoncia. Rev. Clin Rehabil Oral. 2011. Vol. 4(3); 114-116.
 4. Silva A, Simoes M, Nuñez S. Láser de Baixa Potencia: Principios básicos e aplicações clínicas na odontología. Vol 2. Ed.Brasil: Elsevier Editora Lta. 2012.
 5. Gartner L, Hiatt J. Histología Básica. Vol. 1.Ed.Barcelona: Editora Elsevier Saunders. 2011.
 6. Genovese J. Láser de baja intensidad. Aplicaciones terapéuticas en odontología. Ed.Brasil: Lovise Editora.2000.
 7. Mamalis AA, Cochran DL. The therapeutic potential of oxygen tension manipulation via hypoxia inducible factors and mimicking agents in guided bone regeneration. Arch Oral Biol. 2011; 56(12):1466-75.
 8. Dvorkin M, Cardinali D, Iermoli R. Bases Fisiológicas de la Práctica Médica. Ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana. 2010:783-90.
 9. Gómez de Ferraris M, Campos Mu-oz A. Embriología. Histología e Ingeniería Tisular Bucodental. Ed.3era ed. México DF: Editorial Médica Panamericana; 2009:381-7
 10. Aguirre E. Influencia de la hipoxia sobre el metabolismo óseo. Rol central del factor inducible por hipoxia. An Fac med. 2013;74(4):321-5
 11. Aguirre E. Influencia de la variación de la presión de oxígeno ambiental en la formación ósea en cuyes nativos del nivel del mar. An Fac med. 2014; 75(2):125-9.
 12. Lizarelli R. Z, Lizarelli R.F, Realiza H. Técnica empregando a láserterapia de baixa intensidade no tratamento básico periodontal. JBC J. Bras. clin. odontol. integr. 2003, n.41. p. 369-372.
 13. Rosane F. Z. Lizarelli. Protocolos Clinicos Odontologicos Uso Do Láser de Baixa Intensidade. Vol 2. 4ª Ed. Brasil. 2010.
 14. Kerem T, Yavuz T, Ersan O. The efficacy of low – level 940 nm láser therapy with different energy intensities on bone healing. Braz. Oral Res. 2017; 31 – 7.

15. Oliveira P, Sperandio E, Fernandes K. Comparação dos efeitos do laser de baixa potência e do ultrassom de baixa intensidade no processo de reparo ósseo em tibia de rato. *Rev Bras Fisioter.* 2011; 15(3):200-5.
16. Felix de Oliveira E, Pereira R, Leo Jorge. Efeito do laser de baixa potencia (ASGA, 940 nm) na reparacao óssea de fraturas em ratos. *Rev Bras Ortop.* 2012; 47(2):235-40.
17. Figueira J. Efeito da láserterapia de baixa potencia no reparo ósseo em ratos com diabetes mellitus tipo 1. [master's thesis]: Rio de Janeiro: Universidade Federal de Uberlandia; 2018.
18. Azevedo Silva R. Estudo Histologico comparativo da láserterapia de baixa intensidade com diodos de 660 nm e de 790 nm na reparacao ossea em ratos. [master's thesis]: Sao Paulo: Universidade Cruzeiro Do Sul. 2007.
19. Park JJ, Kang KL. Effect of 980-nm GaAlAs diode laser irradiation on healing of extraction sockets in streptozotocin-induced diabetic rats: a pilot study. *Lásers Med Sci.* 2012; 27(1):223-230.
20. Balleza B, Torres M, Guerrero del Ángel F. Efectos del laser de baja intensidad en la calcificación ósea. *Rev. Oral.* 2010; 33. 564-568.
21. Leo Jorge Alfredo, Da Cunha Alessandra, Pereira Prado Reuder. Efeito do laser de baixa potência (ASGA, 904 nm) na reparação óssea de fraturas em ratos. *Rev Bras Ortop.* 2012; 47(2):235-40.
22. Dayna N, Ferrari T, Pinotti L. Láser terapêutico no reparo ósseo de ratos submetidos à ausência de carga. *Vet. E. Zootec.* 2010; 17(2): 250-258.
23. Blaya DS, Guimarães MB, Pozza DH. Histologic Study of the Effect of Laser Therapy on Bone Repair. *J Contemp Dent Pract.* 2008 ;(9)6:041-048.
24. Ruiz Ramirez E, Victora Caldas Cueva, Aguirre Siancas E. Effects of NSAIDs and environmental oxygen pressure on bone regeneration. *J Oral Res* 2019; 8(2):152-158.
25. Chumpitaz Cerrate V, Franco Quino C, Aguirre Siancas E. Influencia de la presión de oxígeno ambiental sobre la regeneración ósea guiada. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral.* 2017; Vol. 10(2); 111-114.
26. Sousa AM, Ashmawi HA, Costa LS. Percutaneous sciatic nerve block with tramadol induces analgesia and motor blockade in two animal pain models. *Braz J Med Biol Res.* 2012; 45:147-52.

27. Al-Haideri. Comparison of local anesthetic efficacy of tramadol hydrochloride (with adrenaline) versus plain tramadol hydrochloride in the extraction of upper molar teeth. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013; 71:2035-8.
28. Fernandez W, Cervantes M, Rodriguez J, Sanchez S. Experimentación con animales de laboratorio. *Rev Perú Med Exp.* 2016; 33(2):288-99.
29. Tafur L, Serna A, Lema E. Fentanilo, un medicamento vigente. *Rev. Col. Anest.* 2010; Vol. 38. 68-83.
30. Coda B. Opioids. En Barash PG. *Clinical Anesthesia.* Fifth edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006. p. 353-83.
31. Wang H, Li EY, Xu GW, Wang CS, Gong YL, Li P. Intravenous fentanyl is exhaled and the concentration fluctuates with time. *J Int Med Res.* 2009; 37(4):1158- 66.
32. Battisti GA. Euthanasia of small laboratory animals. *Lab Animal Science.* 1997;34 (3), 228
33. Cáceres L. Alteraciones en el crecimiento y desarrollo óseo en ratas albinas sometidas a dieta deficiente en proteínas y diferentes concentraciones de hierro [master's thesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2004.
34. Fernandes M, Pinheiro P, Cantarelli A. Densitometric analysis of the autogenous demineralized dentin matrix on the dental socket wound healing process in humans. *Braz Oral Res.* 2006; 20(4):324-30.
35. Shehab A, Jandar S, Mahdi A. Effect of Diode Láser on Healing of Tooth Extraction Socket: An Experimental Study in Rabbits. *J. Maxillofac. Oral Surg.* 2016; 15(3):308–314.
36. Cruz P, Mallama S, Ramírez E. Efecto del láser terapéutico infrarrojo en la reparación ósea post-exodoncia en ratas albinas. *Rev. Estomatol. Herediana.* 2017; 27(2):101110.

IX. ANEXOS ANEXO 1: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DIMENSIONES	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES	TIPO	ESCALA	VALORES
Reparación Ósea	Proceso de formación Proceso de maduración Proceso de reabsorción	Proceso de sustitución del tejido perdido por medio de formación de células estructuradas y hueso nuevo.	Células formadoras Células maduras Células reabsorbidas	Cuantitativa	Razón	Cantidad de osteoblastos Cantidad de osteocitos Cantidad de osteoclastos
Láser infrarrojo	1 Joule de energía 3 Joule de energía	Grupo experimentación que se comparara para determinar el efecto del láser terapéutico.	Láser terapéutico infrarrojo de 880 nm	Cuantitativa	Discreta	Láser Infrarrojo Grupo donde no se aplica láser
Tiempo de evaluación		Magnitud física con la que medimos la duración o separación de acontecimientos.	-	Cualitativa	Ordinal	Días de sacrificio 10 y 20

ANEXO 2: APROBACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN CON ANIMALES Y BIODIVERSIDAD



Constancia N° 81-CIEI-AB-CIENTÍFICA-2019

El presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación con Animales y Biodiversidad de la Universidad Científica del Sur (CIEI-AB-CIENTÍFICA) da constancia que el proyecto de investigación, cuyos datos se registran a continuación, ha sido **aprobado**.

Código de registro: **179-2018-POS99**

Título: **Efecto del nivel de energía del láser terapéutico infrarrojo sobre la reparación ósea en fémur de *Rattus norvegicus***

Investigador(a): **Jose William Cubas Mogollón**

La aprobación del proyecto de investigación implica que el documento presentado a evaluación cumple con los lineamientos de Universidad en materia de investigación y ética, los cuales se sustentan en la normativa internacional vigente. Enfatizamos la importancia de tener la participación de un médico veterinario durante la parte experimental; asimismo, a realizar la investigación en el marco de lo dispuesto por la Ley N° 30407 "Ley de protección y bienestar animal".

En tal sentido, esta aprobación carecerá de valor si es que el proyecto de investigación arriba indicado es modificado de cualquier forma. Toda enmienda, añadido, eliminación o eventualidad (eventos adversos, etc.) posterior a la fecha de aprobación debe ser reportado al CIEI-AB-CIENTÍFICA.

La vigencia de la aprobación de este documento es de dieciocho (18) meses (**hasta el 24 de enero del 2021**), periodo en el que puede desarrollarse el proyecto. Cualquier trámite para su renovación deberá ser enviado antes del término de la vigencia de este documento, debiendo suspenderse todo desarrollo hasta que la renovación sea aprobada.

Villa El Salvador, 25 de julio de 2019



Méd. Vet. Gianmarco Paolo Rojas Moreno

Presidente

Comité Institucional de Ética en Investigación
con Animales y Biodiversidad



ANEXO 3: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ESPÉCIMEN N ° _____

PESO _____

TIPO DE EXPERIMENTACIÓN

LÁSER TERAPÉUTICO INFRARROJO (1 J) _____

LÁSER TERAPÉUTICO INFRARROJO (3 J) _____

CONTROL + _____

CONTROL - _____

TIEMPO DE EXPERIMENTACIÓN

15 DIAS _____

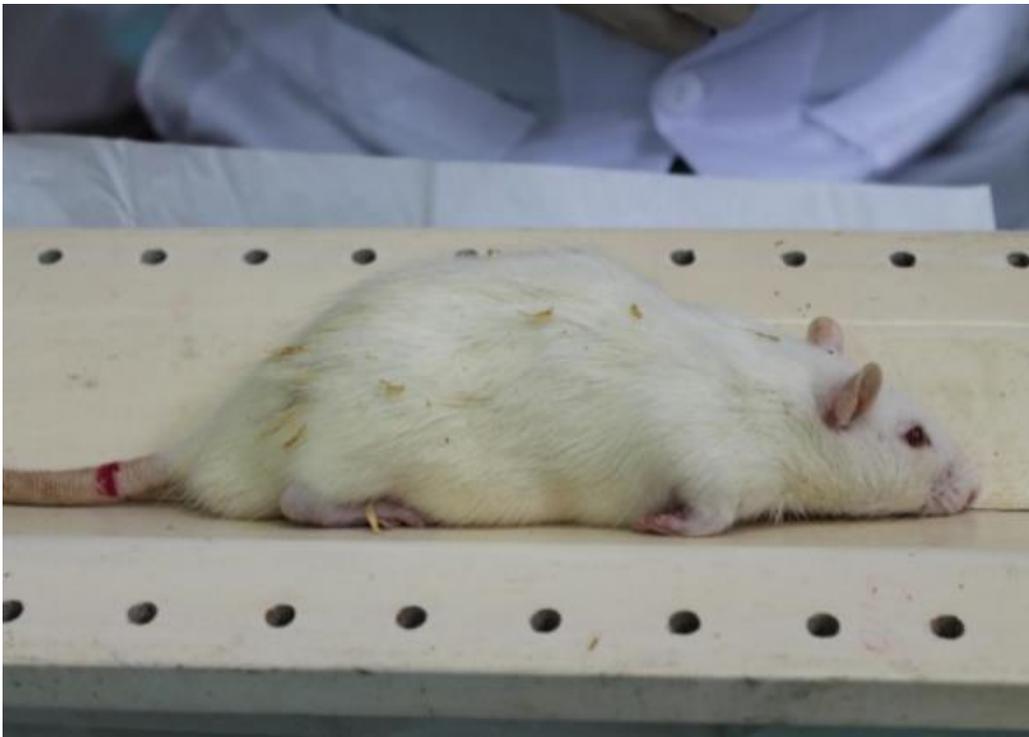
30 DIAS _ _____

ANEXO 4: MEDICACIÓN PRE ANESTÉSICA





ANEXO 5: INDUCCIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN



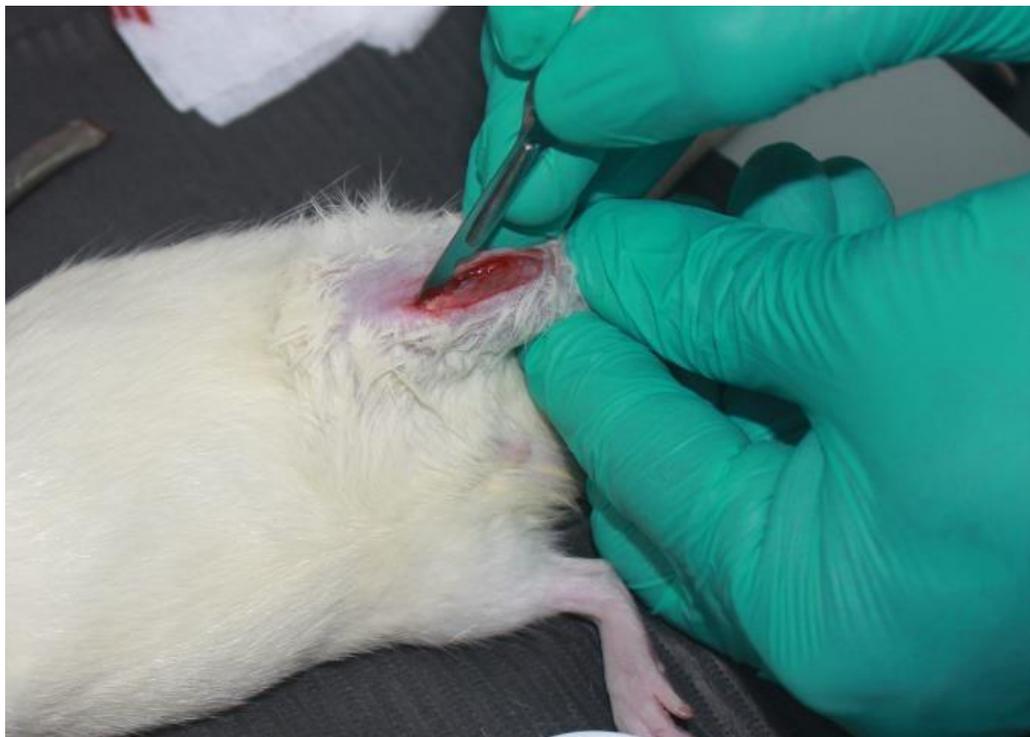


ANEXO 6: APLICACIÓN DE CREMA DEPILATORA





ANEXO 7: INCISIÓN EN EL ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN





ANEXO 8: EXPOSICIÓN DEL TEJIDO ÓSEO



ANEXO 9: OSTEOTOMÍA EN EL ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN



ANEXO 10: APLICACIÓN DEL LÁSER INFRARROJO EN LOS GRUPOS A Y B

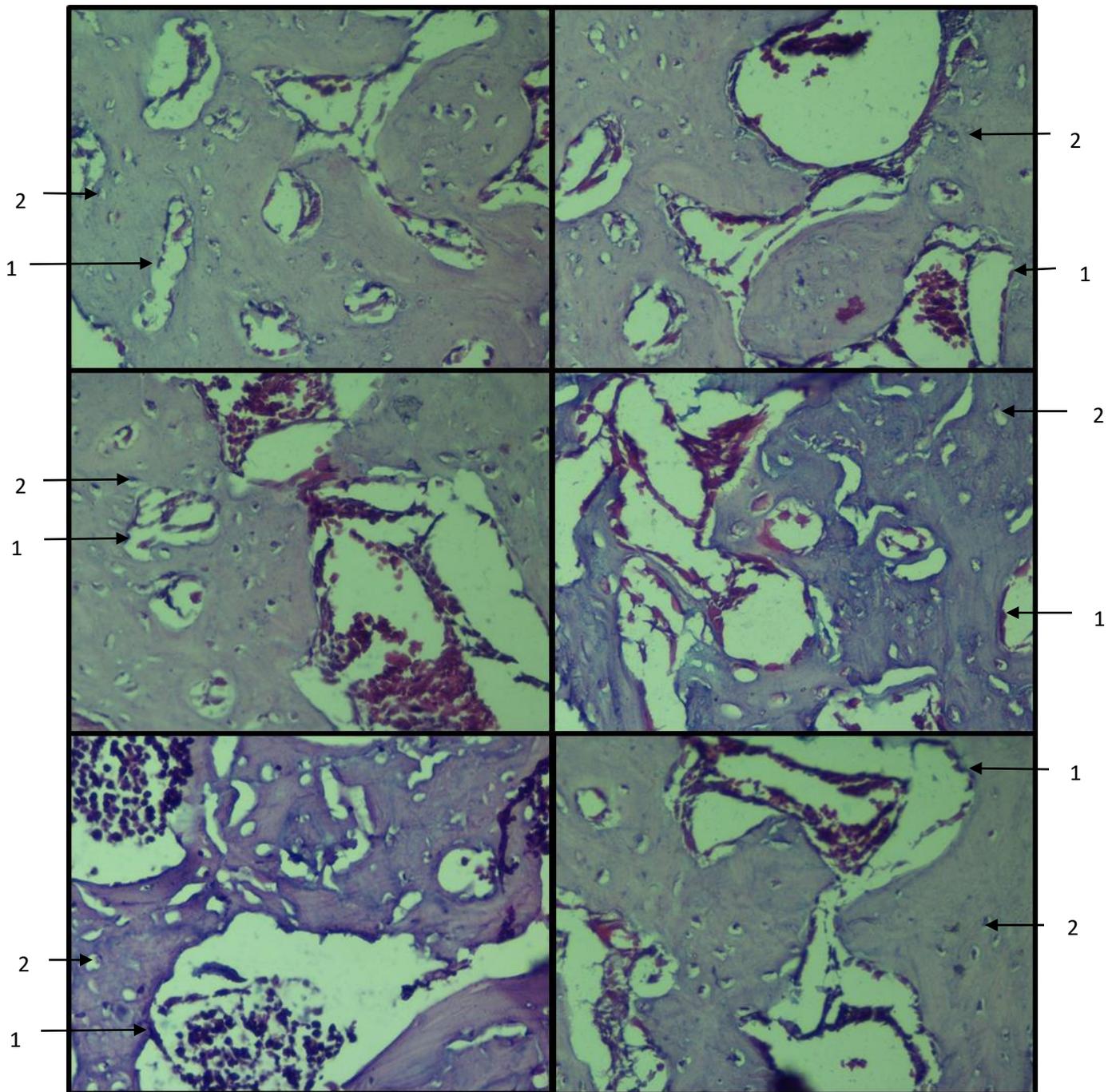


ANEXO 11: SUTURA EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN



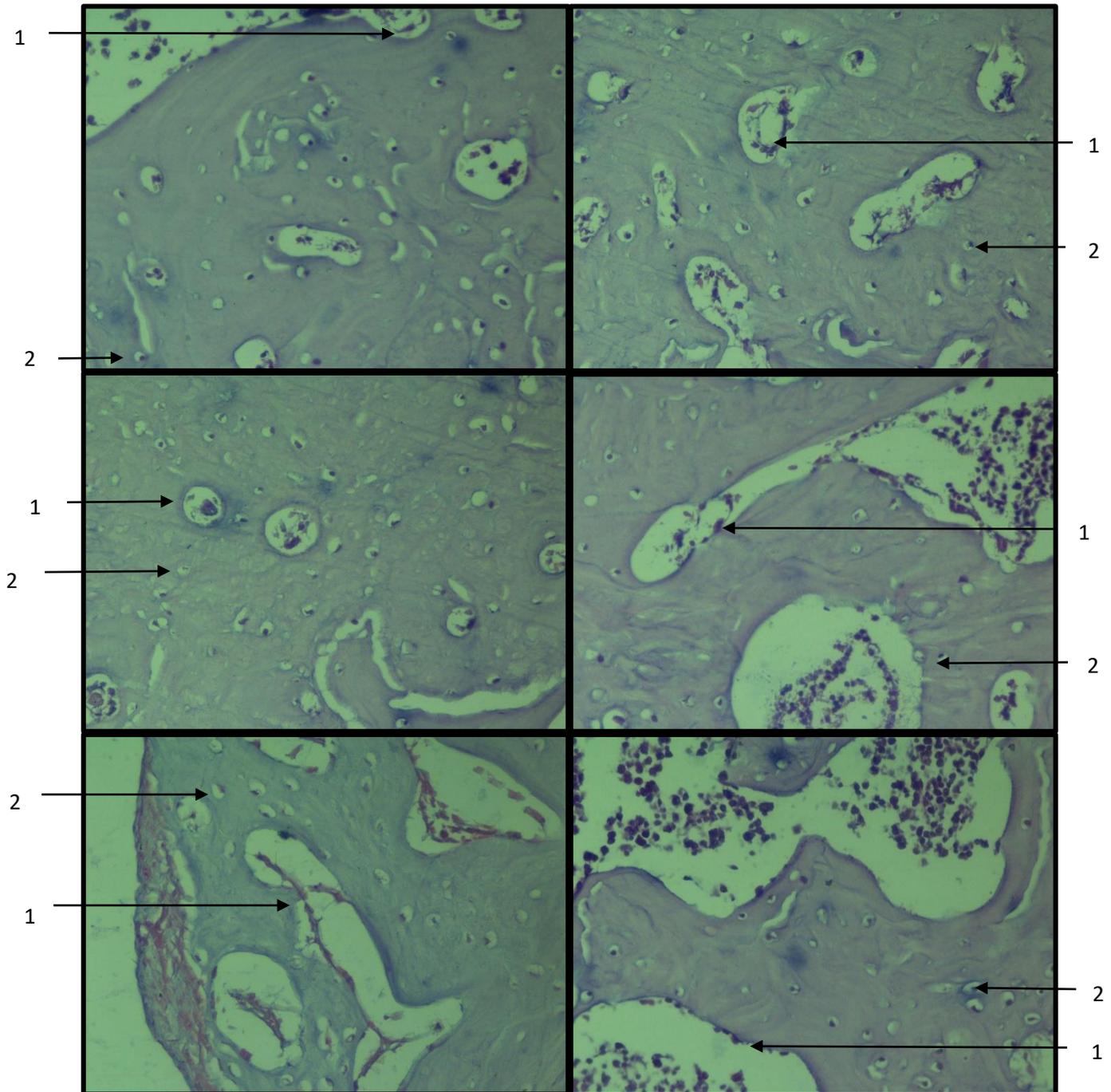
ANEXO 12: LAMINAS HISTOLOGICAS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

Grupo A de 1 Joule 15 días



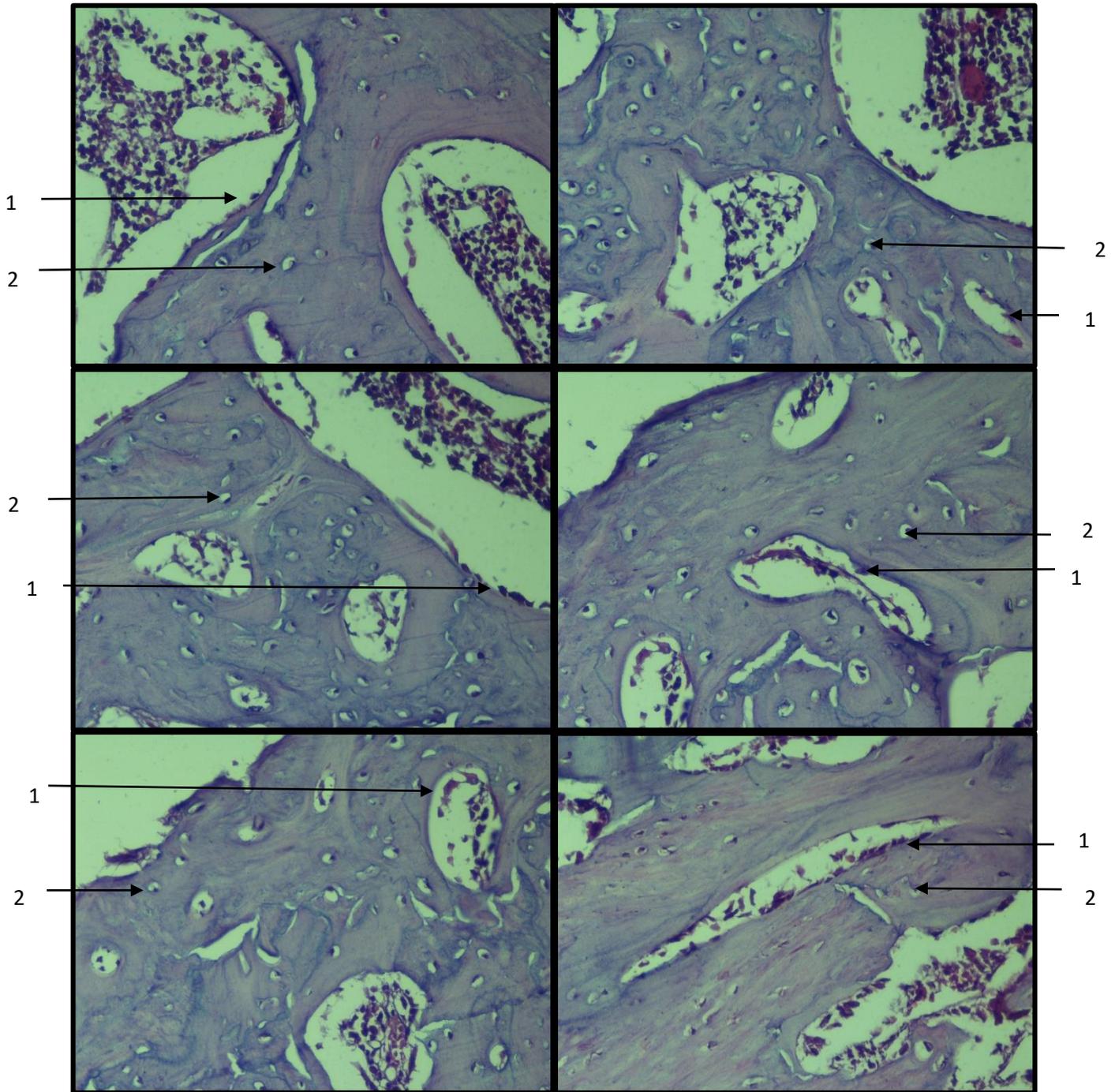
Micrografía de la zona representativa del grupo 1 J a los 15 días. Aumento de 400 x, usando la coloración hematoxilina eosina. Se observa la presencia de 1: osteoblastos y 2: osteocitos.

Grupo A de 1 Joule 30 días



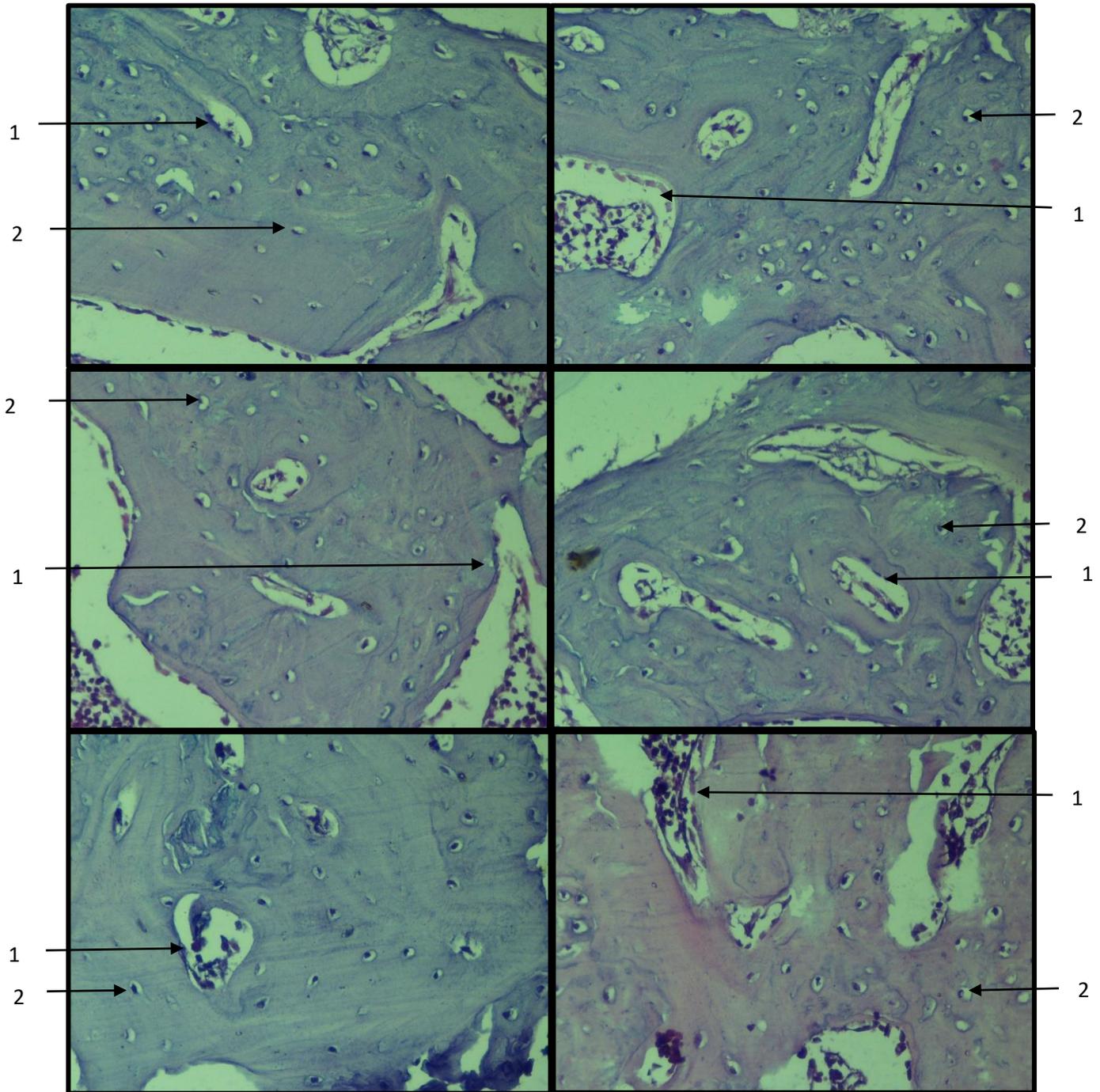
Micrografía de la zona representativa del grupo 1 J a los 30 días. Aumento de 400 x, usando la coloración hematoxilina eosina. Se observa la presencia de 1: osteoblastos y 2: osteocitos.

Grupo B de 3 Joule 15 días



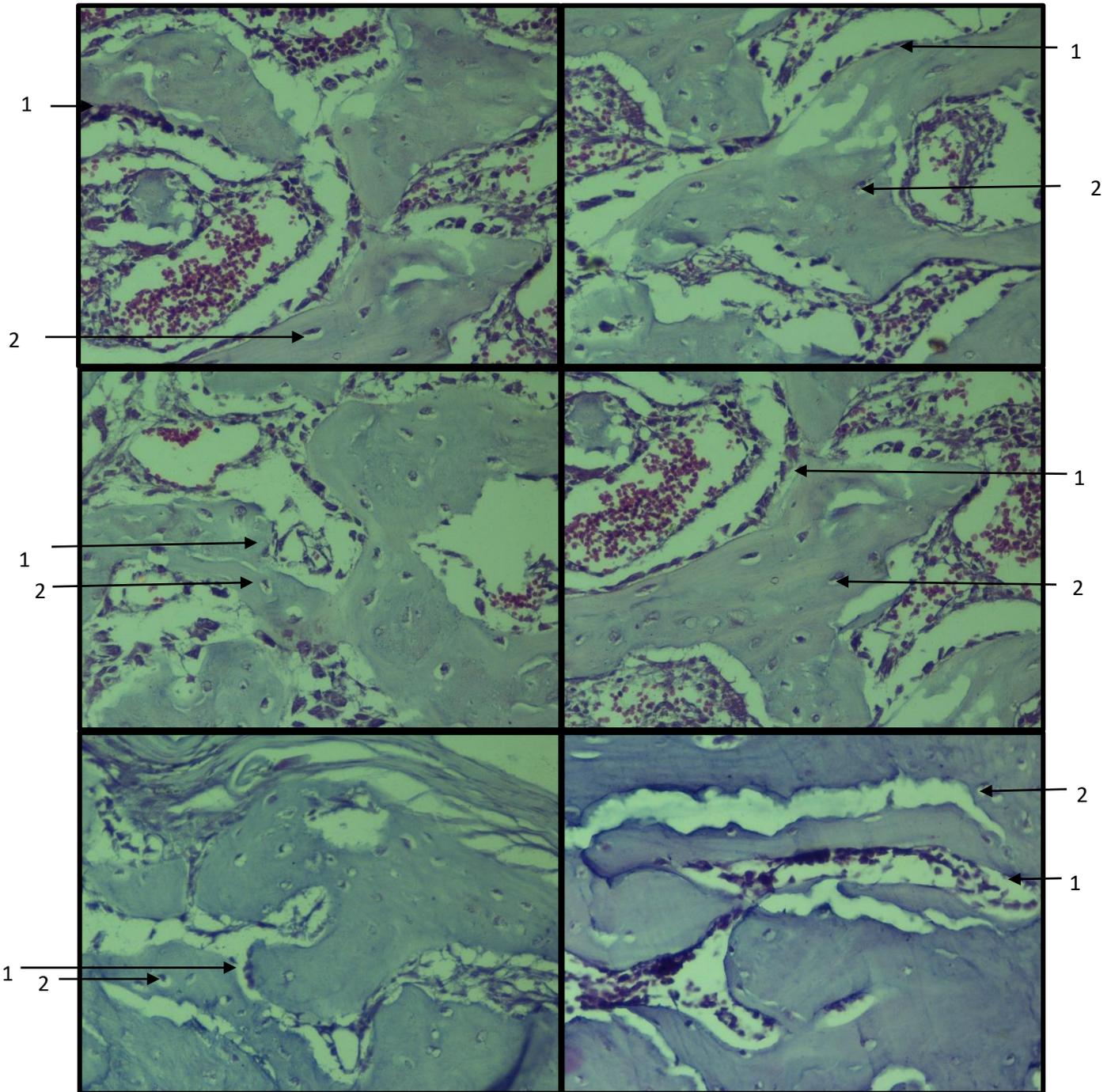
Micrografía de la zona representativa del grupo 3 J a los 15 días. Aumento de 400x, usando la coloración hematoxilina eosina. Se observa la presencia de 1: osteoblastos y 2: osteocitos.

Grupo B de 3 Joule 30 días



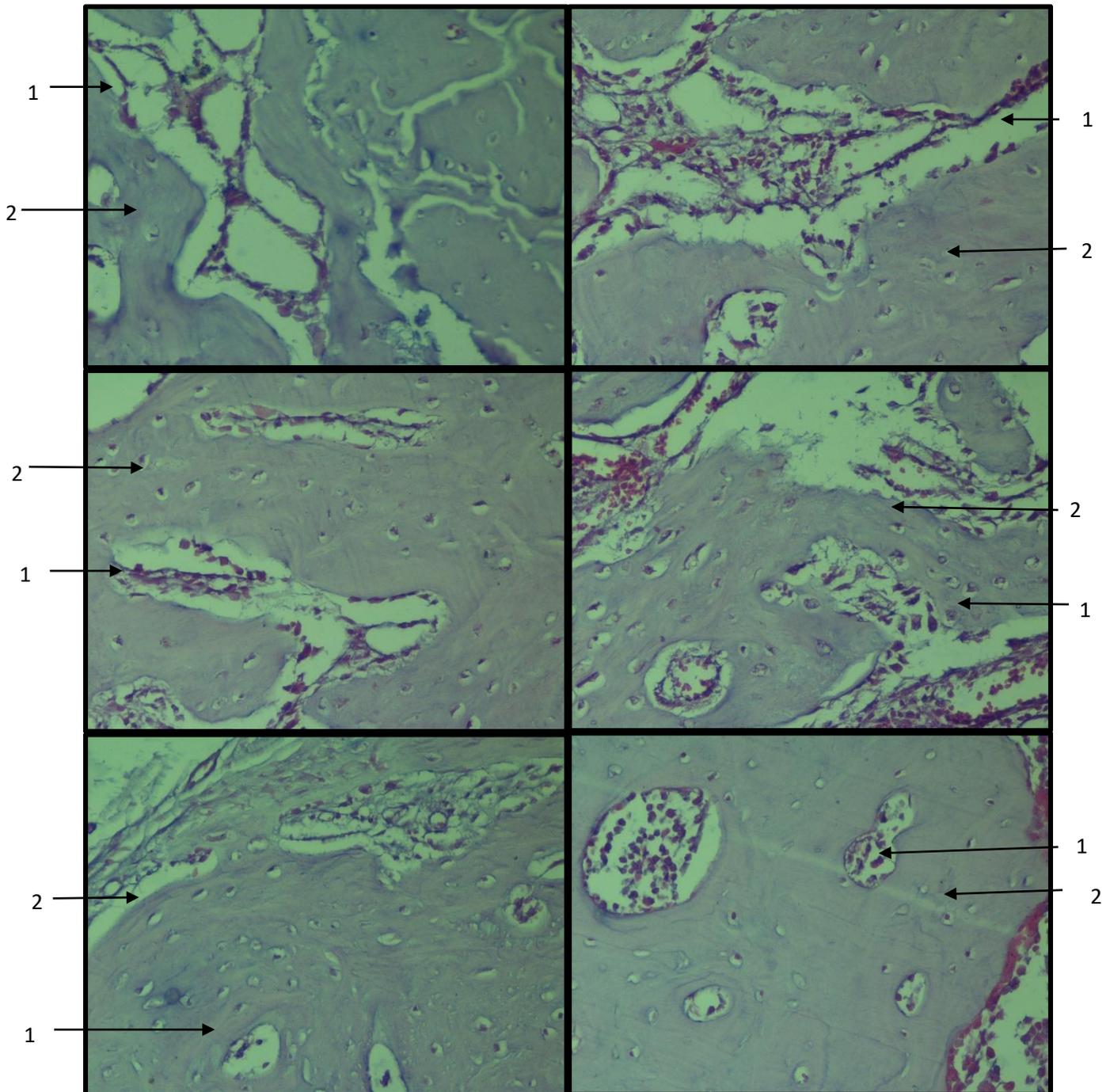
Micrografía de la zona representativa del grupo 3 J a los 30 días. Aumento de 400x, usando la coloración hematoxilina eosina. Se observa la presencia de 1: osteoblastos y 2: osteocitos.

Grupo C Control Positivo 15 días



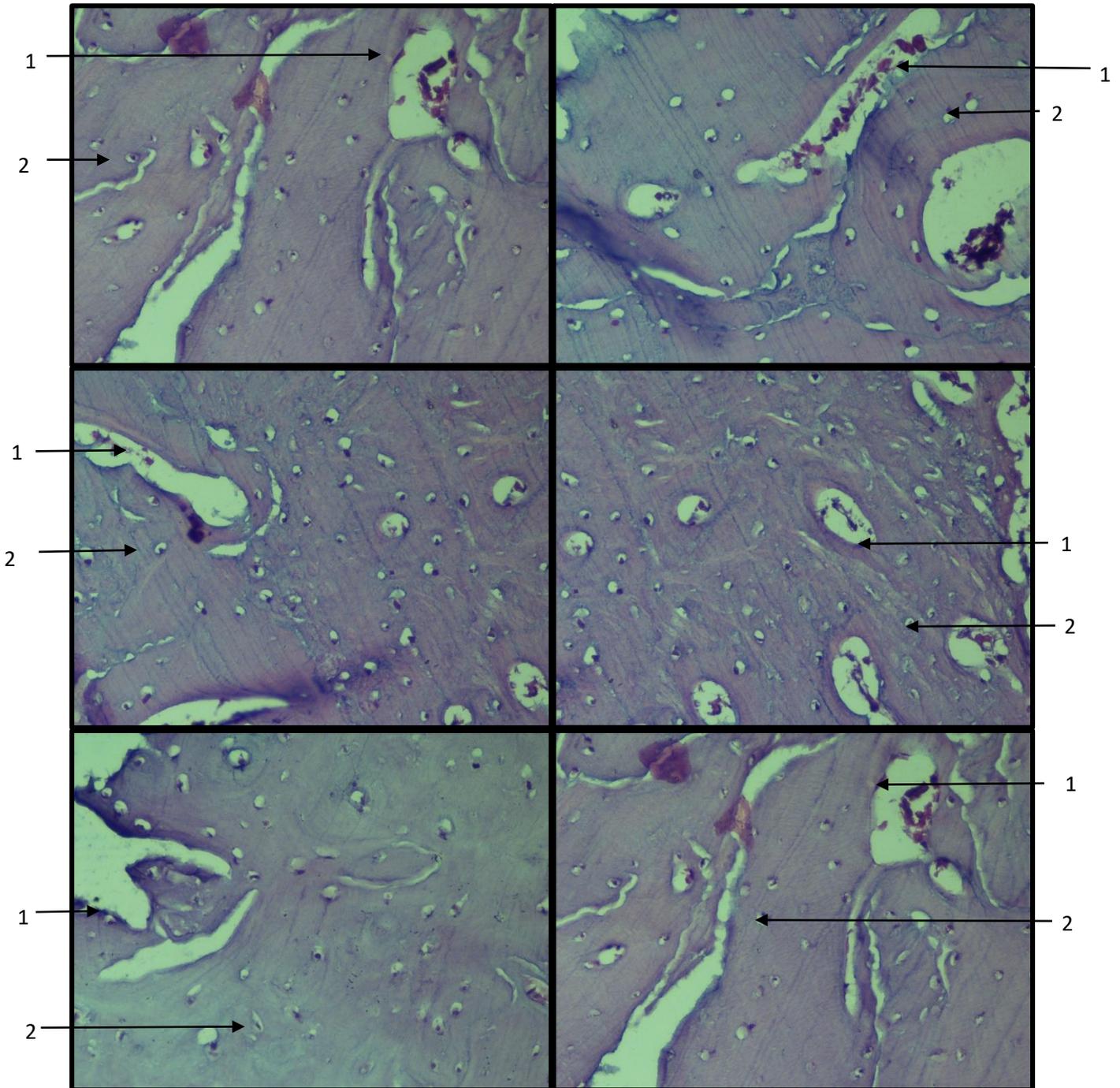
Micrografía de la zona representativa del grupo control positivo a los 15 días. Aumento de 400 x, usando la coloración hematoxilina eosina. Se observa la presencia de 1: osteoblastos y 2: osteocitos.

Grupo C Control Positivo 30 días



Micrografía de la zona representativa del grupo control positivo a los 30 días. Aumento de 400 x, usando la coloración hematoxilina eosina. Se observa la presencia de 1: osteoblastos y 2: osteocitos.

Grupo D Control Negativo



Micrografía de la zona representativa del grupo control negativo. Aumento de 400 x, usando la coloración hematoxilina eosina. Se observa la presencia de 1: osteoblastos y 2: osteocitos.

ANEXO 13: PRUEBA DE NORMALIDAD DE LA DIFERENCIA ENTRE 15 Y 30 DIAS

Pruebas de normalidad c,d

	Grupo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Diferencia (30-15 d) en osteocitos	Grupo 1 J	0,956	6	0,788
	Grupo 3 J	0,941	6	0,667
	Grupo Control			
	+	0,969	6	0,887
Diferencia (30-15 d) en osteoblastos	Grupo 1 J	0,937	6	0,632
	Grupo 3 J	0,958	6	0,8
	Grupo Control	0,906	6	0,411
	+			

* Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a Corrección de significación de Lilliefors

c No hay casos válidos para Diferencia (30-15 d) en osteocitos cuando Grupo = 4,000.

Los estadísticos no se pueden calcular para este nivel.

d No hay casos válidos para Diferencia (30-15 d) en osteoblastos cuando Grupo = 4,000. Los estadísticos no se pueden calcular para este nivel.

Pruebas de normalidad a

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Conteo de osteocitos (15 d)	0,967	6	0,872
Conteo de osteoblastos (15 d)	0,839	6	0,127
Conteo de osteocitos (30 d)	0,885	6	0,291
Conteo de osteoblastos (30 d)	0,974	6	0,918

* Esto es un límite inferior de la significación verdadera. a

Grupo = Grupo 1 J

significación de Lilliefors

b Corrección de

Pruebas de normalidad a

	Shapiro-Wilk		Sig.
	Estadístico	gl	
Conteo de osteocitos (15 d)	0,945	6	0,702
Conteo de osteoblastos (15 d)	0,979	6	0,945
Conteo de osteocitos (30 d)	0,946	6	0,71
Conteo de osteoblastos (30 d)	0,949	6	0,733

* Esto es un límite inferior de la significación verdadera. a

Grupo = Grupo 3 J b Corrección de significación de Lilliefors

Pruebas de normalidad a

	Shapiro-Wilk		Sig.
	Estadístico	gl	
Conteo de osteocitos (15 d)	0,935	6	0,615
Conteo de osteoblastos (15 d)	0,966	6	0,863
Conteo de osteocitos (30 d)	0,874	6	0,243
Conteo de osteoblastos (30 d)	0,865	6	0,208

* Esto es un límite inferior de la significación verdadera. a

Grupo = Grupo Control + b Corrección de significación de Lilliefors

Pruebas de normalidad a

	Shapiro-Wilk		Sig.
	Estadístico	gl	
Conteo de osteocitos (15 d)	0,871	6	0,232
Conteo de osteoblastos (15 d)	0,944	6	0,694

* Esto es un límite inferior de la significación verdadera. a
 Grupo = Grupo Control - b Corrección de
 significación de Lilliefors

ANEXO 14: PRUEBA DE TUKEY

Conteo de osteocitos (15 d)

HSD Tukey^a

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Grupo Control +	6	24,733	
Grupo 1 J	6		37,967
Grupo Control -	6		41,083
Grupo 3 J	6		48,733
Sig.		1,000	0,078

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

Conteo de osteoblastos (15 d)

HSD Tukey^a

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Grupo Control -	6	21,967	
Grupo 3 J	6	26,217	
Grupo 1 J	6		61,367
Grupo Control +	6		68,367
Sig.		0,847	0,549

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

Conteo de osteocitos (30 d)

HSD Tukey

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2

Grupo 3 J	6	34,857	
Grupo 1 J	6	43,833	43,833
Grupo Control +	6		45,817
Sig.		0,066	0,852

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

Conteo de osteoblastos (30 d)

HSD Tukey^a

Grupo	N	Subconjunto p 0.05	
		1	2
Grupo 3 J	6	17,900	
Grupo 1 J	6	20,917	
Grupo Control +	6		29,200
Sig.		0,479	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.