

307  
21.



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**ANÁLISIS COMPUTACIONAL  
MORFOMÉTRICO DE HUESO TRABECULAR  
EN MANDÍBULA DE CRÍAS DE RATONES DE  
MADRES ALCOHOLIZADAS**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
CIRUJANO DENTISTA  
P R E S E N T A:

**JOSEFA ANTONIA VEGA VILLALOBOS**

*Hernández  
ro*

TUTOR DR. JUAN CARLOS HERNÁNDEZ GUERRERO  
ASESOR : DR. ANDRÉS CASTELL RODRÍGUEZ



México, D. F.

1997

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la UNAM.

A la Facultad de Odontología, por permitirme ser parte de ella en mi formación académica.

Al Dr. Juan Carlos Hernández Guerrero, por brindarme la oportunidad de colaborar en este proyecto, su apoyo y el tiempo que dedicó a la realización de la Tesis.

Al Dr. Andrés Castell Rodríguez del Departamento de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M., por su apoyo académico y de infraestructura para la realización de la presente investigación.

A la Sra. Luisa Rodríguez y al Sr. Francisco Pasos Najera del Depto de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M.; Por su apoyo en la realización de los cortes histológicos y por el trabajo fotográfico utilizados en esta tesis.

A Hector y Hugo Alvarez L., por su colaboración y asesoría en el análisis y redacción de este documento.

## DEDICATORIA

# **ANÁLISIS COMPUTACIONAL MORFOMÉTRICO DE HUESO TRABECULAR EN MANDÍBULA DE CRÍAS DE RATONES DE MADRES ALCOHOLIZADAS**

<b>Cap. I ASPECTOS GENERALES DEL ALCOHOLISMO</b>	<b>1</b>
1.1. Antecedentes	1
1.2 Aspectos Generales de los Alcoholes	4
1.3. Propiedades Físicas y Químicas del Alcohol	5
1.4. Etanol.	6
1.5. Metabolismo: Absorción y Distribución	6
1.5.1. Metabolismo del Etanol	7
1.6. Toxicología del Alcohol	9
1.6.1. Efectos toxicológicos del alcohol en las células	10
1.7 Alcoholismo	10
1.8. Características Patológicas del Alcoholismo	12
1.8.1. Fisiología y Anatomía Patológica	12
1.8.2. Patología de Alcohol en Hueso	14
<b>Cap. II ASPECTOS HISTOLOGICOS</b>	<b>16</b>
2.1. Hueso	16
2.2. Hueso Alveolar	16
2.3. Desarrollo del Hueso.	17
2.4. Osificación Endocondral	18
2.5. Osificación Intramembranosa	19

2.6. Células Del Tejido Óseo	21
2.6.1. Células Bordeantes (Osteoprogenitoras)	21
2.6.2. Osteoblastos	22
2.6.3. Osteocitos	23
2.6.4. Osteoclastos	22
<b>Cap. III. SÍNDROME DEL FETO ALCOHOLIZADO</b>	<b>26</b>
3.1. Características Faciales del Niño con S.F.A.	27
3.2. Deficiencia de Crecimiento en el niño con S.F.A.	27
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>28</b>
<b>OBJETIVO GENERAL:</b>	<b>29</b>
<b>OBJETIVO ESPECIFICO:</b>	<b>29</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>30</b>
<b>MATERIAL</b>	<b>31</b>
<b>DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>32</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>39</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>49</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>51</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>52</b>

## RESUMEN

En el presente estudio se revisaron los efectos teratogénicos del alcohol a nivel de hueso mandibular en crías de ratones con Síndrome de Feto Alcoholizado. Se realizaron mediciones de perímetro y área del hueso mandibular, así como del tejido trabecular a nivel de primer molar en crías de ratones hembras mantenidas con soluciones de alcohol de 20% antes y durante el periodo de gestación. Al comparar las mediciones a 21 y 28 días de los ratones con SFA se encontraron disminuciones de un 24% a un 17% de hueso mandibular con respecto al grupo control. El tejido trabecular se encuentra también disminuido de  $131501.4 \mu^2$  en el control a  $80077.7 \mu^2$  en el día 21 y  $88653,1\mu^2$  en el día 28. Con respecto a la densidad esta disminuye del 66,19% en los ratones normales, al 53,42% y el 53,80% en los ratones con Síndrome de Feto Alcoholizado a 21 y 28 días de posnatales.

Los resultados de estos estudios muestran que en los ratones con Síndrome de Feto Alcoholizado, no sólo son de menor talla, con las consecuencias que esto conlleva, sino que también producen huesos más frágiles debido a que proporcionalmente tienen menor tejido de calcificación.

## CAPITULO I

### ASPECTOS GENERALES DEL ALCOHOLISMO

---

El alcoholismo es una enfermedad que se caracteriza por el consumo crónico de bebidas alcohólicas que trae como consecuencia diversas alteraciones en todo el organismo, entre ellos en el hueso <sup>(1,2)</sup>. Dado que el alcoholismo crónico es uno de los antecedentes más frecuentes dentro de los pacientes que asisten a consulta dental <sup>(3)</sup>, es importante caracterizar los efectos causados por el consumo de alcohol; el presente trabajo esta encaminado al estudio de las alteraciones en la estructura de la masa ósea en el área mandibular.

Desde el punto de vista clínico, se define al bebedor excesivo como alcohólico a la persona que consume al día 250 ml de bebidas destiladas<sup>(4)</sup>; Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud define al alcohólico: "como una persona que bebe alcohol en exceso, cuya dependencia sobre el alcohol ha llegado a un grado tal, que muestra un grave trastorno mental o interferencia en su salud física, sus relaciones personales y su economía"<sup>(6)</sup>.

En México, el consumo de alcohol como causa de muerte ocupa el primer lugar (4.9%), en comparación a otros países de Latinoamérica, Estados Unidos e Inglaterra<sup>(7)</sup>. En la actualidad existen estadísticas de la Secretaria de Salubridad y Asistencia, que demuestran que dos terceras partes de la población económicamente activa (entre 30 y 37%) beben alcohol, el 90% comienza a beber aproximadamente entre los 18 y 25

años<sup>(3, 8)</sup>. Asimismo, uno de cada diez individuos entre los 15 y 60 años lo ingieren habitualmente <sup>(6,7)</sup>.

Las formas más frecuentes de lesión orgánica específica observadas en alcohólicos son la cirrosis hepática, la neuropatía periférica y la miocardiopatía, a menudo acompañadas de arritmias, gastritis frecuentes y también puede desarrollarse pancreatitis. Tanto la acción directa del alcohol como los defectos nutricionales que lo acompañan (particularmente la deficiencia de tiamina) son responsables de la frecuente degeneración de los nervios periféricos y de los cambios cerebrales. Las miocardiopatías se presentan en pacientes con historia de más de 10 años de abuso de alcohol y se atribuyen al efecto directo de alcohol sobre el músculo cardíaco, independientemente de las deficiencias nutricionales. Clínicamente la miocardiopatía alcohólica se manifiesta por cardiomegalia e insuficiencia cardíaca congestiva y a la microscopia fotónica se observa fibrosis e hipertrofia miocárdica difusa con infiltración de glucoproteínas<sup>(5)</sup>.

Las madres con dependencia alcohólica (450 ml por día) durante el periodo de gestación ponen en peligro su vida y la del niño por nacer, ya que se reporta que aproximadamente llegan al producto 3 onzas de alcohol o 6 tragos por día, generando alteraciones teratogénicas, además de disminuciones en la talla general de los individuos <sup>(9,10)</sup>.

Los hallazgos de los efectos del alcohol durante el embarazo y las anomalías resultantes en los descendientes de madres alcohólicas han sido llamados Síndrome del Feto Alcohólico<sup>(9,10,11,12)</sup>. En el humano el SFA ha sido caracterizado por tres componentes principalmente:

- Retardo general de crecimiento somático
- Un grupo de apariencias faciales notorias en el descendiente afectado
- Microcefalia y retraso mental<sup>(10,11,13)</sup>.

Durante el periodo de gestación, la madre y el feto tienen un contacto estrecho a través de la circulación placentaria, a través de la cual el alcohol atraviesa la barrera placentaria en concentraciones elevadas; en estudios recientes se ha establecido que la ingesta de alcohol en la etapa temprana del embarazo puede provocar que los productos tengan alteraciones significativas conductuales y de aprendizaje<sup>(11,12)</sup>. La ingesta de alcohol provoca trastornos prenatales debido a que causa un retardo en el transporte de nutrientes a la placenta y alteraciones en el crecimiento, tamaño y peso del producto al nacer<sup>(11,12, 13)</sup>.

El etanol facilita la aparición de un estado de malnutrición debido a que proporciona calorías pero sin ofrecer los nutrientes esenciales, disminuye el apetito y causa un síndrome de malabsorción por los efectos tóxicos sobre el intestino y el páncreas después de la infiltración de glucoproteínas<sup>(14)</sup>.

Los alcoholes son compuestos formados por una cadena de carbonos alquílicos (formada por carbonos e hidrógenos), que contienen un grupo oxhidrilo (-OH), unido a un átomo de carbono alifático, están relacionados estructuralmente con el agua por sustitución de uno de los hidrógenos por un grupo alquilo. Cuando el grupo oxhidrilo se encuentra directamente unido a un anillo aromático (formando los fenoles), presenta propiedades que difieren notablemente de los alcoholes comunes <sup>(15,16)</sup>.

Los alcoholes se clasifican como alcoholes primarios, secundarios y terciarios según el grupo oxhidrilo que se encuentra unido al carbono <sup>(16)</sup>:

Alcohol Primario	(RCH <sub>2</sub> OH)
Alcohol Secundario	(R <sub>2</sub> CH - OH)
Alcohol terciario	(R <sub>3</sub> C - OH)

La mayoría de las reacciones de los alcoholes químicas se pueden dividir en tres categorías diferentes; en algunas reacciones ocurre la ruptura heterolítica del enlace oxígeno-hidrógeno por ejemplo la formación de ésteres a partir de alcoholes, estas reacciones se deben a las propiedades ácidas del hidrógeno. La ruptura heterolítica del enlace carbono-oxígeno de un alcohol no se rompe fácilmente, ocurre frecuentemente durante reacciones de desplazamiento produciendo alquenos, halogenuros de alquilo y de hidrógeno, según los catalizadores y medios en que se realiza la reacción <sup>(17,18)</sup>.

La tercer clase de reacciones de los alcoholes es la oxidación de un alcohol a un grupo carbonilo para la formación de aldehídos y cetonas (17,18).

Asimismo la solubilidad en el agua de los alcoholes se atribuye al igual que esta tiene enlaces de hidrógeno, pero las moléculas de de los alcoholes de bajo peso molecular pueden remplazar rápidamente a las moléculas de agua en las redes producidas por los puentes de hidrógeno. Esto explica su completa miscibilidad o alta solubilidad en agua. (18).

Los alcoholes son compuestos que presentan considerable polaridad debido a la presencia del grupo -OH, esta polaridad se refleja en sus propiedades físicas, como son: bajo punto de ebullición, bajo punto de fusión y alta solubilidad (15).

Punto de Ebullición: Los alcoholes tienen un átomo de hidrógeno unido al oxígeno, que es un elemento fuertemente electronegativo por lo cual hay formación de puentes de hidrogeno entre las moléculas del alcohol ya que muestran un incremento constante a medida que aumentan los átomos de carbono (15,18).

Los puentes de hidrógeno intermolecular se observan en los alcoholes, agua, en el amoniaco y en el ácido fluorhídrico, las energías del puente de hidrógeno se encuentran en el orden de 4 a 8 Kcal/mol y éstos valores deben compararse con 50 a 100Kcal/mol para la mayoría de los enlaces covalentes (15,18).

Sobre la solubilidad de los alcoholes en diversos disolventes, se sabe que los de menor peso molecular, los de tres carbonos o menos, son muy solubles en agua. La solubilidad en el agua disminuye al aumentar el peso molecular del alcohol en gran medida porque aumenta la cadena hidrocarbonada <sup>(15)</sup>.

El etanol o alcohol etílico  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ , es el alcohol que encontramos en las bebidas alcohólicas, dada su gran utilidad como disolvente en la química orgánica y como materia prima para muchas síntesis. El etanol es uno de los alcoholes de más fácil adquisición y uso más frecuente <sup>(15)</sup>.

Un método para obtener etanol es la fermentación de carbohidratos. Muchos productos naturales contienen carbohidratos, incluyendo los granos, el almidón y el azúcar. El término alcohol de grano es sinónimo de etanol y se refiere al origen del alcohol. La fermentación de otros productos naturales como el centeno, maíz, y vid son los que producen la mayoría de las bebidas alcohólicas <sup>(19)</sup>.

El alcohol etílico se absorbe en el tubo digestivo, especialmente en el intestino en donde el duodeno y el yeyuno representan el principal sitio de absorción, siendo este rápido y virtualmente completo. El resto del intestino sólo absorbe pequeñas cantidades de alcohol. El grado de absorción del alcohol en el organismo, está dado por el vaciamiento del contenido del estómago, el cual está sujeto a diferentes influencias <sup>(20)</sup>.

El papel crucial del estómago como un impedimento temporal de la absorción del alcohol; se ha podido ilustrar con los hallazgos hechos en pacientes que no han estado bajo ingesta masiva de alcohol; estos pacientes usualmente se intoxican rápidamente con pequeñas cantidades de alcohol que es distribuido casi inmediatamente al sitio donde es absorbido rápidamente por el intestino delgado <sup>(20,21)</sup>.

El coeficiente del alcohol con respecto al agua y la grasa es de 0.10 <sup>(16)</sup>. La distribución del alcohol a todo el cuerpo es muy similar a la del agua. El rango de entrada del alcohol a varios tejidos varía directamente con el suministro de sangre a los mismos; Por ejemplo, las concentraciones del alcohol en el S.N.C. alcanzan rápidamente un equilibrio con respecto a la concentración del alcohol en la sangre arterial sistémica, pero la concentración del alcohol en los tejidos adiposo y el esquelético se incrementa con más lentitud y puede tomar 45 minutos o más en acercarse a los niveles de alcohol en la sangre venosa que viene de otros tejidos. Esto explica porqué una persona con el estómago vacío puede intoxicarse rápidamente después de consumir pequeñas cantidades de alcohol <sup>(21)</sup>.

### **1.5.1. METABOLISMO DEL ETANOL**

En los seres humanos más del 90% del alcohol etílico es metabolizado principalmente por el hígado y el 10% restante se elimina por la piel, pulmones y riñones. Existen dos vías metabólicas para la degradación del etanol: la vía oxidativa y la vía no oxidativa <sup>(21)</sup>.

**Vía Oxidativa:** La primera etapa de transformación del alcohol es la conversión en acetaldehído, por la enzima alcohol deshidrogenasa (la mayor parte es oxidado en el hígado aunque también puede ser catalizado en otros tejidos). La segunda etapa de este metabolismo consiste en la oxidación del aldehído en acetato, la enzima que realiza esta reacción es la aldehído deshidrogenasa. En la tercera etapa el acetato por medio de la acetoquina más CoA forma la acetil coenzima A, la cual es alimentadora del ciclo de los ácidos tricarbóxicos al unirse al oxalacetato y da lugar a la formación de citrato <sup>(17,18)</sup>.

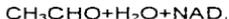
**Vía No Oxidativa:** Se lleva a cabo por la enzima sintetasa éster de ácido graso, cuyo producto es el éster etil ácido graso. El alcohol absorbido en el cuerpo es metabolizado principalmente en el hígado. El primer paso es la degradación del alcohol en acetaldehído, el cual está limitado por la concentración del cofactor NAD. Por otro lado la fructuosa incrementa la velocidad del metabolismo del alcohol en muchos sujetos <sup>(17)</sup>. Debido a que la velocidad del metabolismo del alcohol está limitada más por la disponibilidad del cofactor NAD que por la cantidad del sustrato, el alcohol es una de las pocas drogas cuya eliminación sigue una cinética de orden cero, en la cual la velocidad es constante, sin tener en cuenta la cantidad de alcohol en el sistema, únicamente los niveles de alcohol son reducidos a pequeñas cantidades. El segundo paso del metabolismo supone la conversión de acetaldehído a acetato <sup>(17,18)</sup>.

El alcohol que no es metabolizado por el hígado es excretado sin cambio alguno por la orina y por el aire exhalado, y en pequeñas cantidades se puede encontrar en la saliva y lágrimas. La concentración de alcohol en la orina es aproximadamente de 1.25 veces mayor que en la

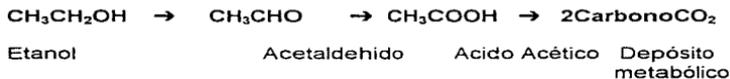
sangre y la concentración en saliva es de 1.12 veces mayor, mientras que la concentración en sangre es de 2.10 veces mayor que en el aire alveolar (21).

Desde el punto de vista farmacológico, el alcohol es un depresivo primario del S.N.C. La estimulación aparente la cual ocurre en niveles moderados de alcohol en sangre, es el resultado de los mecanismos inhibidores que operan en el cerebro. A altas concentraciones, la acción depresora del alcohol es generalmente una reducción progresiva de los estados de alerta, típica borrachera y finalmente un estado de anestesia farmacológica <sup>(4,10)</sup>.

El etanol interfiere en el metabolismo de muchas drogas por inducción de sistemas enzimáticos, por competición de los mismos caminos metabólicos y a través de otros mecanismos. La administración de etanol puede demorar y reducir el síndrome de intoxicación con metanol, causada por la competencia de ambos alcoholes, por la Alcohol - deshidrogenasa (ADH) <sup>(3)</sup>.



Así mismo el etanol influye el metabolismo de los compuestos de dos carbonos con  $\text{CO}_2$ , como producto final. Los pasos de esta reacción pueden resumirse así:



### **1.6.1. Efectos toxicológicos del alcohol en las células**

Estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que afecta directamente en la proliferación de diferentes tipos celulares como hepatocitos <sup>(4,22)</sup>, neuronas <sup>(4,23)</sup>, y osteoblastos <sup>(4,24,25,26)</sup>.

Se han descrito diferentes mecanismos bioquímicos y celulares involucrados en los procesos toxicológicos del alcohol. Klein y col., han descrito una disminución en la síntesis de DNA, así como alteraciones en los niveles de la actividad de ornitina descarboxilasa y la biosíntesis de poliaminas que son esenciales en la proliferación de una variedad de tipos celulares <sup>(27)</sup>. También se ha encontrado una disminución en los niveles plasmáticos de diversos factores de crecimiento tales como el factor semejante a insulina o IGF (insulin growth factor) <sup>(22,28)</sup>.

En las neuronas, se ha observado que el alcohol inhibe la adhesión célula-célula, siendo esto una de las causas que provocan las alteraciones neuronales y los desórdenes de memoria asociados al alcohol <sup>(29)</sup>.

La dependencia del alcohol, se define como el desarrollo de conductas desviadas características asociadas al consumo prolongado de cantidades excesivas de alcohol. El alcoholismo se considera una enfermedad crónica de etiología no determinada, de instauración insidiosa, que muestra síntomas y signos reconocibles proporcionales a su gravedad <sup>(6,7)</sup>.

**FOCOS DE ATENCIÓN EN EL ALCOHOLISMO (7):**

- 1) Consumo de grandes cantidades de alcohol etílico acompañado de toxicidad clínica significativa.
- 2) Lesión tisular, riesgos de la dependencia física y el síndrome de la abstinencia.

Las mujeres alcohólicas han sido en general más propensas a beber en soledad, aunque experimentan en mayor grado los estigmas sociales.

La incidencia del alcoholismo entre mujeres, niños y estudiantes universitarios está aumentando. La relación varón/mujer es en la actualidad de aproximadamente 4:1 (7).

La etiología del alcoholismo es desconocida. Las hipótesis psicológicas han señalado la frecuente incidencia de ciertos rasgos de personalidad, que incluyen (6,30):

- 1) Cualidades esquizoides (aislamiento, soledad, timidez)
- 2) Depresión
- 3) Dependencia
- 4) Impulsividad hostil y autodestructiva
- 5) Inmadurez sexual

Las familias de los alcohólicos tienden a presentar mayor incidencia de alcoholismo. Se sospecha de la existencia de defectos genéticos o bioquímicos que conducen al alcoholismo, pero aún no se han demostrado

claramente, si bien se ha informado de forma constante sobre la mayor incidencia de alcoholismo en hijos biológicos de alcohólicos en comparación con sus hijos adoptivos <sup>(30)</sup>.

Los factores sociales afectan los patrones de bebida y los comportamientos consecuentes, las actitudes transmitidas por la cultura o educación del niño. Los alcohólicos presentan frecuentemente historias de hogares rotos y de relaciones alteradas con los padres <sup>(7)</sup>.

### 3. CARACTERÍSTICAS PATOLÓGICAS GENERALES DEL ALCOHOLISMO

#### 1.8.1. FISIOLÓGICA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

El alcohol se absorbe principalmente en el intestino delgado y pasa a la sangre, donde se acumula porque la absorción es más rápida que la oxidación y la eliminación. <sup>(4)</sup>.

Una alcoholemia de 50 mg/dl produce sedación o tranquilidad; 50 a 150 mg/dl, falta de coordinación; 150 a 200 mg/dl intoxicación (delirio) y 300 a 400 mg/dl pérdida de la conciencia. Niveles sanguíneos >500mg/dl pueden ser mortales. El nivel legal para conducir es de 100 mg/dl o menos en la mayoría de los estados, y la intoxicación se define a menudo como presente a estos niveles. De hecho, raramente se mide la alcoholemia, se estima por la cantidad presente en el aire espirado <sup>(31)</sup>.

Del 5 al 10% de alcohol se excreta sin modificar por orina, sudor y aire espirado; el resto es oxidado a CO<sub>2</sub> y agua a una velocidad de 5 a 10 ml/h (de alcohol absoluto), proporcionando 1ml alrededor de 7 Kcal <sup>(4,31)</sup>.

El hecho de que existan aparentes variaciones en la susceptibilidad de los individuos y la mayor susceptibilidad de las mujeres a presentar la hepatopatía alcohólica sugieren la importancia de otros factores tanto biológicos (edad, peso, talla), dieta y estilos de vida <sup>(32)</sup>.

Las formas más frecuentes de lesión orgánica específica observadas en alcohólicos son la cirrosis hepática, la neuropatía periférica y la miocardiopatía, a menudo acompañadas de las arritmias, gastritis frecuentes y también pueden desarrollarse pancreatitis.

La vasodilatación periférica con incrementos en la salida cardíaca, taquicardia e incremento en la presión de la sangre, han sido descritos después de la administración aguda de alcohol. El etanol es también una hepatotóxina cuyo metabolismo produce anomalías tales como reducción de los citocromos contenidos en los eritrocitos <sup>(32)</sup>. También se ha asociado al alcoholismo con concentraciones elevadas de colesterol, lo cual puede estar correlacionado con la alta incidencia de enfermedades cardiovasculares en estos pacientes. Así mismo, el abuso del alcohol puede resultar en diabetes insípida, y el incremento en la eliminación de lactato disminuye la secreción tubular de ácido úrico con la consecuente aparición de hiperuremia secundaria <sup>(31)</sup>.

El etanol reduce el número de macrocitos y fagocitos con una disminución en la actividades de las células T. De acuerdo con lo anterior, hay una disminución celular de la médula osea con una subsecuente reducción en la eritropoyesis, trombopoyesis y leucopoyesis, pudiendo ocasionar sideopenia y anemia megaloblástica.

Dentro del músculo, el alcohol ocasiona mionecrosis y reacciones inflamatorias, hasta distensión muscular y atrofia <sup>(3,31)</sup>.

### 1.8.2. PATOLOGIA DE ALCOHOL EN HUESO

La asociación entre el consumo habitual de alcohol y estados de osteoporosis está bien documentada principalmente por una alta prevalencia de fracturas entre los alcohólicos<sup>(33,34,35,36)</sup>. Saville<sup>(34)</sup>, usando material post-mortem demostró una reducción en peso libre de grasas en sujetos alcohólicos. En contraste Dalén y Lamke mostraron un promedio de pérdida de hueso semejante entre individuos normales y un pequeño grupo de alcohólicos<sup>(37)</sup>. En tanto que Rogisky<sup>(38)</sup> no encontró diferencias significativas en las concentraciones séricas de calcio en pacientes alcohólicos y un grupo control. Sin embargo, posteriormente Nilsson<sup>(39)</sup> demostró una reducción en la densidad de hueso del antebrazo en un grupo seleccionado de alcohólicos que había sido atendido en un departamento ortopédico. En la actualidad, existen diversas evidencias clínicas del papel del alcohol como factor de riesgo para producir osteopenia y osteoporosis<sup>(26,35,36,40,41)</sup>.

En estudios *in vitro*, Farley<sup>(42)</sup> sugirió que el etanol estimula la resorción de hueso y bloquea la formación ósea por varios factores involucrados en la osteosíntesis. Los resultados de estudios en humanos han sido variables; Bikle<sup>(43)</sup> concluyó que el alcohol inhibe la remodelación de hueso, mientras que Schnitzler y Salomon<sup>(44)</sup> encontraron una reducción en la formación de hueso y un incremento en la resorción, concluyendo que el alcohol produce un desbalance en la asociación normal entre resorción y formación. De Vernejoul<sup>(45)</sup> encontró reducido el volumen de hueso y un adelgazamiento trabecular, pero no efectos en los parámetros medidos de formación y resorción.

Johnell <sup>(46)</sup> en un estudio con 38 pacientes con alcoholismo activo, comparó sus resultados con datos de cadáveres, y encontró un incremento significativo de osteoclastos por unidad de superficie, concluyendo que el alcoholismo deja una pérdida de hueso a través de un estado de incrementado de resorción ósea.

Diversos estudios *in vitro* han mostrado evidencias, que el desequilibrio en los procesos de formación ósea, es debido a disminución en la proliferación de los osteoblastos<sup>(27, 36,47)</sup>.

## CAPITULO II

### ASPECTOS HISTOLOGICOS

Es una forma rígida de tejido conectivo que consta de células y de una matriz intercelular, la matriz contiene un componente orgánico principalmente fibras colágenas de las que dependen en gran parte la fuerza y resistencia del hueso y sales inorgánicas de las que dependen la dureza y rigidez del hueso (fosfato de calcio 85%, carbonato de calcio 10%) y pequeñas cantidades de fluoruros de calcio y magnesio<sup>(52)</sup>.

El hueso es una forma especializada de tejido conjuntivo, su matriz intracelular está cargada con material mineral como lo es la hidroxapatita ( $\text{Ca}_{10} [\text{Po}_4]_6 [\text{OH}]_2$ ), la presencia de este material proporciona al hueso su rigidez, lo convierte en un almacén del cuerpo para el calcio y una parte importante del mecanismo homeostático para el control del calcio en la sangre y de los líquidos de los tejidos<sup>(48,51)</sup>.

El hueso alveolar se forma durante el crecimiento fetal por osificación intramembranosa y deriva del folículo dental, que junto con el órgano dental y la papila dental participan en el desarrollo del diente<sup>(48)</sup>.

El folículo dental es una prolongación celular que se origina del germen dentario; de él se deriva el cemento radicular, el ligamento periodontal y el hueso alveolar<sup>(49)</sup>; la apófisis alveolar, se compone de tres tejidos óseos especializados diferentes que son:

- 1) La pared interna, que consta de hueso delgado y compacto;
- 2) hueso esponjoso y
- 3) tablas vestibulares y linguales del hueso compacto<sup>(49,50)</sup>.

El hueso alveolar consta de células, fibras y sustancia intercelular, también se encuentra formado por elementos minerales en un 60% los cuales son calcio, nitratos y en cantidades menores se encuentran los iones de sodio, magnesio y flúor, estos elementos se combinan y forman cristales de hidroxiapatita y otras sales fosfocálcicas<sup>(51)</sup>.

La formación del tejido óseo tiene lugar por un proceso general para diferenciarse (en tejido laminar, no laminar, esponjoso o compacto) independientemente del momento o tiempo en que se forme (osificación primaria u osificación secundaria) e indistintamente del tejido del que se forme (osificación endocondral, osificación membranas o ectópica)<sup>(53,54)</sup>.

**La formación del tejido óseo implica la sucesión de cuatro fases que pueden ser resumidas como:**

- 1) Diferenciación de células mesenquimales en osteoblastos
- 2) Secreción de la matriz orgánica por los osteoblastos
- 3) Mineralización de dicha matriz orgánica
- 4) Aparición de los osteoclastos

Sin embargo, estas fases muestran algunas peculiaridades según el tejido previo sobre el que se va a formar el hueso distinguiéndose tres tipos de osificación: membranosa, endocondral y ectópica <sup>(48)</sup>.

Este proceso comienza con la proliferación y acumulación de células mesenquimáticas en el sitio donde se desarrollará el futuro hueso, las células mesenquimáticas se diferencian en condroblastos y estos a su vez producen matriz cartilaginosa, el cartilago hialino sintetizado en esta etapa inicial adquiere el aspecto y la forma general del hueso específico que se formará, mediante un crecimiento intersticial y también por aposición <sup>(48)</sup>.

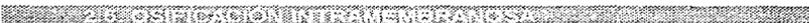
La mayor parte del aumento en la longitud del molde cartilaginoso puede atribuirse al crecimiento intersticial que se produce cerca de sus extremos, el aumento de su espesor se debe principalmente al agregado de matriz cartilaginosa producida por condrocitos nuevos originados a partir de la capa condrógena del pericondrio que rodea a la masa del cartilago <sup>(53)</sup>.

El primer signo de osificación ocurre con un cambio en la actividad del pericondrio, en el cual las células ya no dan origen a condrocitos sino que en su lugar se producen células óseas; el tejido conectivo que rodea al molde cartilaginoso funcionalmente ya no es más un pericondrio sino que ahora debido a su función transformación es llamado periostio <sup>(55)</sup>.

Con la formación del hueso perióstico se hipertrofian los condrocitos en la región media del cartilago, a medida que estas células

umentan de tamaño se comprime la matriz cartilaginosa que las rodea y quedan placas delgadas irregulares de cartilago entre las células hipertróficas, las cuales sintetizan fosfatasa alcalina y la matriz al mismo tiempo se calcifica, lo que impide el paso de sustancias nutritivas que en última instancia provoca la muerte de los condrocitos: cuando los condrocitos mueren, gran parte de la matriz se degrada y las lagunas adyacentes forman con el tiempo una gran cavidad, mientras éste fenómeno ocurre, existe la proliferación de uno o varios vasos sanguíneos que atraviesan el delgado collarete óseo para vascularizar la cavidad <sup>(56)</sup>.

Algunas células primitivas se convierten en células osteoprogenitoras y éstas, cuando se elimina parcialmente el cartilago calcificado quedan restos en los cuales se observa un aspecto de trabéculas irregulares, se adosan a estas trabéculas de cartilago calcificado residuales, transformándose en osteoblastos que comienzan a sintetizar hueso en el cual se deposita en el armazón trabecular. Al hueso formado de esta manera se le llama hueso endocondral. Histológicamente se observa que la matriz colagínosa del cartilago calcificado tiende a ser basófilo, mientras que el hueso es eosinófilo <sup>(54)</sup>.



En la osificación intramembranosa, el hueso se forma por la diferenciación de células mesenquimáticas en osteoblastos, en donde el primer indicio de osificación intramembranosa aparece alrededor de la octava semana de gestación, las células mesenquimáticas son de aspecto pálido y alargadas en el mesénquima laxo, migran y se acumulan en áreas específicas que son el sitio donde se formará el hueso, a medida

que éste proceso continua con su formación, el tejido se organiza en los sitios de futura formación ósea adquiriendo de ésta manera una mayor vascularización y las células mesenquimáticas acumuladas aumentan de tamaño y son más redondas; además el citoplasma de estas células cambia de eosinófilo a basófilo y el aparato de Golgi toma una zona clara. Estas modificaciones citoplasmáticas son características de un osteoblasto diferenciado, el cual su función es secretar colágeno y proteoglucanos de la matriz ósea (osteóide), los osteoblastos se separan cada vez más unos de otros a medida que se forma la matriz ósea, pero a la vez permanecen en contacto a través de delgadas prolongaciones citoplasmáticas; la matriz ósea se observa más densa que el mesénquima circundante <sup>(48,55)</sup>.

Por otro lado la matriz ósea neoformadora se presenta en forma de pequeñas espículas o trabéculas de aspecto irregular, con el tiempo ésta matriz se calcifica y las prolongaciones citoplasmáticas de conexión entre éstas células formadoras de hueso, ahora son llamadas osteocitos la cuales se quedan encerradas dentro de canaliculos, las células primitivas circundantes de la membrana proliferan dando origen a una población de células que ya se puede considerar como células osteoprogenitoras. Algunas de las células osteoprogenitoras se adosan a las espículas formadas inicialmente, y se transforman en osteoblastos agregando más matriz <sup>(48,56)</sup>.

Por este mecanismo (crecimiento por aposición) las espículas aumentan de tamaño y se unen a una red trabecular que posee la configuración general del hueso en desarrollo debido a su actividad mitótica continua, las células osteoprogenitoras mantienen su cantidad y así proporcionan una fuente constante de osteoblastos para el crecimiento

de las trabéculas óseas, los nuevos osteoblastos a su vez depositan matriz ósea en capas sucesivas con lo que se forma hueso no laminar, este hueso se caracteriza internamente por presentar espacios interconectados que poseen tejido conectivo y vasos sanguíneos <sup>(48,51,56)</sup>.

En el hueso se distinguen distintos tipos de células que son las responsables de la reabsorción, formación y mantenimiento del mismo; dichas células son las siguientes <sup>(54)</sup>:

1) CÉLULAS OSTEOPROGENITORAS
2) OSTEOLASTOS
3) OSTEOCITOS
4) OSTEOLASTOS

A la interacción de estos elementos celulares y de las sustancias químicas que regulan este proceso se le llama metabolismo o remodelado óseo.

#### **2.6.1. CÉLULAS BORDEANTES (OSTEOPROGENITORAS)**

También llamadas células de revestimiento <sup>(49)</sup>, se trata del conjunto de osteoblastos poco activos que no se convierten en osteocitos durante el proceso de alta actividad osteogénica. Son células aplanadas, con núcleos densos y citoplasma reducido pero muy extendido <sup>(58)</sup>, se

comunican con otras células osteoprogenitoras y con los osteocitos vecinos por medio de sus prolongaciones citoplasmáticas <sup>(52)</sup>. Aunque se puede decir que su densidad poblacional es baja, las células bordeantes son mucho más numerosas que los osteoclastos y los osteoblastos en la superficie del hueso <sup>(54)</sup>.

En cuanto a sus funciones, estudios de Matthews y Cols. (1977) sugieren que las células bordeantes son las encargadas del control del fluido extracelular del hueso, con lo que serían directamente responsables de la regularización del metabolismo fósforo-calcio. Por su estratégica posición, las células bordeantes son el blanco de diversos mensajes bioquímicos responsables de la actividad del calcio de remodelado óseo <sup>(64)</sup>.

### 2.6.2. OSTEOLASTOS

Los osteoblastos son células formadoras del hueso, su función principal consiste en la síntesis de una matriz orgánica (osteóide) que subsecuentemente se mineraliza para formar tejido óseo nuevo <sup>(53)</sup>. Los osteoblastos son células mononucleares de núcleo claro y de citoplasma basófilo, el cual es más abundante cuando se encuentra en actividad. Los osteoblastos contienen cantidades importantes de fosfatasa alcalina <sup>(57)</sup>. Cuando los osteoblastos cesan las fases de alta actividad secretora sufren cambios morfológicos y metabólicos para dar origen a las células osteoprogenitoras en un proceso que se conoce como modulación funcional <sup>(58)</sup>. El osteoblasto sintetiza diferentes proteínas que constituyen el tejido osteóide, en su mayoría colágena, aunque también encontramos mucopolisacáridos, sialoproteínas y mucoproteínas <sup>(51, 55)</sup>.

La formación ósea implica una aposición por parte de los osteoblastos que forman una matriz orgánica y que antes de mineralizarse produce una cubierta de glucoproteínas para la matriz <sup>(58)</sup>.

### 2.6.3. OSTEOCITOS

Son células que se derivan directamente de los osteoblastos y son capaces de seguir formando hueso, así como de reabsorberlo <sup>(60,61)</sup>; se diferencian de los osteoblastos por su reducido volumen citoplasmático, así como la talla de los organelos <sup>(60)</sup>, presentan prolongaciones que se proyectan hacia lagunas vecinas estableciendo contacto con otros osteocitos o con odontoblastos, a través de conductillos que se encuentran en el interior del hueso mineralizado <sup>(48,55,62)</sup>. El número, de osteoblastos que se convierten en osteocitos está directamente relacionados con la rapidéz de la formación ósea. Por esto el hueso embrionario y de reparación posee más osteocitos que el hueso laminar <sup>(49)</sup>.

Después de incluirse en la sustancia mineralizada, los osteocitos reducen su tamaño y pierden la mayor parte de su maquinaria de síntesis proteica <sup>(53)</sup>, a lo largo de la vida, sin embargo, los osteocitos no pierden su capacidad de reactivar la biosíntesis, por otra parte se reabsorbe lentamente la matriz circundante, con lo que mantiene la homeostasis de su laguna ósea <sup>(48)</sup>.

Las conexiones que se establecen de los osteocitos y los osteoblastos, a través de las prolongaciones citoplasmáticas, forman una especie de red celular que persiste para que el hueso se mantenga vivo <sup>(49)</sup>. Por otro lado, la función más importante de esta red es la de

prevenir la hipermineralización, ya que constantemente ésta red bombea calcio al torrente sanguíneo con lo que contribuye de manera importante, en el control del calcio sérico<sup>(51)</sup>, una falla en esta red ocasiona la hipermineralización o la muerte (por esclerosis) del tejido circundante<sup>(63)</sup>.

#### 2.6.4. OSTEOCLASTOS

En numerosos estudios se ha demostrado que el osteoclasto es la célula encargado en el proceso de reabsorción ósea dentro del organismo<sup>(52,53,54)</sup>, los osteoclastos se forman a partir de la fusión de las células sanguíneas mononucleares<sup>(58)</sup>, en estudios realizados en los 80s se demostró que éstas células sólo son fagocitos mononucleares y su función es la reabsorción del hueso. Los osteocitos miden aproximadamente 100 micras de diámetro, y su citoplasma presenta una gran cantidad de pliegues llamados bordes rugosos o bordes en cepillo que presentan el lugar específico donde se lleva a cabo la degradación del hueso<sup>(53)</sup>. Los osteocitos contienen una importante provisión de mitocondrias, las cuales además de producir energía mediante la conversión metabólica del ADP y ácido cítrico, presentan un sitio transitorio para el almacenamiento de iones de calcio y fósforo; también tienen fosfatasa ácida, la cual es importante en el proceso de degradación<sup>(48, 59)</sup>.

### CAPITULO III

## SÍNDROME DEL FETO ALCOHOLIZADO

El Síndrome del feto alcoholizado (S.F.A.) es un término que se aplica a la serie de anomalías que tiene como afinidad del abuso del alcohol, ya que se estima que el alcohol es otra droga frecuentemente utilizada durante el periodo de embarazo, como lo son también la cafeína, la nicotina, y el diazepam<sup>(66)</sup>, provocando de esta manera trastornos prenatales por la administración del alcohol, de los cuales los más frecuentes suelen ser<sup>(4,66)</sup>:

- 1) Deterioro en el transporte placentario.
- 2) Anomalías de los músculos en formación y deficiencia de crecimiento
- 3) Hipoxia fetal
- 4) Cambios en el metabolismo de las prostaglandinas.
- 5) Cambios en el metabolismo de las hormonas.
- 6) Disfunción en el Sistema Nervioso Central.

Las anomalías varían independientemente en cuanto a la severidad y grado dentro de los límites que son considerados como anormales, las anomalías más típicas asociadas a la teratogénesis provocadas por el alcohol pueden ser agrupadas dentro de tres categorías principales que son <sup>(4,14,66)</sup>:

1. Disfunción del S.N.C.
2. Deficiencia de crecimiento.
3. Características anormales del grupo facial

Con respecto, a las características faciales que son ocasionadas por el abuso del alcohol durante el periodo de gestación, los infantes presentan fisuras palpebrales cortas y pabellón grande. Los ojos los niños afectados presentan miopía, y microftalmia, y los oídos presentan rotación en la parte posterior y ocasionalmente suelen presentar forma de concha<sup>(4,67)</sup>.

En boca las alteraciones más comunes son labio fisurado, paladar fisurado, retrognatismo en la infancia en un 80% y en la adolescencia presentan prognatismo en un 50%. Por otro lado, los dientes de estos pacientes son cortos y de esmalte defectuoso<sup>(9,13)</sup>, además presentando deficiencia en el crecimiento de la mandíbula y deficiencia en el lenguaje.<sup>(9,14,68)</sup>

Los infantes al nacer presentan deficiencia de crecimiento en cuanto a tamaño y peso, el peso es la alteración que más comúnmente presentan, en estudios realizados en relación a este síndrome se ha demostrado que pocos niños suben de peso posnatalmente<sup>(13)</sup>.

En relación a las anomalías de crecimiento, Jones reporta que las características del S.F.A. consisten en una reducción del tejido adiposo, niveles anormales de la hormona gonadotropina, y cortisona; Clarren y Smith sugieren que la deficiencia en el crecimiento en el S.F.A. se refleja en la deficiencia prenatal de las células que tiene el feto para crecer<sup>(2,9)</sup>.

## JUSTIFICACION

El alcoholismo, se considera una enfermedad crónica de etiología no determinada de instauración insidiosa que muestra síntomas y signos reconocibles proporcionales a su gravedad. Las familias de alcohólicos tienden a presentar mayor incidencia de alcoholismo; se sospecha de la existencia de defectos genéticos o bioquímicos que conducen al alcoholismo, pero aún no se han demostrado claramente, si bien se ha informado de forma constante sobre la mayor incidencia de alcoholismo en hijos biológicos, en comparación con sus hijos adoptivos <sup>(6,7)</sup>.

Los factores sociales afectan los patrones de bebida y los comportamientos consecuentes, las actitudes transmitidas por la cultura o educación del niño. Los alcohólicos presentan frecuentemente historias de hogares rotos y de relaciones alteradas con padres <sup>(19)</sup>.

Las mujeres alcohólicas han sido en general más propensas a beber en soledad y a experimentar menos algunos de los estigmas sociales. La tasa de incidencia de alcoholismo en mujeres es de 1:4 (6,13) en relación a los hombres; lo anterior ha producido mayor índice de alteraciones fetales. En este sentido el retraso mental parece ser parte de la teratogénesis del alcohol ya que los hijos de las mujeres alcohólicas a menudo son retrasados, incluso cuando crecen en hogares en régimen de adopción.

En múltiples estudios se ha demostrado que el alcohol suprime una serie de funciones celulares, y que las madres alcohólicas ocasionan a sus descendientes una serie de alteraciones y anormalidades que han sido resumidas en el síndrome del feto alcoholizado (SFA), la severidad de este síndrome se manifiesta dependiendo de la cantidad de alcohol ingerido <sup>(69)</sup> y del estado en que se encuentre el hígado de la madre <sup>(66)</sup>.

Por otro lado se han estudiado algunas alteraciones óseas en el síndrome de feto alcoholizado, sin embargo dichas alteraciones óseas en el hueso mandibular no han sido estudiadas más a fondo, razón por la cual el presente estudio de investigación realizado en crías de ratones de madres alcoholizadas, se determina el grado de teratogénesis en la estructura del hueso trabecular de las crías, observándose particularmente las características de tamaño de hueso total, cantidad celular y el tipo de hueso presente.

### **OBJETIVO GENERAL:**

Con el presente estudio se pretende demostrar por medio de un análisis morfométrico realizado en crías de ratones alcoholizados, el grado de alteración ósea en mandíbula ocasionado por el consumo de alcohol por madres gestantes.

### **OBJETIVO ESPECIFICO:**

Continuidad de un Proyecto de Investigación aportando información relevante en este campo, para detectar las alteraciones histológicas particularmente en hueso trabecular

Detectar las características y tipos de alteraciones en el hueso trabecular producto de la teratogénesis en el Síndrome de Feto Alcoholizado.

## HIPOTESIS

H<sub>0</sub>: las características del tejido trabecular del hueso mandibular no se encuentran afectadas en las crías de ratones de madres alcoholizadas

H<sub>1</sub>: las características del tejido trabecular del hueso mandibular se encuentran afectadas en las crías de ratones de madres alcoholizadas

## **MATERIAL:**

### **Animales empleados:**

- 20 Ratones hembras de la cepa CD-1
- 10 Ratones machos de la cepa CD-1
- 6 Ratones crías con antecedentes de SFA
- 3 Ratones crías normales

### **Alimento:**

- Purina comercial ad libitum
- agua y alcohol en solución a 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20%

### **Laboratorio de Técnica Histológica Ordinaria:**

- Microscopio estereoscópico
- Fotomicroscopio Reichert-Jung POLYVAR

### **Proceso de imágenes:**

- Microscopio: Carl Zeiss (FOMI)
- Objetivos: 6.3x y 16x
- Computadora: PC 386 SX 33 Mhz 4megas memoria RAM
- Interfase de video: Targa color 640 DPI
- Monitor interfase: color
- Caption camera: Con adaptador para microscopio Sony mod. CCD-IRIS color
- Paquete de digitalización de imágenes: Image Pro Plus V2.0

### **Análisis de datos:**

- Computador:  
\*PC 486 DX100 Mhz 8 megas memoria RAM

- Software:
  - ✦ Dbase III +
  - ✦ Word 6
  - ✦ SPSS for Windows Ver 5.0 (Paquete estadístico)
  - ✦ Harvard Graphics for Windows Ver 2.0
  - ✦ Excel Ver 5.0
- Impresora:
  - ✦ HP laser Jet 4L plus
  - ✦ Cannon 600C color

## DISEÑO EXPERIMENTAL

Se emplearon 20 ratones hembras y 10 machos de la cepa CD-1 de 8 semanas de edad del Bioterio de la División de estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología. Estableciendo dos grupos al azar, inicialmente se mantienen a los macho y hembras separados. El grupo experimental se mantuvo a base de purina comercial ad libitum y alcohol diluido en agua como único fluido en dosis de 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18% y 20% progresivamente para crear adición y tolerancia al alcohol, posteriormente se mantuvieron con solución al 20% antes y durante el periodo de gestación. El grupo control se alimentó con la misma purina ad libitum y agua sin alcohol antes y durante el periodo de gestación.

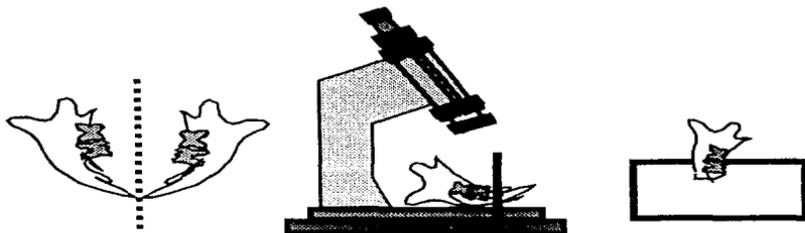
De la semana 14 a la 16 de edad, se aparearon diariamente colocando dos hembras con un macho entre las 22:30 y las 0:00 horas, revisando diariamente a las hembras para observar la presencia del tapón

vaginal. Todos los animales se mantuvieron bajo condiciones atmosféricas normales de 21°C, y bajo régimen de luz-oscuridad (12h-12h).

De los productos se tomaron nueve crías, 6 ratones con SFA (madres habituadas al alcohol) y 3 de ratones del grupo. A los 21 días postnatales se sacrificaron las ratas controles y 3 del grupo de SFA y el resto del grupo a los 28 días. Se sacrificaron por desnucamiento cerebral; el cráneo y la mandíbula, bajo un un microscopio de disección y se fijaron en paraformaldehído al 4%.

### TRATAMIENTOS HISTOLOGICOS

Las mandíbulas se desmineralizaron en solución de EDTA al 4%, seccionandose en mitades (derecha e izquierda) y bajo el microscopio estereoscópico en la región media entre el incisivo central y primer molar orientandolas en un sentido anteroposterior de tal forma que el corte será al mismo nivel. Se incluyeron en parafina, para posteriormente realizar series de cortes a 3 micras y se tiñeron con hematoxilina y eosina según técnica reportada Hernández (1990) (Figura No. 1) <sup>(69)</sup>.



Hemisección Mandibular  
por medio de hoja de  
bisturi

Sección del Incisivo  
mandibular, con hoja  
de bisturi

Orientación mandi-  
lar en el bloque de  
parafina.

**Figura 1. Disección de la mandíbula y orientación en LA inclusión en parafina.**

## PROCESAMIENTO DE IMAGENES

La medición de las dimensiones del hueso y del tejido trabecular se examinarán en un bajo un microscopio Carl Zeiss con objetivo de 6.3 x y una apertura numérica de 0.16, capturando las imágenes con una cámara de video (Hitachi VKM 98 E) acoplado a una interfase de video Targa Color 620 instalada en una computadora PC 386 SX 33 Mhz y a un monitor Panasonic GM 100. Dichas mediciones se realizaran utilizando un paquete de análisis de imagenes Image Pro Plus Versión 2.0.

## ANÁLISIS DE DATOS

En este estudio se tomaron las medidas de los cortes de hueso mandibular en el que se encuentra implantado el primer molar derecho, con el fin de homogenizar la toma de muestra evitando las diferencias existentes entre los dientes. Se realizarán mediciones del Perímetro y área del hueso alveolar (Figura 2). También se medirá el área correspondiente al hueso trabecular sumando el área de cada trabécula (Figura No. 3) por cada corte.

A partir de los datos anteriores se calculará la densidad trabecular a través de la fórmula <sup>(70)</sup> :

$$\text{Densidad Trabecular} = \frac{\text{Área del hueso trabecular}}{\text{Área del hueso mandibular}} \times 100$$

En el análisis estadístico se emplearán la prueba de ANOVA y Prueba de t de Student, para medir la significancia de las diferencias entre las dimensiones encontradas en el grupo control y los grupos experimentales.

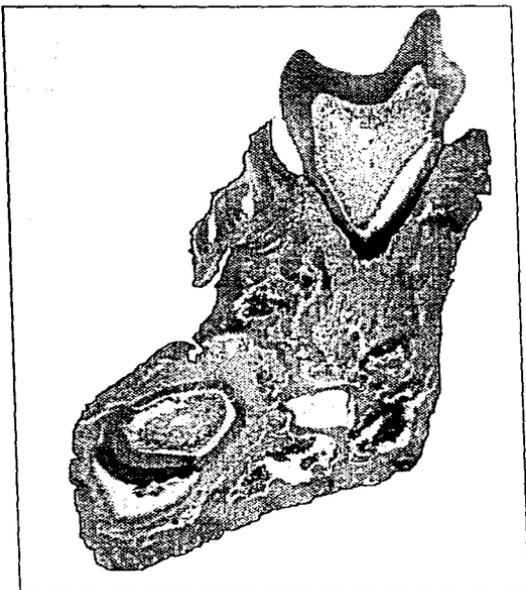


Figura No. 2. Microfotografía que muestra el corte transversal del hueso mandibular a nivel del primer molar (50x). La línea muestra el contorno del hueso alveolar, a partir del cual se media el perímetro y área del hueso.

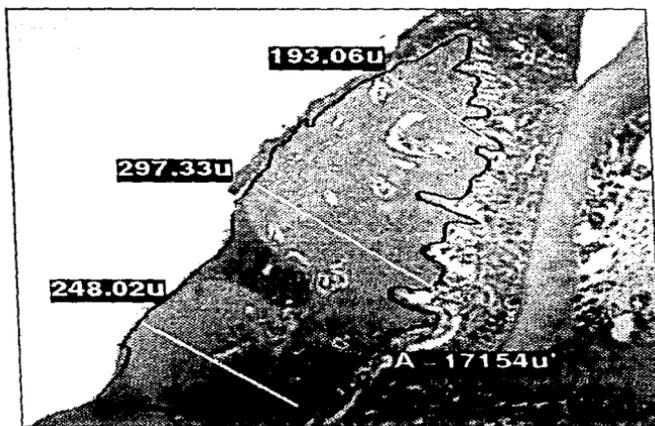


Figura No. 3. Microfotografía que muestra el tejido trabecular (ejemplo de la medición del área que ocupa una de las trabéculas).

## RESULTADOS

Los efectos sistémicos de la ingestión crónica de alcohol, han sido reportados por muchos autores, afectando principalmente en Sistema Nervioso Central, y al Sistema Cardiocirculatorio y , así como hígado y páncreas <sup>(4,5,7)</sup>. También se han reportado los efectos teratogénicos evidenciados en el Síndrome de Feto Alcoholizado, que van desde retardo general de crecimiento somático, alteraciones faciales notorias hasta microcefalia y retraso mental.

Estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado la disminución en el volumen tanto transversal como total de hueso en diferentes partes del cuerpo <sup>(37,43,44)</sup>. Sin embargo pocos han demostrado la disminución en los tejidos de mineralización (tejido trabecular) en hueso mandibular en el Síndrome de Feto Alcoholizado. Los resultados se presentan en la Tabla No. 1

De los datos, se observa que tanto el perímetro como el área total del hueso (en plano transversal) son significativamente menores en los ratones SFA que en los controles, mostrando disminuciones desde un 24 a 17% aproximadamente (Gráfica No. 4 y 5) implicando que en general los ratones SFA sufren de una disminución en el crecimiento somático.

Lo mismo ocurre con el tejido trabecular teniendo que en los ratones SFA a 21 días ocupa un área promedio de  $80077.7 \mu^2$  de tejido trabecular, en ratones SFA a 28 días con un promedio de  $88653.1 \mu^2$ ; en tanto que en los controles el tejido trabecular ocupa un área promedio de

131501.4  $\mu^2$ , lo anterior quiere decir, que también es afectada la proporción de tejido calcificado (trabeculas) en el SFA (Figura No. 6).

Con respecto a la densidad trabecular, en los ratones normales representa el 66,19%, en tanto que en los ratones SFA a 21 solo representa el 53,42% y el 53,80% en los ratones con SFA a 28 días de edad (Figura No. 7).

En las figuras 8 a la 10 se muestran microfotografías de los grupos control, SFA a 21 y 27 días.

**Tabla No. 1. Distribución de parámetros entre grupos experimentales y grupo control.**

	Control 21 días	Experimental 21 días	Experimental 28 días
n =	3	3	3
Perímetro ( $\mu$ )	4095.4 $\pm$ 76.82	3887.9 $\pm$ 74.34	3907.3 $\pm$ 71.01
Área total ( $\mu^2$ )	198673.3 $\pm$ 13949.4	149899.4 $\pm$ 14028.8	164779.6 $\pm$ 13189.6
Trabecular ( $\mu$ )	131501.4 $\pm$ 11255.5	80077.7 $\pm$ 7301.4	88653.1 $\pm$ 8359.2
Densidad Trabecular (%)	66.18 $\pm$ 1.23 %	53.42 $\pm$ 3.42 %	53.80 $\pm$ 3.81 %

- \* Si hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el grupo control y los grupos experimentales a 21 y 28 días (Prueba de ANOVA).
- \*\* No hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos experimentales a 21 y a 28 días (t - Student).

Figura 4. Comparativo de Perímetros del Hueso Mandibular

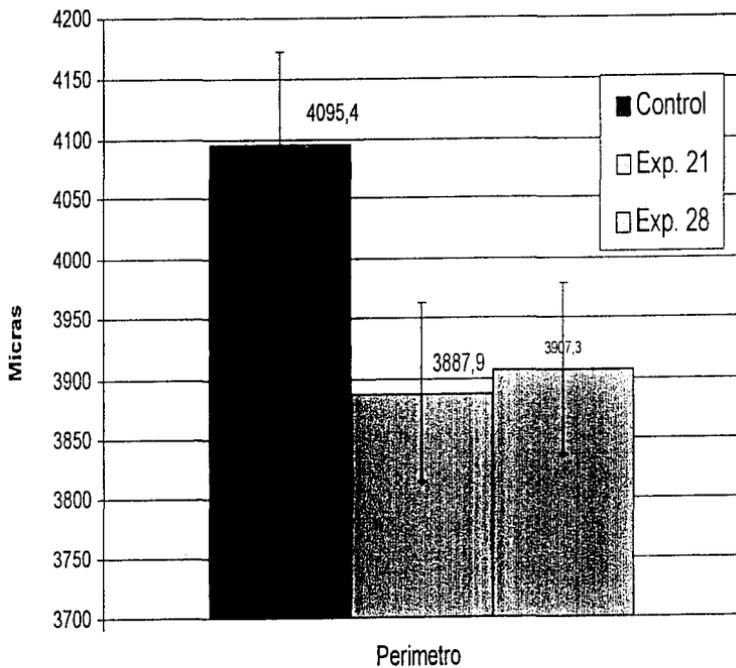


Figura 5. Comparativo de Areas del Hueso Mandibular

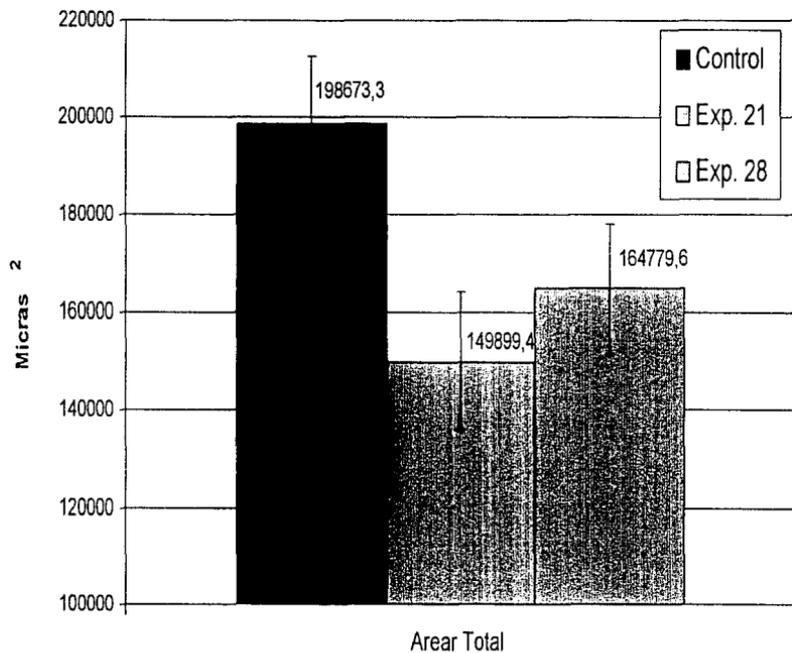


Figura 6. Comparativo de Area Total del Tejido Trabecular  
(Promedio del total del área de trabeculas)

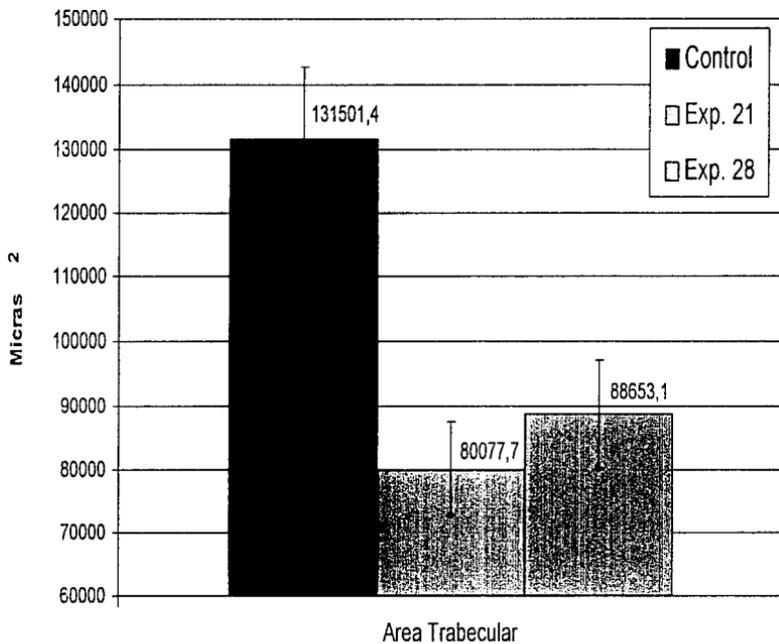
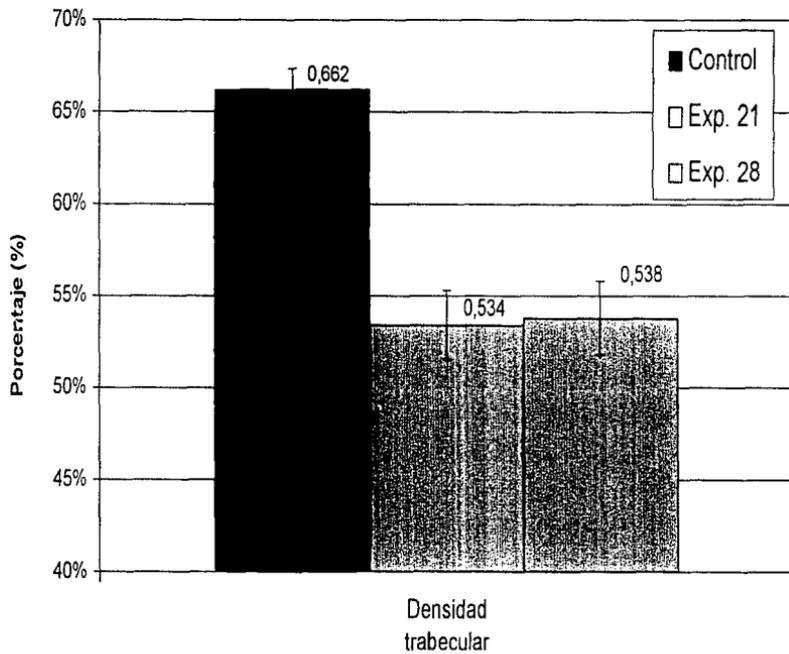


Figura 7. Comparativo de Densidades Trabeculares



RESULTADOS



**Figura No. 8. Microfotografías de hueso trabecular en crías del grupo control a 21 días**



**Figura No. 9. Microfotografías de hueso trabecular en crías con Síndrome de Feto Alcoholizado a 21 días. Observe la mayor cantidad de espacios entre las trabeculas, así como una mayor actividad de los osteoblastos, y una menor cantidad de osteocitos.**



**Figura No. 10. Microfotografías de hueso trabecular en crías con Síndrome de Feto Alcohólico a 28 días. Se presenta mayor cantidad de matriz orgánica en proceso de mineralización, con comparación a las crías de 21 días.**

## DISCUSIÓN

Se han descrito diferentes mecanismos involucrados en la citotoxicidad y teratogénesis del alcohol asociado al Síndrome de Feto Alcoholizado como:

Alteración del ciclo celular: El alcohol altera la formación y transcripción del ADN, retrasando los procesos de proliferación o acelerando la senescencia; así mismo altera los niveles de poliaminas y ornitidin descarboxilasa, una enzima dosis-limitante para la síntesis de poliaminas, y que son esenciales para la proliferación y diferenciación celular en una variedad de tipos celulares.

Es conocido que el ácido retinoico actúa como una señal molecular durante el desarrollo celular. Las tasas limitantes en la síntesis de ácido retinoico es la oxidación de retinol, dicha reacción puede ser catalizada por la alcohol deshidrogenasa (ADH); los altos niveles de alcohol inhiben la oxidación del retino catalizada por la ADH.

El efecto de la ingesta de alcohol en madres gestantes, puede incrementar los niveles de etanol en los fluidos corporales (sangre, líquido amniótico, y contenido intragástrico fetal), así como una alteración en la actividad de la deshidrogenasa hepática <sup>(72)</sup>. Otros mecanismos propuestos siguen la formación local de acetaldehído teratogénico o radicales de oxígeno por enzimas etano-oxidantes <sup>(73)</sup>; involucradas en los procesos de las enzimas ADN transcriptasas para el mantenimiento y duplicación del ADN.

La evidencias encontradas en el presente estudio demuestran que las tallas (perímetro total) de hueso trabecular de los crías con Síndrome de Feto Alcohólico se ven disminuidas en un porcentaje promedio de 5.07% en comparación con las crías normales. Con respecto a las áreas de tejido óseo y de tejido trabecular, presentan decrementos de un 24.55% y 28.28% respectivamente entre el grupo control y el grupo SFA a 21 días.

Los resultados también no permiten hacer la consideración, de que las crías SFA, producen huesos más frágiles debido a que proporcionalmente tienen menor tejido de calcificación, disminuyendo la densidad del tejido óseo hasta un 4.29%

Aunado a o anterior, si comparamos los grupos de crías SFA a 28 días, y el grupo control a 21 días, los primeros no llegan a recuperar o compensar la disminución en tallas y densidad ósea.

La disminución de talla y la fragilidad ósea, puede considerarse como un problema grave para la odontología debido a que el hueso es el principal soporte de los dientes y las alteraciones patológicas y/o de crecimiento pueden producir desde movilidad, hasta pérdida de los dientes.

## CONCLUSIONES

1. Las crías de ratones de madres alcoholizadas, presentan una disminución de las tallas del hueso alveolar a nivel de primer molar.
2. Las crías SFA, presentan menores extensiones de tejido calcificado, en comparación de crías normales.
3. Así mismo, presentan hueso más frágiles debido a que proporcionalmente, presentan densidades óseas menores.
4. Las disminuciones de talla, cantidad de tejido óseo y menor densidad ósea son más o menos persistentes aun a través del tiempo, es decir, que a pesar de que pasen los días, no llegan a alcanzar tallas normales. Para confirmar lo anterior, convenientemente se tienen que realizar estudios a largo plazo.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Karen SH, SPJH Joces. Ethanol induced teratogenesis: Characterization, mechanisms and diagnostic approaches. *Lif Sci* 1989; 3:643-649.
- 2.- Smith GN, Patrick RSK. Effects of ethanol exposure on the embryo-fetus experimental considerations, mechanisms and role of prostoglandins. *Can J Physiol Pharmacol* 1990; 69:550-569.
- 3.- Schuckit MA. Overview of alcoholism. *Jornal Dent Assoc* 1979; 99:489-493.
- 4.- Hugh A, Edmondson MD. Pathology of alcohol, *AJCP* 1980; 74(5):580-592.
- 5.- Lieber CS. Metabolism and metabolic effects of alcohol. *Semin Hematol* 1980; 17(2):85-99.
- 6.- Florenzano-Urzúa R, Zegers-Prado B. Prevención primaria de las dependencias químicas en adolescentes. *Bol of Sanit Panam* 1983; 95(2):142-154.
- 7.- Caetano R. Problemas relacionados con el consumo de Alcohol en America Latina, Revisión bibliográfica. *Bol of Sanit Panam* 1984; 87(6):497-524.
- 8.- Wekselman K, Spiering K, Hetteberg C, Kenner C, Flandermeier A, Fetal alcohol syndrome from infancy through childhood: a review of the literature. *J. Pediatr Nurs* 1991, 5 (10). 296-303.
- 9.- Clarren MD, Smith GN. The fetal alcohol syndrome. *Medical Progress* 1978; 298 (19):1063-1067.

- 10.- Elshassani SB, Purohit DM, Ferlauto JJ. Maternal use of alcohol during pregnancy is a risk lifestyle. J S C Med Assoc 1996, 92 (3): 128-32.
- 11.- Jones KL, Smith DW, Ulleland CN y Streissguth AP. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. Lancet 1973;3:1267-1271.
- 12.- Appelbaum MG. Fetal alcohol syndrome: diagnosis, management, and prevention. Nurse Pract 1995, 20 (10): 24-33
- 13.- Marck S, Hochberg SW. Fetal alcohol syndrome: report of case. JADA 1988; (116):196-198.
- 14.- Karen SH. SPJH Joces. Ethanol induced teratogenesis: Characterization, mechanisms and diagnostic approaches. Lif Sci 1989; 3:643-649.
- 15.- Graham TW. Química orgánica. Ed Limusa México 1987; 1054pp.
- 16.- Henry Rakoff, Norman CR. Química orgánica fundamental. Ed Limusa México 1992; 861 pp.
- 17.- Laguna J, Piña E. Bioquímica. Editorial La Prensa Médica Mexicana. México, D.F., 1979, 826 pp.
- 18.- Lehninger AL. Principios de Bioquímica. Editorial Omega. Barcelona, España, 1984, 1013 pp.
- 19.- Souza y Machorro, Mario. Alcoholismo: Conceptos básicos. Editorial Manual Modern, México, D.F.; 1988, 212 pp.
- 20.- Blomfield P, Molly M. Química de los seres vivos. Editorial Limusa, México, D.F. 1992, 767 pp.
- 21.- Morray L., Somer T. Textbook of biochemistry with Clinical correlations. Editorial: Wiley-Liss. New York, 1992, 1185 pp.

- 22.- Breese CR, Sonntag WE. Effect of ethanol on plasma and hepatic insulin-like growth factor regulation in pregnant rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1995. 19 (4): 867-73
- 23.- Napper RM, West JR. Long-term effect of postnatal alcohol exposure on the number of cells in the neocortex of the rat: a stereotagical study.
- 24.- Peris P, Guañabens N, Parús A. Vertebral fractures and osteopenia in choric alcohol patients. *Calcif Tissue Int* 1995. 57 (2): 111-4.
- 25.- Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, Kannel WB, Kiel DP. Alcohol intake and bone mineral density in elderly men and women: The Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1995. 142 (5):485-92.
- 26.- Sarli M, Plotkin H, Zanchetta JR. Alcoholic osteopathy. *Medicina (B Aires)* 1994, 54(4): 363-70.
- 27.- Klein RF, Fausti KA, Carlos AS. Ethanol inhibits human osteoblastic cell proliferation. *Alcohol Clin Exp Res.* 1996. 20(3): 572-8.
- 28.- Manceri HJ, Becker KB, Conway S. The influence of ethanol exposure on insulin-like growth factor (IGF) type II receptors in fetal rat tissues. *Life Sci* 1996. 59(1): 51-60.
- 29.- Ramanathan R, Wilkemeyer MF, Mittal B, Perides G. Alcohol inhibits cell-cell adhesion mediated by Human L1. *J Cell Biol* 1995. 133(2):381-90.
- 30.- Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutica. Ediciones Doyma, Octava Edición Española: Pags. 972-974, 1640-1645, 2080.
- 31.- Zima T. Ethanol metabolism and pathobiochemistry of organ damage: IV. Ethanol in relation to the cardiovascular system. Hematologic, immunologic, endocrine disorders and muscle and

- 
- bone damage caused by ethanol. Fethal alcohol syndrome. *Sb Lek* 1993. 94(4):303-9 (Abstrac).
- 32.- Church MW, Morbach CA, Subramanian MG. Comparative effects of prenatal cocaine, alcohol, and undernutrition on maternal/fetal toxicity and fetal body composition en the Spague-Dawley rat with observations on strain-dependent differences. *Neurotoxicol teratol* 1995. 17(5): 559-67.
- 33.- Parra-Cabrera MS, Hernández-Ávila M, Tamayo JA, Fernández-Ortega MC. Factores de riesgo en la osteoporosis: Evidencias clínicas y epidemiológicas.
- 34.- Saville PD. Changes in bone mass with age and alcoholism. *J Bone Joint Surg (BR)* 1965; 47:492-499.
- 35.- Moniz C. Alcohol and bone. *Br Med Bull* 1994 50(1): 67-75.
- 36.- Gonzalez-Calvín JL, García-Sánchez A, Bellot V, Muñoz-Torres M, Raya-Alvarez E. Mineral Metabolism, osteoblastic funtion and bone mass in chronic alcoholism. *Alcohol Alcohol* 1993, 28(5):571-9.
- 37.- Dalén N, Lanke B. Bone mineral loss in Alcoholics. *Acta Orthop Scand* 1976; 47:469-71.
- 38.- Rogisky MS, Zanzi Y, Cohn SH. Skeletal and lean body mass in alcoholics with and without cirrhosis. *Calcif Tissue Res* 1976; 21(S):386-391.
- 39.- Nilsson BE, Westlin EN. Changes in bone mass in alcoholics. *Clin Orthop* 1973; 90:229-232.
- 40.- Laitinen K, Körkköinen M, Lalla M, Lamberg-Allardt C, Tunninen R, Töhtelö R. Is alcohol an osteoporosis-inducing agent for young and middle-age women. *Metobalism* 1993. 42(7): 875-81.
-

- 
- 41.- Holbrook TL, Barrett-Connor E. A prospective study of alcohol consumption and bone mineral density. *BMJ* 1993. 306 (6891): 1506-9.
  - 42.- Farley JR, Fitzsimmons R, Taylor AK, Jorch UM, Lau KHW. Direct effects of ethanol on bone resorption and formation in vitro. *Arch Biochem Biophys* 1985; 23:305-314.
  - 43.- Bikle DD, Genant HK, Cann C, Recker RR, Halloran BP, Strewler GJ. Remodeling osea in alcohol drinker. *Ann Intern Med* 1985; 103:42-48.
  - 44.- Schnitzler CM, Salomon L. Bone changes after alcohol abuse. *S Afr Med J* 1984; 66:730-734.
  - 45.- Vernejoul MC, Bielauff J, Herve M, Gueris J, Hott M, Modrowski D, Kuntz D, Miravet L, Ryckewaert A. Evidence for defective osteoblastic function: The role for alcohol and tobacco consumption in osteoporosis in middle aged men. *Clin Orthop* 1983; 179:107-115.
  - 46.- Johnell O, Nilsson BE, Wiklund PE. Bone morphometry in alcoholics. *Clin Orthop* 1982; 165:253-258.
  - 47.- García-Sánchez A, Gonzalez-Calvin JL, Diez-Casals JL, Gallego-Rojo F. Effect of acute alcohol ingestion on mineral metabolism and osteoblastic function. *Alcohol Alcohol* 1995 30(4): 449-53.
  - 48.- Acosta Martinez N, Carter Bartlett PM. Metabolismo del hueso. *ADM* 1992; XLIX(2):106-111.
  - 49.- Ten Cate. *Histología Oral*. Ed Panamericana México 1986; 65-191.
  - 50.- Rateitschak KH, Rateitschak-Plüs EM. *Atlas de Periodoncia*, Ed Salvat España 1990; 37-69.

- 
- 51.- Cole AS, Eastoe JE. Biochemistry and oral biology with contributions of Geary CP, Hayes ML, Smillie AC. John Wright and sons. Bristol. U.K. 1977.
  - 52.- Leeson. Histología. Nueva Editorial Interamericana SA de CV. Quinta Edición. Pags:132-157.
  - 53.- Geneser F. Tejido esquelético en histología. Ed Médica Panamericana Argentina 1984; 215-250.
  - 54.- Ham WA. Tratado de histología. Ed Interamericana México 1984; 425-429.
  - 55.- Young RW. Specialization of bone cells In. Bone biodynamics. Frost HM Ed Little Brown 1964.
  - 56.- Baron R. Importance of the intermediate phases between resorption and formation in the measurement and understanding of the bone remodeling sequence. Second international Workshop on bone histomorphometry. Lyon de Meuner Paris 1977; 179-183.
  - 57.- Baud CA. Submicroscopic structure and functional aspects of the osteocyte. clin Orthop. 56:227.
  - 58.- Duncan H. Osteoblasts and osteoid. A hard look In: Second international workshop on bone histomorphometry. Ed Meunier Paris 1977; 291-296.
  - 59.- Marks Jr SC. The origin of osteoclasts. J Oral Pathol 1983; 12(4):226-256.
  - 60.- Baud CA. Submicroscopic structure and functional aspects of the osteocyte. clin Orthop. 56:227.
  - 61.- Belanger LF. Osteocytic osteolysis. Calcif Tissue Res 1969; 4:1.
  - 62.- Whitson WS. Tight junction formation in the osteon. Clin Orthop 1972; 86:206-213.

- 63.- Tanaka T, Sakano A. Differences in permeability of microperoxidase and horseradish peroxidase into the alveolar bone of developing rats. *J Dent Res* 1985; 64(4):870-876.
- 64.- Shafer WG, Levy BN. *Tratado de Patología Bucal*. Ed Interamericana México 1986; 1-61.
- 65.- Horton MA, Rimmer EF. Surface marker and functional characterization of multinucleate giant cells generated in long term culture of neonatal rabbit bone marrow. *Bone* 1986; 7:155-156.
- 66.- Abel EL. Consumption of alcohol during pregnancy: A review of effects on growth and development of offspring. *Hum Biol* 1982;54:421-453.
- 67.- Bratton RL. Fetal alcohol syndrome. How you can help prevent it. *Posgrad Med* 1995, 98(5): 197-200
- 68.- Wood Nelson; WTJ. Fetal alcohol syndrome. Review *J Den Chil* 1981; 6:198-200.
- 69.- Hernández JC. Morphologic effects of maternal alcohol intake on skull, mandible and tooth of the offspring in mice. *Japanese Journal of Oral Biology* 1990;32:4.
- 70.- Takashi H, Hideo Y. Quantitative and morphological studies of the bones by mathematical, morphology theory and practice of mathematical morphology: *Bull Tokyo Dent Coll* 1989; 30(2):59-65.
- 71.- River C. Alcohol stimulates ACTH secretion in the rat: mechanisms of action and interaccion with other stimuli. *Alcohol Clin Exp Res* 1996 20(2): 240-254.

- 72.- Travús C. Camps L. López-Tejero D. Liber alcohol dehydrogenase activity and ethanol levels during chronic ethanol intake in prenat rats and their offspring.