



TESIS DOCTORAL

**APLICABILIDAD CLÍNICA Y
DAÑO TÉRMICO GENERADO POR
LÁSER (DIODO Y ER, CR:YSGG)
EN CIRUGÍA ORAL.**

Antonio González Mosquera

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

SANTIAGO DE COMPOSTELA SEPTIEMBRE DE 2015



D. Pablo Ignacio Varela Centelles, Profesor Asociado de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela,

Dña. Lucía García-Caballero Pérez, Profesora Asociada de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela y

D. Juan Manuel Seoane Romero, Doctor en Estomatología por la Universidad de Santiago de Compostela

HACEN CONSTAR:

Que el trabajo de investigación que presenta D. Antonio González Mosquera, con el título de “Aplicabilidad clínica y daño térmico generado por láser (diodo y Er,Cr:YSGG) en cirugía oral. ”, ha sido realizado bajo nuestra dirección, supervisando en todo momento su elaboración.

Que nuestro criterio reúne las características de rigor, originalidad y mérito suficientes para optar al grado de Doctor y ser elevado al superior juicio del Tribunal designado a tal efecto.

Para que así conste, a efectos de justificar los mencionados extremos ante los órganos competentes de la Universidad de Santiago de Compostela, a 25 de Septiembre de 2015.

Fdo. Pablo I. Varela
Centelles

Fdo. Lucía García-
Caballero Pérez

Fdo. Juan M. Seoane
Romero

Fdo. Antonio González Mosquera(doctorando)



A mi familia, y en especial a mi madre y hermano.





AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Juan Manuel Seoane Lestón, por ayudarme e introducirme en el mundo de la investigación por su paciencia, comprensión y por estar siempre que he necesitado consejo..

Al Prof. Pablo Varela Centelles, por el apoyo prestado a lo largo de todo el trabajo, gracias por ser una referencia.

A la Prof. Lucía García Caballero, por su inestimable ayuda, sobretodo en el ámbito de la histopatología,

Al Dr. Juan Seoane Romero por su participación y consejos

A la unidad de Pacientes especiales por su colaboración y su cercanía , en especial a los profesores Pedro Diz Dios y Jacobo Limeres Pose.

A mis profesores y compañeros de la unidad del Prótesis Dental por todo lo aprendido a lo largo de estos años

Al Dr. Ángel Insua, la Dra. Mariña Sánchez, el Dr. Javier López- Niño y Laura Lago, por su colaboración en las diversas fases de esta investigación.

Al departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina y Odontología.

A J. Souto y E. Carrlsson, por si implicación , y el apoyo diario.

A mis compañeros y amigos, que de algún u otro modo me han ayudado en la realización de este trabajo.

A Macarena por su comprensión por el tiempo y esfuerzo dedicados a este trabajo

A mi familia, la base de todo mi esfuerzo, aunque estas líneas no bastan para agradecer todo lo recibido, sin su apoyo y cariño esta tesis no hubiera sido posible.





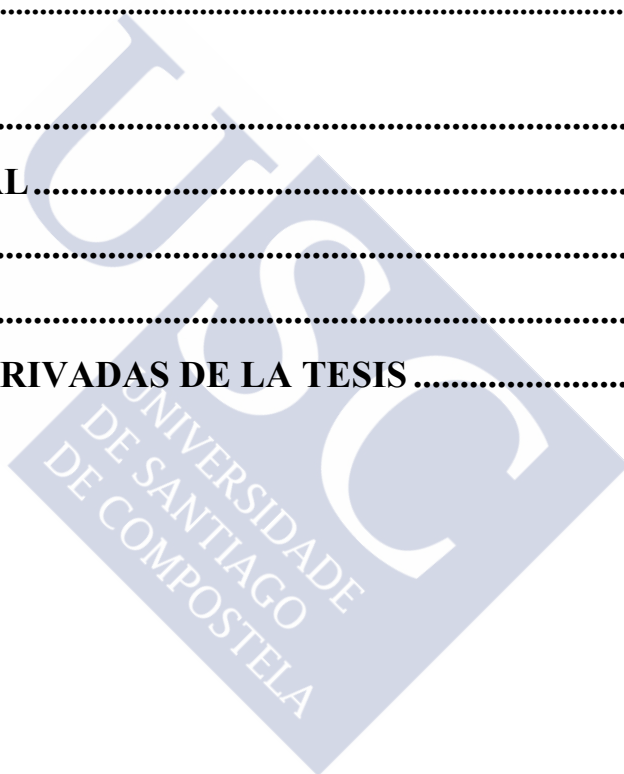
ÍNDICE



ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	13
1.1. Propiedades Físicas de la luz Láser.....	15
1.2. Daño térmico asociado a la irradiación láser en patología oral.	
Generalidades.....	17
1.3. Interacción de la irradiación láser y los tejidos	19
1.4 El daño térmico en el láser de dióxido de carbono (CO₂).....	20
1.5. Estudios fisiológicos e histomorfométricos de daño tisular en tejidos orales con láser CO₂	24
1.6. Estudios de comportamiento clínico del láser CO₂ sobre tejidos orales	28
1.7. Efectos de la irradiación con otros tipos de láser sobre los tejidos orales	30
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	37
3. DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN.....	41
3.1. El láser Er, CR: YSGG induce un menor número de artefactos epiteliales displásicos que el láser de CO₂; un estudio experimental in vivo sobre la mucosa oral.	45
3.1.1. Resumen.....	45
3.1.2. Introducción	45
3.1.3. Material y Métodos.....	46
3.1.4. Resultados.....	48
3.1.5. Discusión.....	49
3.1.6. ANEXO.....	53
3.2. Terapia con láser Er,Cr:YSGG para leucoplasias orales minimiza la afectación térmica en los márgenes quirúrgicos. Estudio piloto.	57
3.2.1. Resumen.....	57
3.2.2. Introducción	57
3.2.3. Material y Métodos.....	59
3.2.4. Resultados.....	60
3.2.5. Discusión.....	61

3.2.6. ANEXO	65
3.3. Hiperplasia pseudoepiteliomatosa tras cirugía oral con láser de diodo. Un estudio experimental.	71
3.3.1. Resumen	71
3.3.2. Introducción.....	71
3.3.3. Material y Métodos	73
3.3.4. Resultados	74
3.3.5. Discusión	75
3.3.6. ANEXO	78
4. RESUMEN	81
5. DISCUSIÓN GÉNERAL	91
6. CONCLUSIONES	101
7. BIBLIOGRAFIA	105
8. PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS	117



INTRODUCCIÓN





1. INTRODUCCIÓN

1.1. Propiedades Físicas de la luz Láser.

El nombre láser es un acrónimo procedente de la frase Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (amplificación de luz por emisión estimulada de radiación). Albert Einstein sentó las bases de la naturaleza corpuscular de la luz (1916) y generó el concepto de “emisión estimulada”, que es la base teórica de la luz láser.

La luz se define como la energía radiante producida por toda la materia física con independencia de su estado.

En un principio la luz era concebida solo como la porción del espectro electromagnético visible al ojo humano. Posteriormente, fueron descubiertas dos bandas de energía radiante: una por encima del violeta, y otra más allá de la luz roja, siendo la primera banda ultravioleta y la segunda banda infrarroja.

Bohr y Einstein definen la luz como una onda que atraviesa el espacio en forma de paquetes de energía o cuantos. Por lo tanto, un fotón posee cuatro propiedades dependientes de la materia que la ha producido: longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud.

La longitud de onda es la distancia entre dos crestas consecutivas de la misma onda, esto determina el color de la luz generada. Si tenemos en cuenta todo el espectro lumínico, encontramos una longitud de onda entre 100 y 10000 nanómetros (nm), de los cuales el ojo humano solo es capaz de distinguir la comprendida entre 760 nm (luz roja) y 385 nm (luz violeta).

La mayoría de las luces láser utilizadas en odontología se encuentran dentro del espectro visible, o muy cerca de este el laser diodos 880 nanómetros y el er.cr solo algunos láseres blandos cuya longitud de onda varia entre 600 y 1000 nanómetros como el GaAlAs o el NeHe, a excepción del el láser CO₂ 10600 nanómetros.

La velocidad de onda es constante, pues es la misma para todos los tipos de luz 300000 km/s.

La frecuencia de onda se define como el número de crestas que atraviesan en un segundo un punto determinado. Su unidad de medida son los hercios (Hz) u oscilaciones por segundo. Existe un relación inversamente proporcional entre longitud de onda y frecuencia. Ambas determinan energía de la onda.

La amplitud es la altura vertical desde el pico de una onda hasta el punto más bajo de la siguiente. La amplitud marca la energía de la onda: cuanto más sea una onda, más energía poseerá. Existe una relación entre potencia e intensidad de luz: cuanto más potente sea una determinada onda, esta emitirá una luz más brillante.

Para comprender el fenómeno de la luz láser debemos definir antes la emisión de luz.

La luz láser está definida por tres características que la diferencian de los diferentes tipos de luz: monocromática, coherente y colimada.

El láser es una luz coherente, puesto que todas sus ondas están relacionadas entre sí, tanto en tiempo como en espacio. Esto se debe a que cada fotón está en fase con el fotón entrante. Ambas coherencias, espacial y temporal, son producidas en el proceso de radiación estimulada y por la resonancia o retroalimentación óptica. Contrariamente, la luz generada en una bombilla está compuesta de muchas longitudes de onda que se dispersan en todas direcciones. A este tipo de luz se la denomina luz incoherente. La coherencia provoca la colimación del haz láser a lo largo de distancias extremadamente largas y permite lograr un haz extremadamente focalizado, amplificando la onda e incrementando la potencia de la luz.

Como se citaba con anterioridad, la luz láser es colimada, es decir, viaja en una sola dirección, ya que todas las ondas emitidas están casi paralelas y por tanto no hay divergencia del rayo de luz, por lo que permanece invariable aún después de largos recorridos. Cada onda de luz es equidistante de las otras. Este haz colimado o alineado, que minimiza la pérdida de potencia, concentrando la luz en el foco, aumenta en gran medida la precisión durante el procedimiento quirúrgico. La mayor parte de los láser emiten un haz que puede llegar a divergir a lo sumo en un miliradián. En otras palabras, se disemina apenas un metro si recorriese un kilómetro. Esto explica por qué es necesario tomar precauciones con la luz del láser. Al no dispersarse, el láser mantiene su brillo. Por ejemplo, después de atravesar 10 metros a lo largo de un quirófano, el haz podría dispersarse apenas 10 milímetros (mm), estando todavía lo suficientemente concentrado para que exista riesgo de daño al personal que se encuentre en la sala.

1.2. Daño térmico asociado a la irradiación láser en patología oral. Generalidades

Cuando un tejido absorbe la energía procedente de un aparato láser, el calor liberado por el efecto foto-térmico se utiliza en provocar una vaporización intra y extracelular, que finalmente se traduce en una explosión celular y ablación del tejido.

Con el tiempo suficiente, el calor puede diseminarse lateralmente a los tejidos circundantes, asumiendo la homogeneidad de los tejidos. Esto sucede formando unos círculos concéntricos de inicio en el punto de aplicación. Cada círculo representa un grado de daño térmico, a medida que el calor se va disipando en los tejidos.

La zona necrosada por coagulación es el área circundante al tejido diana que está dañada de forma reversible o irreversible por los efectos del láser. El grado de daño térmico está relacionado con la potencia del láser, el área irradiada y la duración de la exposición (Lippert y cols, 1995). Cuanto más prolongada sea la aplicación del láser, mayor será la extensión de esta zona.

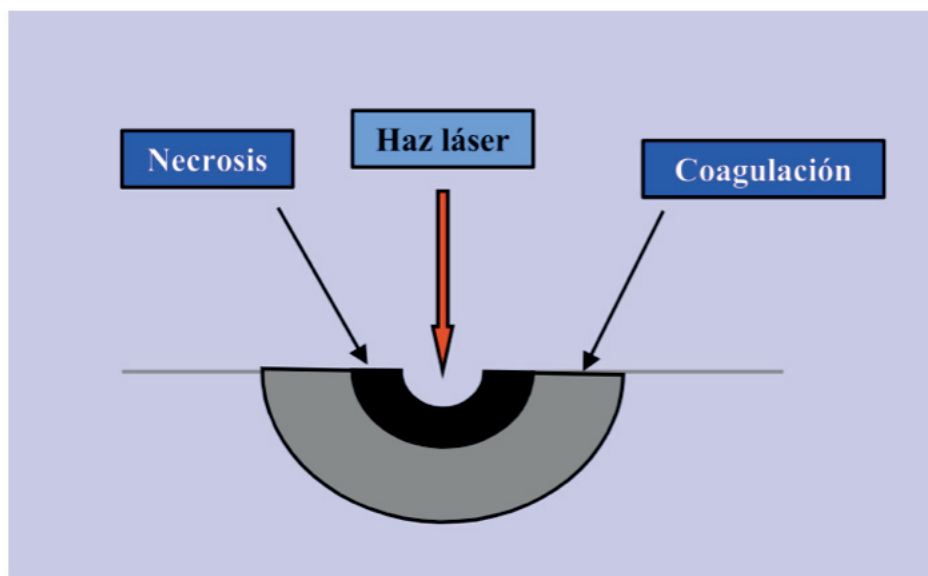


Ilustración 1

Este aumento en el daño tisular puede provocar un mayor tiempo de curación, una herida de mayor tamaño de lo esperado y una reducción de la resistencia a la tensión de la herida. Algunos exámenes histológicos han demostrado que se produce menos daño térmico con la

utilización de un láser de alta energía, como el superpulsado (que son pulsos de energía de corta duración, pero de alta frecuencia), cuyo nivel de energía no es constante, pero aplica una mayor densidad de energía sobre el tejido en comparación con el modo continuo (Lippert y cols. 1995).

El efecto positivo asociado al daño térmico es que todos los vasos de pequeño diámetro en el área de coagulación son sellados, logrando hemostasia durante la cirugía, siendo esta una de las principales ventajas de la utilización del láser (Catone y cols, 1997)

Sin la existencia de un área coagulada, el sitio quirúrgico sangraría y la cirugía sería más difícil. Esto es especialmente importante cuando se eliminan lesiones benignas de pequeño tamaño, donde es importante una buena visualización de la transición entre tejido sano y patológico. Sin embargo, la ausencia de sensación táctil constituye una limitación para esta técnica.

La consideración final afecta al efecto térmico sobre los bordes histológicos de la muestra. En una biopsia incisional o escisional, la existencia de un borde necrótico o coagulado con una pérdida de orientación celular, eosinofilia, vacuolización y superficie carbonizada, podría imposibilitar el estudio histopatológico.

El tiempo de relajación térmica es el tiempo necesario para disipar el 50% del calor por difusión a través de los tejidos blandos y es proporcional al cuadrado de la distancia recorrida. Si el calor que afecta a la superficie es suficientemente breve, los tejidos circundantes son capaces de dispersar la energía desde el punto de contacto, existiendo un daño mínimo o siendo este nulo. En el caso contrario, si el tiempo de contacto se incrementa y la conducción no puede diseminar la energía térmica en el tejido adyacente, se produce un daño térmico (Catone y cols 1997).

La necrosis por coagulación se basa en la dispersión lateral del calor desde el punto de impacto a los tejidos circundantes. Para evitarlo, se utilizan láser pulsados o superpulsados, que generan unos altos picos de potencia durante periodos de tiempo muy cortos. Un pulso de láser cuya duración sea inferior al tiempo de relajación térmica del tejido limitará el daño en el lugar de impacto y evitará la dispersión de del mismo a los tejidos adyacentes. Aunque este método reduce la generación de daño en los tejidos y mejora la curación de las heridas, con ciertos tipos de láser se puede reducir el efecto hemostático. La mayor parte de los láser de dióxido de carbono y Nd:YAG no alcanzan el tiempo de relajación térmica ni de la mucosa oral, ni de la piel, y por tanto, provocan daño a los tejidos limítrofes. (Caton y cols 1997).

1.3. Interacción de la irradiación láser y los tejidos

Los distintos tejidos reaccionan de forma desigual frente a los distintos láseres. El haz del láser de dióxido de carbono es fuertemente absorbido por el agua. Así, a mayor contenido de agua en el tejido, mayor absorción de energía se producirá por parte de dicho tejido. El efecto quirúrgico del láser se debe, pues, a una transferencia de energía foto-térmica al tejido diana, provocando coagulación y vaporización.

El efecto foto-térmico se inicia entre 37 y 60°C, a pesar de ser difícilmente percibidos a esta temperatura. Fisiológicamente, entre 42,5°C y 44 °C las células se dañan de forma irreversible y mueren. Los cambios visuales aparecen con blanqueamiento de la superficie a unos 60°C, momento en el que las hélices del colágeno se desenrollan de forma irreversible. La desnaturalización proteica se inicia a los 65°C, provocando la coagulación y contracción de la superficie (Lippert y cols, 1995; Benninger y cols, 2000).

La aplicación de energía procedente del láser puede elevar la temperatura a más de 100°C. Si el incremento de temperatura se produce rápidamente, el agua celular hierve inmediatamente, pudiendo alcanzarse temperaturas mayores de 700°C. Todos los contenidos celulares son destruidos, con una rápida sobreexpansión del volumen celular seguida de una vaporización isobárica.

Clínicamente, en la incisión o la eliminación de un volumen de tejido se observa en la superficie la producción de una nube de vaho denominada “pluma”. Esta “pluma” no solo transporta vapor de agua y detritus celulares, sino que también transfiere el calor generado por el láser a la atmósfera, reduciendo la conducción térmica y el daño en los tejidos circundantes (Catone y cols, 1997).

TEMPERATURA	CAMBIO VISUAL	CAMBIO BIOLÓGICO
42,5°C	Ninguno	Las células malignas son destruidas
44°C	Ninguno	Las células normales son destruidas
60°C	Blanqueamiento	Sobrecalentamiento
65°C	Hemostasia	Coagulación
65-90°C	Color blanquecino o gris en el tejido	Desnaturalización proteica
90-100°C	Contracción topográfica	Desecación tisular
100°C	Vaporización del agua, formación de humo	Vaporización tisular, ablación.
300°C	Carbonización	Combustión tisular
700°C	Iridiscencia	
3265°C	Humo	

Tabla 1. Correspondencia entre las temperaturas alcanzadas con láser, los cambios clínicos observados y los hallazgos biológicos.

1.4.El daño térmico en el láser de dióxido de carbono (CO₂)

Las bases del conocimiento fueron establecidas por los estudios de (Pogrel y cols, 1990), quien realizó la evaluación histológica del tejido necrótico adyacente a las incisiones generadas con el láser de dióxido de carbono, afirmando que la diseminación lateral de energía es mínima en las heridas producidas por este láser, debido a que la mayoría de la energía se transforma en calor, que evapora el agua tisular y vaporiza los tejidos. Los estudios de monitorización termográfica infrarroja del láser de dióxido de carbono han mostrado temperaturas de 145°C en los tejidos mientras se realiza la incisión, pero la temperatura desciende hasta 45° si se mide a 500 μ lateralmente a la incisión. (Pogrel y cols, 1988). Este autor, también midió la anchura

media de necrosis en los diferentes tipos de tejido, observándose la zona más ancha de necrosis en los tejidos fibrosos densos, epitelio mucoso y músculo; mientras que se observó una menor necrosis en glándulas salivales y tejido conectivo laxo. En todos los tipos de tejido examinado, la superficie estaba marcada por áreas carbonizadas y por una tinción eosinofílica intensa debido a la coagulación de las proteínas tisulares.

Tipo de Tejido	Anchura media de la necrosis (μm)	Desviación Estándar
Epitelio	859	157
Músculo	851	128
Tejido conectivo denso	961	220
Tejido conectivo laxo	511	149
Glándulas salivales	415	80

Tabla 2. Diferentes medidas de necrosis asociadas a la incisión con láser CO₂, según los diferentes tejidos irradiados.

- **Epitelio**

El daño epitelial provoca la vacuolización de las capas superficiales, separación y fragmentación de la queratina, degeneración de células basales y separación de la lámina propia.
- **Tejido conectivo**

Tanto en el tejido conectivo denso como en el laxo, hay una pérdida de fibras colágenas y se reemplazan por bandas homogéneas y confluentes de apariencia vítrea. Se observan dos zonas: una zona de necrosis lateral a la herida láser, caracterizada por una intensa tinción eosinofílica, superficie carbonizada,

ausencia de morfología celular y destrucción de fibras colágenas; y otra zona más profunda, variable en anchura (aproximadamente entre 100 y 500 μ) y caracterizada por una gradación en la tinción eosinofílica, alta en la zona cercana a la zona de necrosis y baja en la zona adyacente al tejido conectivo sano. Esta área mostró signos de daño térmico, en forma de homogeneización vítrea de las fibras de colágeno, vasos ocluidos y algunas vacuolas, posiblemente causadas por la expansión del vapor de agua. Sin embargo, también se observaron claramente células cuyos bordes estaban intactos con un estroma intercelular compuesto por fibras de colágeno normales y haces homogéneos. Esta zona puede representar el área de daño celular reversible. (Adrian, 1979; Cercadillo-Ibarguren y cols 2010; Hall y cols, 1971; Mihashi y cols, 1976)

- **Músculo**

En el músculo, las vacuolas se observaron dentro de las fibras. La sustancia muscular que rodea dichas vacuolas presenta una apariencia homogénea y vítrea.

- **Glándulas salivales**

Los márgenes de la destrucción térmica son más difíciles de valorar debido a su composición heterogénea. Sin embargo, la cantidad de tejido necrótico identificable que se pudo medir fue escaso.

Se han evidenciado ventajas del láser CO₂ sobre la electrocirugía, en términos de un menor daño térmico más allá de los bordes de la herida. El grado de daño es importante, porque afecta a la curación de la herida y puede comprometer el examen histológico y por tanto el diagnóstico del espécimen (Pogrel y cols, 1990a ; Cercadillo y cols, 2010). La amplitud de la necrosis provocada por el láser varía en función del tejido sobre el que se realiza la intervención, reflejando las diferencias de densidad y contenido en agua de los distintos tejidos. Así, la misma densidad de potencia y tiempo de exposición pueden provocar distintas amplitudes de necrosis en los tejidos, debido a la influencia de factores internos (densidad, conductividad y contenido en agua) y externos (movimientos involuntarios del paciente, mala alineación del aparato láser), siendo el más relevante de todos ellos, la cantidad de agua presente en los tejidos.

Estudios realizados con microscopia electrónica de barrido sugieren que el agua contenida en las células impactadas por el haz láser afecta a la transmisión del calor en dichas células. Las células escamosas superficiales tienen un contenido en agua relativamente bajo, lo que puede servir de explicación a la observación de la mayor área de destrucción vista en epitelio, músculo y tejido conectivo denso.

La diferente amplitud de necrosis entre el tejido conectivo denso y laxo refleja la diferente conductividad térmica entre ambos. Algo similar sucede a nivel óseo, en los que su relativa condición avascular y su pobre hidratación muestran una anchura de necrosis térmica y de daño celular mayor (Pogrel y cols, 1990).

A pesar de que el láser de dióxido de carbono se considera como superior frente al láser de diodo y al electrobisturí, su uso está comprometido por los artefactos citológicos térmicos que pueden simular atipias citológicas como hipercromatismo, pleomorfismo, elongación nuclear y degeneración vacuolar. Estos daños pueden observarse con el láser de dióxido de carbono, tanto en capas basales como suprabasales. (Eversole y cols, 1997; Matsumoto y cols, 2008; Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010)

A pesar de todo ello, algunos autores (Bornstein y cols, 2005; Suter y cols, 2010) consideran que el láser de dióxido de carbono es un instrumento apropiado para la realización de biopsias escisionales de lesiones orales, en base a estudios de seguimiento durante 12 meses a 139 pacientes cuyas lesiones intraorales fueron eliminadas con láser de dióxido de carbono. Otros estudios experimentales analizaron los efectos histológicos posteriores a la exposición a radiación láser en la mucosa de la lengua en perros (Mihashi y cols, 1973). Describieron lesiones crateriformes con cuatro zonas de cambio y destrucción tisular, después de aplicar 20 W de energía, durante 0,2 segundos (láser CO_2). La zona dañada más alejada del centro del cráter generado por el láser se situó a 0,5 mm de distancia; la zona inmediatamente adyacente al cráter del haz de láser mostraba células carbonizadas y vaporizadas con escasa morfología celular reconocible. La siguiente zona presentaba una menor destrucción con núcleos reconocibles, y en las zonas periféricas se evidenció menos destrucción, pero mayor edema intersticial y formación de vacuolas.

1.5. Estudios fisiológicos e histomorfométricos de daño tisular en tejidos orales con láser CO₂

Diferentes estudios han abordado como objetivo la cuantificación del daño térmico sobre tejidos orales asociado a la irradiación con láser CO₂, proporcionando diferentes resultados. (Pogrel y cols, 1990b) muestran un área de termodestrucción amplia, con una anchura media de 190 μm (con un rango de 110-300 μm). Los autores monitorizaron las temperaturas alcanzadas durante la cirugía con láser de dióxido de carbono, observándose temperaturas de hasta 140°C (Pogrel y cols, 1990a). El sellado de los vasos linfáticos y sanguíneos puede explicar la mínima extravasación de fluidos, lo que se traduce en una mínima respuesta inflamatoria alrededor de la herida. En este estudio no se encontraron diferencias significativas en la anchura de la zona de termodestrucción con las densidades de potencia utilizadas (Pogrel y cols, 1990b).

Otros estudios mostraron que tanto el láser como la electrocirugía producían heridas más débiles que las producidas por el bisturí, pero que finalmente alcanzaban la misma resistencia (Hall, 1971). Fisher y cols (1983) realizaron una comparativa de curación de una herida en la mucosa oral canina con el uso del láser de dióxido de carbono frente a otra realizada con cirugía convencional, mostrando en el caso del láser una menor formación de colágeno, una menor contracción de la herida, así como una regeneración epitelial más lenta.

Sinha y Gallagher (2003) llevaron a cabo un minucioso estudio comparativo, valorando diferentes aspectos relacionados con el empleo de bisturí frío, bisturí ultrasónico, láser de dióxido de carbono y electrocirugía mono y bipolar sobre la mucosa oral en cerdos de guinea. En primer lugar, estudiaron el grado de hemostasia conseguida con cada instrumento. Con el bisturí ultrasónico y la electrocirugía no se produjo sangrado durante la intervención; con el láser de dióxido de carbono se produjo un cierto sangrado, que cedió con presión ligera sobre la herida, mientras que la cirugía con bisturí frío necesitó de ligadura quirúrgica para controlar la hemorragia. Cuando se analizó la coagulación tisular conseguida, con el láser de dióxido de carbono y los sistemas de electrocirugía, apareció una coagulación amplia de coloración oscura. Con el bisturí ultrasónico se produjo una ligera coagulación, únicamente en el punto de aplicación, y no se observó cambio de coloración; en tanto el bisturí frío no produjo ningún tipo de coagulación tisular. Respecto a la reepitelización, la más rápida ocurrió al utilizar el bisturí frío y el bisturí ultrasónico. Al final de la primera semana se había producido una reepitelización

completa en los animales intervenidos con estos instrumentos. Con ninguno de los otros instrumentos se completó la reepitelización en la primera semana, aunque se completó en todos los animales antes del final de la cuarta semana.

Hambley y cols (1988) demostró que el bisturí ultrasónico era el instrumento que menor daño provocaba a los tejidos adyacentes y lograba una mayor velocidad de curación que la electrocirugía y el láser de dióxido de carbono.

Un estudio similar fue llevado a cabo por Liboon y cols (1997), en este caso comparando las incisiones en mucosa realizadas con bisturí, láser de dióxido de carbono, electrocirugía y electrocirugía de voltaje constante (CVES). Se estudiaron varios parámetros, entre ellos la facilidad de manejo, el daño tisular agudo generado y la evolución de curación de las heridas. El CVES fue, a juicio de los autores, el instrumento más fácil de manejar, seguido por el láser. El bisturí fue percibido como difícil de manejar en cavidad oral debido a la dificultad de aplicar una presión constante. El tiempo de incisión fue menor con el bisturí seguido de la electrocirugía, el CVES y el láser, entre el bisturí y el láser se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

También se midió la anchura de la zona de necrosis lateral. Esta zona se caracteriza por existencia de manchas profundas, núcleos picnóticos deformes, vasos sanguíneos y linfáticos trombosados o colapsados y artefactos de cauterización. La anchura de la destrucción epidérmica medida en los especímenes histológicos es indetectable con el bisturí, moderado en el CVES y el láser, dándose en la electrocirugía el mayor grado de destrucción tisular. Las diferencias entre cada grupo fueron estadísticamente significativas, excepto las existentes entre el CVES y el láser. La extensión de la desnaturalización del colágeno fue inexistente con el bisturí, moderada con el CVES, grande con el láser; y de nuevo, la mayor extensión se obtuvo con la electrocirugía. En cuanto a la curación de las heridas: el mayor grado de inflamación se produjo a los tres días de la cirugía con todos los instrumentos. En todos los especímenes se encontraron infiltrados polimorfonucleares alrededor de las heridas. El área de inflamación fue significativamente inferior en las heridas de bisturí a los 3 días. La formación de tejido de granulación fue máxima en la 4ª semana en todos los especímenes, excepto en los intervenidos mediante el CVES, que alcanza el pico en la 6ª semana

Schoinohoriti y cols (2012) por el contrario, observaron que el láser de dióxido de carbono produjo una mayor extensión de daño térmico al realizar incisiones en lenguas de cerdo adulto comparado con la utilización de electrocirugía monopolar (MES) y radiocirugía (MRS). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas desde el punto de vista estadístico en cuanto a la velocidad de reepitelización.

Hanby y cols (2011) también han comparado la utilización del láser de dióxido de carbono con otros instrumentos, en este caso, con el bisturí armónico o ultrasónico, que presenta ventajas sobre el bisturí eléctrico tradicional. Estos autores han diseñado un estudio con dos cadáveres humanos a los que realizaron resecciones similares a la realizada en tumores con bisturí armónico (5W) y láser de dióxido de carbono (13-16-18W) de fibra flexible. Se obtuvieron tres muestras de lengua seccionadas con bisturí armónico y la profundidad de daño térmico fue de 0,69 mm, con un rango de 0,51-0,82 mm. Las cinco muestras tomadas con láser de dióxido de carbono mostraron una profundidad de daño térmico de 0,3 mm (rango 0,22- 0,43 mm). Los autores encontraron una diferencia significativa desde el punto de vista estadístico ($p=0,03$) al comparar ambos instrumentos. En base a este estudio, se concluye que el láser de dióxido de carbono produce una menor profundidad de daño térmico comparado con el bisturí armónico. Sin embargo, creen necesario seguir investigando las diferencias en curación de la herida, hemostasia, seguridad, coste-beneficio y éxitos quirúrgicos. Recientemente, Jerjes y cols (2012) ha considerado al láser de dióxido de carbono como el instrumento de elección en el manejo de pequeñas lesiones malignas o sospechosas de malignidad en cavidad oral y orofaringe. Además, se ha desarrollado un láser de dióxido de carbono que emite luz en la zona de 9,3 μm de la banda infrarroja del espectro electromagnético, frente a los 10,6 μm del láser de dióxido de carbono convencional. El láser de dióxido de carbono de 9,3 μm se acerca a las características de absorción de la hidroxiapatita, mejorando la modificación o eliminación eficiente de tejidos duros (McCormack y cols 1995; Wilder-Smith y cols,1995; Wilder-Smith y cols,1997) y aumentando por tanto la protección de los tejidos pulpaes y adyacentes. Wilder y cols (1995) realizaron un estudio comparativo entre ambas longitudes de onda del láser de dióxido de carbono en incisiones realizadas en la mucosa oral de mandíbulas de cerdos. En cuanto al incremento de temperatura, no se observaron diferencias significativas entre ambos láser, ni tampoco al valorar la profundidad horizontal ni vertical de la incisión. Midieron también el daño térmico vertical y horizontal en el tejido adyacente a la incisión, sin encontrar diferencias

significativas entre el láser de 10,6 y el de 9,3 μm . Durante la radiación con los dos tipos de láser de dióxido de carbono, no se encontraron diferencias significativas en el incremento de temperatura de los tejidos blandos adyacentes a la incisión, a una distancia de 1 mm desde el margen de la misma. Estos resultados están de acuerdo con los estudios publicados en los que se afirma que extensión media de daño tras la utilización de un láser de dióxido de carbono de 10,6 μm es menor a 0,6 mm (Fritzpatrick y cols, 1991; Mckenzie y cols, 1986; Polanyi y cols 1983; Zweig y cols, 1990). Otros estudios (Wilder-Smith y cols,1997; Turner y cols, 1992) todavía han reportado una menor extensión de 0,3 mm; situándose la extensión en un rango similar con el láser de dióxido de carbono de 9,3 μm (Wilder-Smith y cols,1997). Esto pone de manifiesto que el peligro de daño térmico sobre los tejidos adyacentes utilizando láser de dióxido de carbono es mínimo, a menos que dichos tejidos sean alcanzados directamente con el haz del láser. Este hallazgo es especialmente importante en la utilización del láser de dióxido de carbono a nivel oral, al reducir el riesgo de daño a estructuras adyacentes. En ese sentido la utilización de un láser de 9,3 μm es particularmente favorable debido a su mayor absorción por la hidroxiapatita, lo que reduce el riesgo de daño pulpar por irradiación láser inadvertida.

Romeo y cols (2014) compararon la utilización del láser de dióxido de carbono en modo continuo y en modo pulsado en lenguas “ex vivo” de cerdo, y además cuantificaron el daño térmico lateral. El láser fue empleado en modo continuo y pulsado (PW 50Hz) con unas potencias de entre 2-4 W hasta obtener 30 muestras procedentes de lengua. Los especímenes fueron subdivididos en 6 grupos y cada grupo constaba de 5 muestras. Un último espécimen fue tomado con bisturí frío y tomado como control.

El estudio histológico se realizó con microscopio óptico y pudo realizarse en todas las muestras. El daño térmico fue mínimo en cada grupo y se cuantificó en 0,095 mm a nivel epitelial y en 0,245 mm en el tejido conjuntivo, no apareciendo diferencias entre los grupos en el estudio estadístico.

1.6. Estudios de comportamiento clínico del láser CO₂ sobre tejidos orales

Tuncer y cols (2010) compararon los resultados obtenidos al realizar biopsias orales con láser de dióxido de carbono y bisturí convencional. Analizaron el daño térmico lateral en 39 muestras y observaron que el dolor intra y postoperatorio fue menor en los casos del grupo láser.

Suter y cols (2014) han realizado dos estudios comparativo entre el láser de dióxido de carbono en modo pulsado o continuo en la excisión de hiperplasias fibrosas orales. Se trataron 100 pacientes distribuidos aleatoriamente y se midió la extensión de daño térmico, la duración de las cirugías, las complicaciones intra y postoperatorias, la sensación de dolor postoperatorio, la presencia de cicatriz así como la posibilidad de recurrencia a los 6 meses. La potencia establecida fue de 5W en el modo continuo y de 4,62W en el modo pulsado, con una frecuencia de 140 Hz y 33mJ de energía.

Suter y cols (2014) realizaron las escisiones en 65 segundos en el modo continuo y 81 segundos en el modo pulsado. No hubo diferencias en cuanto al sangrado intraoperatorio. El valor medio de daño térmico fue de 161 micras en el modo continuo y de 152 micras en el modo pulsado. No hubo diferencias en cuanto al sangrado o complicaciones postoperatorias, ni tampoco en cuanto a la presencia de dolor. Sin embargo, los pacientes tomaron más analgésicos en el grupo tratado en modo continuo.

La presencia de cicatriz se observó en un 50,6% de los casos y fue más frecuente en aquellos casos tratados en el modo pulsado. Para los autores, la escisión de hiperplasias fibrosas con láser de dióxido de carbono es un método rápido que puede ser completado en menos de 3 minutos. Este láser es un método seguro para realizar este tratamiento dado el control hemostático que consigue, tanto en modo continuo como pulsado, puesto que solo se ha publicado un riesgo de un 20% de sangrado intraoperatorio y un 7% postoperatorio. Además, el control del dolor tras la cirugía es sencillo; tan sólo 1 de cada 5 pacientes tomó analgésicos y, a partir del cuarto día tras la cirugía, solo un pequeño porcentaje de pacientes sintió dolor en este estudio.

Ni el dolor intraoperatorio, ni las complicaciones o el dolor postoperatorio mostraron diferencias considerando el tipo de láser empleado. Se observó un bajo consumo de analgésicos por parte de los pacientes, ligeramente mayor en los del grupo modo continuo, pero sin relevancia clínica.

En contraste con los estudios previos en animales, la extensión de la zona de daño térmico no estuvo influenciada por el modo láser continuo o pulsado. Esto sugiere que ambos modos son igualmente aplicables para biopsias orales que requieran evaluación histopatológica. La presencia de cicatriz a los 6 meses fue vista en un 50,6% de los casos y fue ligeramente más frecuente en el modo pulsado. Los autores consideran que son necesarios más estudios para analizar si el modo en que se emplea el láser de dióxido de carbono juega un papel en la reducción de tejido cicatricial en la mucosa oral. Como conclusión final, estos autores consideran que la realización de biopsias incisionales con láser de dióxido de carbono ha demostrado lograr éxito clínico con predictibilidad a largo plazo y baja recurrencia, independientemente de si el láser es empleado en modo continuo o pulsado.

Converse y cols (2001) esta vez, analizando la curación de las heridas generadas por dos láser de dióxido de carbono, uno emitiendo en la longitud de onda de 10,6 μm y el otro a 9,55 μm . El autor considera que se han presentado muchas técnicas para reducir el daño lateral adyacente al cráter generado por el láser de dióxido de carbono, que se ha mostrado como un factor que retrasa la curación de la herida (Howard y cols, 1997; Liboon y cols, 1997; Speyer y cols, 1996) pero que, pese a ello, el láser continua provocando un retraso en la curación de cuando se compara con el bisturí frío, considerado el “gold” estándar.

El láser de dióxido de carbono es capaz de producir energía en el rango de 9-11 μm . Con una longitud de onda de 9,55 μm , la absorción por parte del colágeno es aproximadamente la misma que por el agua. En longitudes de onda entre 10 y 11 μm , la absorción del agua es aproximadamente cuatro veces la del colágeno (Converse y cols, 2001). Payne y cols (1998) compararon la eficiencia de un láser a 9,55 μm , absorbido por igual en el agua y el colágeno, frente al láser convencional de 10,6 μm , absorbido fundamentalmente por el agua. Mostraron en un modelo porcino que el umbral de ablación y la zona de daño térmico en la fase aguda de las incisiones con láser de 9,55 μm eran significativamente inferiores a las correspondientes a las incisiones de 10,6 μm . Sin embargo, no está claro que estas diferencias en el patrón de daños, trasladados a la clínica, muestren diferencias en cuanto al tiempo de curación de las heridas.

Converse y cols también midieron la resistencia cutánea a la tensión en los días 3,7,14 y 21 tras la cirugía. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el láser de 9,55 μm y el de 10,6 μm . A pesar de ello, el láser de 10,6 μm presentó valores superiores durante la primera semana y el láser de 9,55 μm durante la tercera. Las heridas con

bisturí siempre presentaron valores superiores de resistencia a la tensión que las generadas con los láser, aunque no en todas las mediciones existieron diferencias estadísticamente significativas.

Los resultados del estudio de Converse et al muestran que con ambos tipos de láser, las heridas curan en un periodo de 21 días y que no existen diferencias en cuanto a la apariencia histológica. El daño térmico lateral se ha mostrado claramente como un factor con un efecto negativo en la curación de las heridas (Liboon y cols 1997; Speyer y cols, 1996)

1.7.Efectos de la irradiación con otros tipos de láser sobre los tejidos orales

El láser de Er,Cr:YSGG, se desarrolló en la década de los años noventa con la finalidad de poder ser aplicado en todos los tejidos presentes en la cavidad bucal, mucosa oral, tejido gingival, hueso, esmalte, dentina y cemento, y actualmente, está considerado como uno de los sistemas láser más extendido dentro de la práctica odontológica debido a su gran versatilidad. (Cercadillo-Ibaiguren y cols 2010). El láser Er,Cr:YSGG, que utiliza un spray refrigerante de agua, ha mostrado una zona de coagulación eosinófila inferior a 40 μm . Además, el margen de incisión se encuentra libre de artefactos en los queratinocitos. Por tanto, en este estudio, se considera que el láser Er,Cr:YSGG es un sistema comparable al bisturí frío en la toma de biopsias, mientras que el láser de dióxido de carbono y el de Nd:YAG provocan artefactos que pueden confundir el diagnóstico. Otros autores (Rizoiu y cols 1996) estudiaron el efecto del láser Er,Cr:YSGG (erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium, garnet laser). Este sistema emite fotones con una longitud de onda de 2,78 μm y permite potencias de 0 a 6 W. El sistema de láser Er,Cr:YSGG logra una curación de heridas en mucosa y piel similar a las producidas con bisturí o punch, además de provocar una mínima hemorragia intraoperatoria. Los márgenes de herida muestran una zona coagulada de entre 20 a 40 μm ; las estructuras celulares adyacentes preservan su morfología intacta, comparable a la observada en una incisión con bisturí. Los artefactos histopatológicos generados por este tipo de láser son insignificantes, un hecho que reafirma su utilidad para la toma de biopsias como para su uso terapéutico (Rizoiu y cols 1996).

Otro tipo de láser que se ha empleado en cirugía oral es el Er:YAG, que es un láser de estado sólido con una longitud de onda de 2940 micras, que muestra una excelente absorción por la hidroxiapatita y el agua, generando una ablación fría y el corte de tejidos blandos sin generación de efectos coagulativos. Esto es una diferencia importante con respecto a los láser KTP y de diodo, los cuales presentan una alta afinidad por la hemoglobina provocando coagulación mientras se realizan las incisiones. La profundidad de penetración en el agua del láser Er:YAG es extremadamente pequeña, inferior a 1 micra, y por tanto permitiendo un corte muy preciso.

Fried y cols utilizaron el Er:YAG en urología, observando que este láser fue útil en la incisión de tejidos uretrales, generando unos efectos colaterales mecánicos y térmicos mínimos. Cuando Stübinger y cols evaluaron el daño térmico causado por el Er:YAG en tejidos duros. El estudio no mostró signos de tejido carbonizado o alteración de la curación de heridas por la osteotomía, demostrando que este láser es útil para la cirugía maxilofacial de tejidos duros.

Además, Romeo y cols (2009) observaron que el Er:YAG mostraba una mayor capacidad de corte y precisión que el instrumental piezoeléctrico y las fresas quirúrgicas. Este mismo autor en 2012 llevó a cabo un estudio con láser Er:YAG en lenguas de cerdo, utilizando unas potencias variables entre 1,8W y 4,5W, con una energía resultante entre 60mJ y 150mJ. El daño periférico en todas las muestras fue inferior a 1 mm, incluso en las muestras tomadas con energías de 150mJ. Los mejores resultados se obtuvieron con energías intermedias, entre 80-100mJ. Con estos valores de potencia, el daño térmico estaba limitado al epitelio, pero ocupaba apenas unas micras de espesor.

En el grupo con menores valores de potencia se esperaba la generación de un daño térmico inferior. Sin embargo, la incisión resultó más irregular y menos precisa, lo que inducía al clínico a focalizarse en la misma capa celular provocando un mayor daño en los bordes de la herida. En los grupos en los que se emplearon mayores valores de energía, el daño periférico fue mayor y más profundo, aunque no superó el 1mm en ninguno de las muestras obtenidas. Estos autores concluyeron que el láser Er:YAG puede ser empleado de forma segura en la toma de biopsias intraorales utilizando valores de potencia adecuados. Los autores no contraindican el uso del láser en la toma de biopsias sospechosas de malignidad, pero recomiendan ampliar al menos en 0,5 mm el tamaño de dichas biopsias para evitar que la presencia de artefactos periféricos puedan entorpecer el estudio histológico. Además, los autores recalcan que los

resultados obtenidos en su estudio pueden estar influenciados por la habilidad de los operadores en el manejo del instrumental.

Vescovi y cols han comparado el uso de bisturí frío y láser Nd:YAG en la toma de biopsias de fibromas orales en 26 pacientes. El láser se empleó con una potencia de 3,5W y de 5W y se realizó un estudio histológico de las muestras. Según los autores, el Nd:YAG induce artefactos térmicos importantes en pequeños especímenes (tamaño medio menor de 7 mm), independientemente de la frecuencia y potencia empleada. La calidad de la incisión fue mejor, y el daño térmico menor, en aquellas muestras tomadas con ajustes de baja potencia y alta frecuencia.

Merigo y cols (2013) han estudiado el incremento y daño térmico provocado por el uso de diferentes tipos de láser en lenguas de ternera. Para ello han utilizado el láser de dióxido de carbono en modo continuo (3 y 5W) y en modo pulsado a 5W, el láser KTP a 2 y 4W, Er:YAG a 250mJ, Nd:YAG a 4W y GaAlAs en modo continuo a 3 y 5W. En este trabajo, se evaluó el efecto del láser en la temperatura del tejido con cámara térmica. En la evaluación de la temperatura superficial se identificó una diferencia relevante entre el láser de dióxido de carbono, el láser de diodo y el Er:YAG frente al Nd:YAG y el láser KTP.

El Nd:YAG y el laser KTP mostraron un incremento de 10°C, probablemente debido a que la absorción profunda está relacionada con un incremento profundo de temperatura. De hecho, el incremento de temperatura en profundidad fue más consistente para el láser de diodo y el Nd:YAG, con una diferencia de 10-15 grados, pero fue más limitada para el láser KTP (3-6°C) y para el láser de dióxido de carbono.

Este resultado está relacionado también con la anchura de daño térmico, puesto que a mayores temperaturas en profundidad, mayores fueron las dimensiones del daño térmico (diodo y Nd:YAG).

También han sido evaluados láser con diferentes longitudes de onda (Romeo y cols, 2014) realizaron un estudio en 17 pacientes, a los cuales les fueron realizadas biopsias de lesiones orales benignas mediante láser de diodo (808nm) y laser KTP (532nm). Se realizó estudio histológico con microscopía óptica en el que se determinó que el daño epitelial y conectivo fue de 0,245 mm en mucocelos, 0,382 mm en fibromas, 0,336 mm en hiperqueratosis, 0,473 mm en hiperplasia escamosa, 0,182 mm en granulomas de células gigantes y 0,149 mm en máculas melanóticas.

Los autores ponen de manifiesto que el aspecto histológico de la lesión influye en las respuestas al láser, y que las zonas de gran inflamación y celularidad están asociadas a elevados signos térmicos. Además, muchos de los artefactos que encontraron fueron atribuidos a procesos de manipulado de la preparación histológica, y no a al láser empleado en la toma. Como conclusión al estudio, los autores afirman que ambos tipos de láser permiten diagnósticos histológicos seguros. Sin embargo, sugieren aumentar el tamaño de las biopsias en 0,5 mm para evitar alteraciones térmicas, especialmente en lesiones inflamatorias como el liquen plano oral.

Sin embargo, algunos autores (Suter y cols, 2010) encontraron un mayor daño térmico provocado por el láser de diodo en la eliminación de hiperplasias fibrosas que el provocado por el láser de dióxido de carbono. Estudiaron el daño térmico en 15 pacientes, utilizando el láser de dióxido de carbono en modo continuo y pulsado frente al láser de diodo. Los autores encontraron menos daño térmico en los grupos de láser de dióxido de carbono, tanto en modo continuo como en pulsado. En esta línea, un grupo español (Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010) realizó un estudio comparativo del daño térmico provocado por el láser de dióxido de carbono frente al láser Er,Cr:YSGG y el láser de diodo. Para ello se utilizaron lenguas de cerdo por su similitud con la mucosa humana, sobre las cuales se utilizaron los instrumentos de la siguiente forma.

El laser Er,Cr:YSGG se utilizó con una pieza de mano con punta de prismas de cuarzo y fibra óptica de 750 μm de diámetro a 1W de potencia con un 7 % de agua y 11 % de aire, 1W sin agua ni aire, a 2 W con un 7 % de agua y 11 % de aire, a 2 W sin agua ni aire y a 4 W con un 7 % de agua y 11 % de aire. El láser de CO_2 se utilizó la pieza de mano recta montada en un brazo articulado sin contacto a distancia focal de 1-2 mm y con potencias de 1W, 2W, 10W y 20W en modo continuo, y a 20 W en modo pulsado., sin spray de agua. El láser de diodos As-Ga-Al, con una longitud de onda de 810 nm, fue utilizado a 2W, 5W y 10W de potencia. Los especímenes se analizaron mediante tinciones de hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson para conseguir una mejor diferenciación del colágeno dañado. Los valores obtenidos en el grupo de Er,Cr:YSGG han sido inferiores a los reflejados en los estudios de Rizoiu y cols (1996) (daño térmico entre 20 y 40 μm), observándose un daño de 14,88 μm en la aplicación de 2W de potencia. En tanto con el láser de diodo a 2W se obtuvo un efecto térmico de 38,9 μm y con 5 W de potencia los resultados son equiparables obteniéndose 80,2 μm .

Es importante resaltar que en todos los láseres estudiados, menos el grupo de CO₂, obtuvieron un aumento del efecto térmico directamente proporcional a la potencia. En el grupo de CO₂, a partir de 2 W, el efecto térmico en profundidad se mantenía, incluso a potencias de 20 W. Esto puede deberse a que el tiempo de trabajo necesario con baja potencia para conseguir la incisión estandarizada es mayor que con parámetros mayores de potencia, y esto podría suponer una mayor concentración de calor y efecto térmico en los tejidos (Cercadillo-Ibarguren y cols 2010)

Macroscópicamente, todas las muestras de mucosa oral de cerdo presentaban cierto grado de carbonización, a excepción de las muestras de Er,Cr:YSGG con spray de agua / aire a 1 y 2 W. En el examen microscópico, la presencia de restos de tejido carbonizado era patente en todas las muestras, pero era mínima en el grupo de Er,Cr:YSGG. De menor a mayor grado, encontraríamos la muestras de Er,Cr:YSGG sin spray de agua, el grupo de CO₂ seguido del grupo de diodos, donde la carbonización estaba presente en gran parte del perímetro de la irradiación. (Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010) En este estudio se constata que existen diferencias entre los tipos de láser al valorar el daño térmico lateral, pero que también se provoca un amplio rango de efectos fototérmicos al variar los parámetros de un mismo tipo de láser. Así, han encontrado que las imágenes histológicas del láser Er,Cr:YSGG refrigerado con agua muestran un tejido aparentemente sano, con pequeñas zonas de tejido desnaturalizado de extensión limitada, incluso diez veces menor que en el grupo del láser de diodos. Esto muestra la gran importancia de la refrigeración dado que las muestras tomadas con el mismo láser pero sin spray de agua presentaban una extensión del daño térmico similar a las del grupo de láser CO₂.

La revisión de la literatura nos muestra la existencia de estudios de calidad limitada, con datos insuficientes sobre los parámetros de irradiación y, por tanto, difícilmente reproducibles, y con modelos experimentales y clínicos muy heterogéneos. Los resultados, en términos de daño térmico en los márgenes de la incisión, son controvertidos, si bien, en general, (Wilder y cols, 1995) para cortar sin coagulación, es mejor utilizar pulsos muy cortos con la máxima potencia controlable por el cirujano y aplicados durante el mínimo tiempo posible para realizar la incisión, minimizando de este modo el riesgo de daño térmico. Otros autores han demostrado que la utilización del superpulso (basado en los principios de alta radiación con una corta

duración de pulsos y con un adecuado intervalo entre ellos) reduciría la necrosis térmica por un factor de 2 o más (Bar-Am y cols, 1993; Fritzpatrick y cols, 1991)





2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS





2. Justificación y Objetivos

Las muestras de tejidos orales obtenidos mediante técnicas biópsicas para su estudio anatomopatológico pueden verse afectados por una serie de artefactos producto del aplastamiento, fulguración, inyección o fruto de una fijación o congelación inadecuadas (Bernstein, 1978; Ficarra y cols, 1987; Margarone y cols, 1985). Estos artefactos son producto tanto de la técnica como del instrumental empleado en la toma de muestras, sin que haya consenso sobre la técnica o el instrumental ideales: el empleo de punch parece ofrecer algunas ventajas (Moule y cols, 1995), que sin embargo no han podido ser confirmadas en condiciones de experimentación controladas (Seoane y cols, 2002).

El uso de láser de CO₂ para la obtención de material para biopsia está comprometido por artefactos citológicos de origen térmico que incluyen la vacuolización de la capa superficial, el despegamiento y la fragmentación de la queratina, degeneración de las células basales y separación de la lámina propia (Horch y cols 1986; Pogrel y cols 1990). Estos artefactos podrían llegar a ser críticos cuando se evalúan cambios displásicos en leucoplasias orales, ya que el daño térmico inducido a lo largo de los márgenes de la incisión realizada mediante láser podría llegar a simular atipia citológica (Eversole, 1997), algo similar a lo que ocurre cuando se emplea el electrocauterio (Pogrel y cols, 1990). Sin embargo, y hasta el momento, no existen estudios que hayan analizado de forma sistematizada ni las atipias celulares ni los cambios estructurales en el epitelio oral (artefactos pseudodisplásicos) asociados a la radiación con láser.

El daño térmico producido por diferentes láseres sobre los tejidos se ha evaluado mayoritariamente determinando la extensión de tejido hialinizado o coagulado adyacente al borde de la irradiación (Cercadillo-Ibaguren y cols, 2010), y solo ocasionalmente se han publicado estudios focalizados en los artefactos citológicos (Eversole, 1997) o en los cambios de apariencia displásica en el epitelio del borde de la incisión. Además, muy pocos estudios se han ocupado del tema de la selección del tipo de láser más adecuado para la toma de biopsias orales sin que el resultado de su uso dificulte el diagnóstico de la muestra obtenida (Eversole, 1997; Cercadillo-Ibaguren y cols, 2010). En el contexto del estudio del daño térmico inducido en los tejidos por la radiación láser, se ha descrito que el láser de Er,Cr:YSGG produce una escasa cantidad de artefactos en el borde irradiación (Cercadillo-Ibaguren y cols, 2010; Rizoiu

y cols, 1996), hallazgos que permiten formular la hipótesis de trabajo de que el láser Er,Cr:YSGG podría ser más adecuado que otros para la exéresis de leucoplasias o la toma de biopsias orales.

Hasta la fecha no existen estudios encaminados a comparar de forma sistemática los efectos de diferentes láseres, específicamente sobre el epitelio oral en términos de atipias celulares o cambios arquitecturales epiteliales que simulen cambios displásicos, por lo que el **primer objetivo** de este estudio es **examinar el daño térmico causado por distintos tipos de láser (CO₂ y Er,Cr;YSGG) en términos de cambios citológicos o arquitecturales en el epitelio del margen quirúrgico de la incisión.**

Además, y si el análisis del efecto de la radiación por láser Er,Cr;YSGG sobre mucosa oral sana en el modelo animal arroja resultados prometedores, y debido a que no existen descripciones previas sobre el empleo de este tipo de láser para el tratamiento de las leucoplasias orales, se diseñaría un estudio piloto en este sentido. De este modo, el **segundo objetivo** de este estudio sería **estudiar el daño térmico en términos de cambios epiteliales citológicos y arquitecturales alrededor de la incisión con láser de Er,Cr:YSGG en una serie-piloto de pacientes con leucoplasias orales.**

De otra parte, numerosos estudios de carácter transversal han evaluado las características histológicas de las incisiones y los márgenes quirúrgicos de lesiones orales efectuados mediante láser de diodos, bajo diferentes protocolos [4-6,13,14]. Sin embargo, a pesar de los cambios histológicos en el tiempo [15], y que el proceso de reepitelización del lecho quirúrgico es crítico tras biopsias incisionales de desórdenes orales potencialmente malignos (DOPM) o tras tratamiento de carcinomas orales de células escamosas (COCE), no existen estudios longitudinales centrados en este tópico. Por ello, el **tercer objetivo** de este trabajo ha sido **examinar el proceso de reparación epitelial de la herida quirúrgica generada por láser de diodos en un modelo experimental.**

3. DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN





3.Desarrollo de la investigación

En orden a cumplimentar los objetivos propuestos para este trabajo de tesis doctoral, la investigación se aborda desde una triple perspectiva. Este triple abordaje se presenta compartimentado de forma independiente, en el mismo formato en que ha sido publicada la investigación y explicando la metodología de manera específica en cada uno de los apartados.





3.1. El láser Er, CR: YSGG induce un menor número de artefactos epiteliales displásicos que el láser de CO₂: un estudio experimental in vivo sobre la mucosa oral.

3.1.1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar las heridas realizadas con láser (CO₂ y Er, Cr: YSGG) para valorar los cambios en la estructura epitelial así como la magnitud de los daños originados.

Distribuimos en grupos un total de 60 ratas Sprague-Dawley[®]: glosectomía con láser CO₂ a tres potencias diferentes (n = 10 en cada uno); glosectomía con láser Er, Cr: YSGG en dos emisiones diferentes (n = 10 en cada uno), y un grupo control (n = 10).

El examen histológico evaluó tanto la prevalencia como el lugar de artefactos térmicos para cada uno de los grupos. Ambos tipos de láser (CO₂ y Er, Cr: YSGG) causaron el mismo tipo de artefactos citológicos. El láser Er, Cr: YSGG a una potencia de 3 W produjo un menor número de artefactos citológicos por espécimen, y fue significativamente diferente de los otros grupos experimentales: láser de CO₂ a 3 W de potencia (IC 95% = 0,8 a 1,0); el láser de CO₂ a 6 W de potencia (IC 95% = 0,1 a 2,0) y el láser de CO₂ a una potencia de 10 W (IC 95% = 1,1 a 3,0). Los láser de CO₂ (3-10 W) generaron un daño epitelial que puede simular cambios displásicos con atipia citológica que afectan principalmente a las capas basal y suprabasal. La irradiación con el láser de Er, CR: YSGG (2-4 W) produjo, significativamente, menos artefactos celulares y menor daño epitelial, lo que puede ser potencialmente útil para la biopsia de la mucosa oral.

3.1.2. INTRODUCCIÓN

Los sistemas de láser se han descrito como poco fiables para la biopsia del tejido oral debido a su potencial para alterar los resultados de la evaluación histopatológica (Eversole 1997). A pesar de que los láser de dióxido de carbono (CO₂) han demostrado ser mejores que los láser de diodo y los electrotomos para este propósito, (Matsumoto y cols, 2008; Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010) su uso se ve comprometido por artefactos citológicos térmicos incluyendo la vacuolización de la capa superficial, el despegue, la trituración de queratina, la degeneración de las células basales y la separación de éstas de la lámina propia (Horch y cols, 1986). Los márgenes tratados con láser también simulan la atipia citológica (hipercromatismo, pleomorfismo y elongación de los núcleos, y degeneración vacuolar) (Eversole 1997;

Matsumoto y cols, 2008; Seoane y cols 2010). Los láser de CO₂ generan dichos daños, principalmente en las capas basal y suprabasal (Klein 1977). Estas alteraciones se convierten en un reto cuando se obtienen con láser muestras de lesiones orales malignas o displásicas, afectando a todos aquellos que utilizan el láser para la biopsia del tejido oral (Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010). Sin embargo, las ventajas ofrecidas por éstos (disminución del sangrado, sellado de las terminaciones linfáticas y nerviosas, disminución de la proliferación de las células neoplásicas)(Klein 1977) justifican más investigaciones.

La mayoría de los estudios han utilizado la extensión de la hialinización o tejido coagulado adyacente al borde irradiado como el medida de resultado, (Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010) y solo de vez en cuando los artefactos citológicos (Eversole 1997) fueron considerados como cambios displásicos (Seoane y cols 2010).

Solo unos pocos autores han descrito los tipos de láser que se consideraban como adecuados para la biopsia tisular sin hacer difícil el diagnóstico histológico (Eversole 1997; Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010).

Se cree que el láser Er, Cr: YSGG (erbium, chromium doped yttrium scandium gallium garnet) induce pocos artefactos celulares, (Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010; Rizoiu y cols, 1986) pero no hay estudios que hayan comparado los efectos de diferentes láser en el epitelio oral en lo que a atipia citológica o artefactos-displásicos se refiere.

Los objetivos de este estudio fueron, por tanto, examinar las heridas causadas por los láser de CO₂ y Er, Cr:YSGG en términos de citología y cambios en la estructura epitelial, para así evaluar la magnitud del daño térmico lateral a la incisión.

3.1.3. MATERIAL Y MÉTODOS

Sesenta ratas Sprague-Dawley® con un peso aproximado de 250 g fueron asignadas al azar en seis grupos: 3 grupos (n = 10 en cada uno) a los que se les realizó una glosectomía con láser de CO₂ a diferentes potencias (3, 6, y 10 W); 2 grupos (n = 10 cada uno) fueron tratados con el láser Er, Cr: YSGG a dos potencias diferentes (2 y 4 W); y un grupo control (n = 10) con una glosectomía realizada con una hoja de bisturí del número 15 (B / Braun, Aesculap AG, Alemania) (Fig. 1). El láser de CO₂ (20 W, Pierre Rolland, Satelec SA, España) se utilizó a 3, 6, y 10 W de potencia continua con unos 1,25 mm. La energía se aplicó durante 5 segundos a una velocidad aproximada de irradiación de 0,88 mm/s.

El láser Er, Cr: YSGG (Waterlase, Tecnología Biolase, Inc., CA, EE.UU.) trabajó a una longitud de onda de 2780nm (rango de potencia: 0,1-8 W; frecuencia de repetición de pulso: 10 a 50 Hz) y la refrigeración con agua/aire se fijó en una proporción de 30%/10%. El láser se utilizó en el programa preestablecido 3C (recomendado para las incisiones de tejidos blandos), el modo S, con 20 pulsos/s utilizando una pieza de mano con una punta de zafiro y una óptica fibra de 600 micrómetros de diámetro.

Un solo cirujano realizó todos los procedimientos, dirigiendo el rayo láser en una dirección perpendicular al dorso de la lengua, al tiempo que estabilizaba la muestra con una pinza Adson no dentada anclada en la punta de la lengua. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después con una sobredosis de anestésico según a los protocolos de la UE. El estudio fue aprobado por Comité de Ética del hospital. Las muestras se fijaron inmediatamente en 10% solución salina durante 24 h. Un único patólogo realizó un corte longitudinal en todas las muestras con un nuevo bisturí desechable. Las muestras se prepararon en cortes de 4 micrómetros, se tiñeron con hematoxilina y eosina siendo procesadas por el mismo técnico.

Las muestras fueron codificadas y estudiadas por dos patólogos que desconocían el origen de las mismas hasta llegar a un consenso para cada caso. Todas fueron examinadas utilizando un microscopio Optiphot-2 (Nikon, Tokyo, Japón) equipado con un ocular con una retícula milimétrica calibrada (retículas Town Bridge, Kent, Reino Unido). La evaluación histológica de la mucosa de la cara ventral de la lengua se realizó en términos de características epiteliales (criterios displásicos), es decir, en la pérdida de polaridad de las células basales, presencia de más de una capa de aspecto basaloide, aumento nuclear: relación citoplasmática, en forma de gotas epiteliales, la estratificación irregular del epitelio, aumento del número de mitosis, mitosis anormales, presencia de figuras mitóticas en el medio del epitelio, el polimorfismo celular y nuclear, hipercromatismo nuclear, nucléolos aumentados, pérdida de adherencia intercelular, y queratinización de los grupos de células individuales en células espinosas (Pindborg y cols, 1997). Exámenes histológicos evaluaron tanto la prevalencia como la localización de los artefactos térmicos dentro del epitelio.

Los datos fueron analizados por un estadístico que desconocía el diseño del estudio. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para evaluar la importancia de las diferencias entre las proporciones y ANOVA para evaluar las medias. Las probabilidades $< 0,05$ fueron consideradas como estadísticamente significativas.

3.1.4. RESULTADOS

Ambos tipos de láser (CO₂ y Er, Cr: YSGG) indujeron la mismos tipos de artefactos: la presencia de células fusiformes con una elongación pronunciada de los núcleos, polimorfismo celular y nuclear, y hipercromatismo del núcleo y la pérdida de adhesión intercelular, que se encuentra principalmente en las capas basal y suprabasal del epitelio lingual (Fig. 2). En la Tabla 4 se muestra la distribución según el tipo de láser y la potencia.

En las muestras analizadas no se encontraron otros criterios citológicos o estructurales para la displasia epitelial. No se apreciaron signos de autólisis o fenómenos asociados con una fijación inadecuada del tejido. La magnitud del daño epitelial correspondiente a las incisiones realizadas con el láser de dióxido de carbono, teniendo en cuenta la media del valor de todas las potencias utilizadas (DE), fue de 281,6 (119,7) micrómetros, mientras que el láser Er, Cr: YSGG obtuvo 144,0 (65,0) micrómetros. El daño fue significativamente menor en los grupos en los que se utilizó el láser Er, Cr: YSGG (IC del 95%: 78,6 a 196,7). La proporción de artefactos celulares –polimorfismo celular y nuclear e hipercromatismo nuclear - también fue significativamente menor en los grupos en los que se utilizó el láser Er, Cr: YSGG ($p = 0,0001$) (Fig. 4), así como el número de artefactos citológicos/especimen (0,8 (0,8) para el láser Er, Cr: YSGG), siendo significativas las diferencias entre los tipos de láser (IC 95% 0.7 a 1.7). La magnitud del daño en la capa de células basales a baja potencia (3 W) en el grupo en el que se utilizó el láser de CO₂ fue de 210 (45.9) micrómetros; para el grupo con una potencia de 6 W, 280,0 (87,2) micrómetros; el grupo de alta potencia (10 W) mostró 355,0 (157,5) micrómetros. El test de ANOVA de una sola vía podría identificar las diferencias solo entre los grupos de potencia más bajos y los más altos; el daño epitelial generado con una potencia de 10 W fue significativamente más alto que el inducido con 3 W (IC del 95% 22,4 a 267,5). Las diferencias en el número de artefactos por espécimen entre el grupo de láser de CO₂ a una potencia de 6 y 10 W y el grupo de 3 W también fueron significativas. Cuando los grupos experimentales se consideran en conjunto, el 3 W Er, Cr: YSGG produjo el menor número de artefactos/especímenes citológicos, que diferían considerable de los resultados obtenidos por los otros grupos experimentales: 3 W CO₂ láser (IC 95%: 0,8 a 1.0); el láser de CO₂ 6 W (IC 95% 0,1 a 2.0) y el láser de CO₂ 10 W (IC 95%: 1,1 a 3,0).

3.1.5. DISCUSIÓN

Diversos animales han sido utilizados como modelos experimentales en las técnicas de biopsia oral (Horch y cols, 1986), y la validez de las mismas ha sido probada (Fleiner y cols, 1996). Este modelo experimental ya se ha utilizado en múltiples estudios para evaluar los daños térmicos ocasionados por el láser de CO₂ en la mucosa oral y las cuerdas vocales (Fleiner y cols, 1996). Como el efecto del láser puede variar en función de las diferencias en el contenido acuoso y la densidad tisular (Kusukawa y cols, 2000), el dorso lingual no fue utilizado debido a su alta queratinización, por ello es que nos centramos en la superficie ventral de la misma por sus similitudes con la mucosa oral humana (Seoane y cols 2010). Aunque el diagnóstico del carcinoma de células escamosas (CCE) resulta generalmente fácil, el diagnóstico histológico de lesiones premalignas orales pueden ser un reto. La displasia es una condición premaligna relativamente común que afecta alrededor de 2,5-5 % de la población y se define como una lesión precancerosa del epitelio escamoso estratificado que se caracteriza por atipia celular y la pérdida de la maduración normal similar al carcinoma in situ (Pindborg y cols, 1997). La clasificación de la displasia dependerá de la extensión de los cambios displásicos dentro de las capas epiteliales involucradas (Poh y cols, 2008). La displasia oral sólo se puede diagnosticar histológicamente, siendo un proceso subjetivo que puede prestarse a un amplio rango de interpretaciones (Poh y cols, 2008; Warnakulasuriya 2001).

Para disminuir estos sesgos, las muestras fueron analizadas por dos patólogos experimentados. A pesar de no encontrarse cambios citológicos o estructurales en los márgenes de las muestras obtenidas con bisturí convencional, estas pueden verse afectadas por múltiples factores: aplastamiento, fracturas, fragmentación y pseudoquistes, resultado de la inadecuada manipulación de las muestras (Ficarra y cols, 1987; Seoane y cols, 2002).

El uso del láser de CO₂ en el área maxilofacial ofrece muchas ventajas: precisión, cirugía conservadora y mínimamente invasiva, disminuye la hemorragia intraoperatoria, esterilización del área quirúrgica, reducción del dolor postoperatorio, curación con cicatrices mínimas y menor inflamación postoperatoria (Wilder-Smith y cols, 1995). Todas estas ventajas han llevado a que su uso sea cada vez más frecuente en la práctica para el tratamiento de las lesiones malignas (Jerjes y cols, 2011) e incluso para biopsiar aquéllas a fin de disminuir la proliferación celular (Klein 1977).

La membrana basal y el estroma del tejido conectivo son las principales barreras para evitar la migración de células tumorales (Woolgar y cols, 2005; Santos y cols, 2010; Weis,

1989). Cuando estas barreras se rompen, las células tumorales pueden difundir al torrente sanguíneo, aumentando así el riesgo de metástasis. Aproximadamente la mitad de los animales que tenían biopsias incisionales tomadas para el diagnóstico de un carcinoma primario, desarrollaron metástasis en los ganglios nodales (Safour y cols, 1984). Las metástasis de cuello procedentes de un CCE en la etapa I o II son más comunes cuando el diagnóstico se realiza a partir de muestras biopsiadas a través de una incisión (Kusukawa y cols, 2000; Ohtake y cols, 1990), se han identificado células tumorales circulando en la sangre periférica de aquellos pacientes en estadio III de la enfermedad después de una biopsia convencional (Kusukawa y cols, 2000).

El número de células tumorales en circulación parecen depender no sólo de la separación de las células a partir de tumores primarios, sino también de su accesibilidad a los canales vasculares (Weis, 1989).

El uso de láser CO₂ y Er, Cr: YSGG inducen un efecto térmico que genera una zona hialinizada al lado de la incisión y sella los bordes de la herida (Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010; RizoIU y cols 1986) (Fig. 5).

Sin embargo, la arquitectura del epitelio muestra ciertos cambios: presencia de células fusiformes (Seoane y cols 2010; Klein 1977), hiperchromatismo (Eversole 1997; Ficarra y cols, 1987), polimorfismo y alargamiento del núcleo (Eversole 1997); la pérdida de adherencia intercelular (Seoane y cols 2010) relacionada con el uso del láser de dióxido de carbono podría confundirse con displasia epitelial (Eversole 1997; Convisar, 1997). La fotocoagulación de las proteínas puede enmascarar o alterar epítomos de superficie, resultando menos útil el diagnóstico mediante técnicas de inmunohistoquímica (Jerjes y cols, 2011). Estudios previos han vinculado algunas atipias a la utilización de altas potencias en modo continuo (Eversole 1997; Convisar, 1997), pero también se han dado casos de atipia en casos en los que se utilizó el láser de CO₂ a baja potencia (4.3W) y de modo pulsado. Nuestros resultados muestran hiperchromatismo y alargamiento del núcleo como los artefactos citológicos más comunes en las muestras obtenidas con el láser de CO₂.

Aunque los cambios morfológicos detectados en las áreas adyacentes a las incisiones (Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010) practicadas con el láser Er, Cr: YSGG son escasos, o incluso no se han producido (RizoIU y cols 1986), nuestros resultados muestran las mismas alteraciones citológicas tanto para el láser de CO₂ como para el láser Er, Cr: YSGG, aunque en proporciones significativamente más bajas para éste último (Tabla 3).

Los signos de la displasia se observan con frecuencia en el epitelio adyacente a carcinomas orales, y la presencia de displasia leve a moderada en los márgenes del tejido extirpado en CCE supone un riesgo apreciable de recurrencia (Thomson y cols, 2002). Estudios anteriores han descrito una alta proporción de displasia leve a moderada en los márgenes de este tipo de lesiones que fueron resecados con láser de CO₂ (Jerjes y cols, 2011). De vez en cuando, el borde histológico del tumor primario está mal definido por múltiples focos de invasión que se presentan en los casos de carcinoma in situ o displasia (Woolgar y cols, 2005). En estas circunstancias, el desconocimiento de estos artefactos pseudodisplásicos puede generar sobretratamiento o aproximaciones terapéuticas erróneas.

En los casos con displasia leve, los cambios citológicos y estructurales quedan limitados al tercio inferior del epitelio, pudiendo alcanzar hasta los dos tercios en los casos de displasia moderada (Pindborg y cols, 1997).

Nuestros datos muestran atipias citológicas (artefactos) que afectan principalmente a las capas basal y suprabasal, pero ninguna muestra crestas en forma de gota, estratificación irregular del epitelio, incremento del número de mitosis, presencia de figuras mitóticas en la superficie media del epitelio o queratinización de los grupos de células individuales en la capa de células espinosas. Obviamente, la presencia de cualquiera de los criterios para la displasia contribuiría a la eliminación del diagnóstico de artefactos relacionados con el uso de un láser. A pesar de que la difusión de la energía generada por el láser de CO₂ es relativamente baja (Pogrel y cols, 1990), el tamaño del área dañada dependerá esencialmente de la longitud de onda del láser y la densidad de energía aplicada, que a su vez aumenta con el tiempo y el tamaño del punto. El daño térmico puede reducirse utilizando el punto de tamaño más pequeño (Pindborg y cols, 1997). El epitelio oral muestra necrosis lateral en aquellas incisiones practicadas con láser de CO₂ en un rango de amplitud de 70 a 750 micrómetros (Seoane y cols 2010; Fleiner y cols, 1996; Wilder-Smith y cols, 1995). Nuestros resultados encajan dentro de este rango, y pueden justificar la necesidad para la inclusión de una cantidad adicional de tejido marginal sano más allá de la extensión esperada de la lesión térmica epitelial (al menos 1 mm alrededor de la lesión). El daño epitelial causado por la utilización del láser Er, CR: YSGG era menor.

En resumen, hemos demostrado cuantitativa y cualitativamente que las ventajas de la utilización del láser la Er, Cr: YSGG dentro de la potencias establecidas, sería más efectiva que

el láser de CO₂ para mantener los márgenes de las incisiones claros y seguros de modo que se pueda permitir el análisis histológico con la mínima cantidad de artefactos.



3.1.6. ANEXO

Alteración histológica	Láser CO ₂ a 3 W n (%)	Láser CO ₂ a 6 W n (%)	Láser CO ₂ a 10 W n (%)	Láser Er,CR:YSGG a 3 W n (%)	Láser Er,CR:YSGG a 3+2 W n (%)
Pleomorfismo celular y nuclear	7 (70%)	8 (80%)	10 (100%)	2 (20%)	3 (30%)
Hipercromatismo nuclear	10 (100%)	9 (90%)	10 (100%)	1 (10%)	6 (60%)
Pérdida de adherencia intercelular	-	1 (10%)	8 (80%)	4 (40%)	2 (20%)
Amplitud del daño térmico (µm). Media ± Desviación típica	210±45	280±87	355±157	180±72	107±26
Número de artefactos por especimen Media ± Desviación típica	1.7±0.4	1.8±0.7	2.8±0.4	0.7±0.6	1.0±0.9

Tabla 3: distribución de los signos de calor en el epitelio oral(n=10en cada grupo)

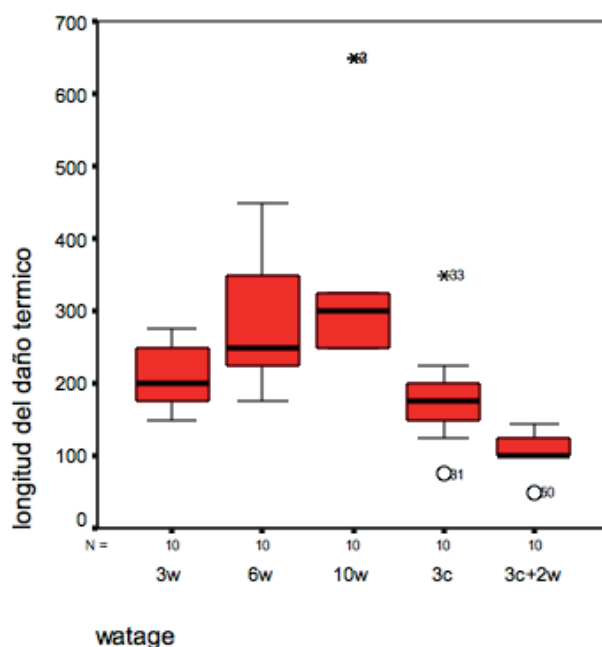


Tabla 4 : Box-plot de la distribución de la distribución del ancho del daño lateral térmico.

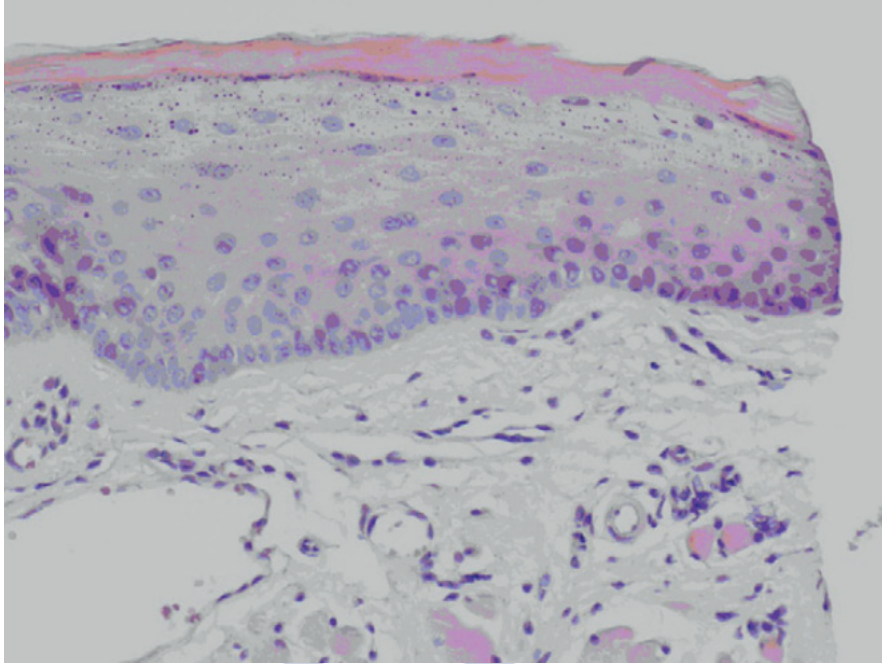


Figura 2: Margen de una muestra tomada con bisturí convencional, muestra un borde sin alteraciones ni artefactos(hematoxilina y eosina, magnificación original 40X).

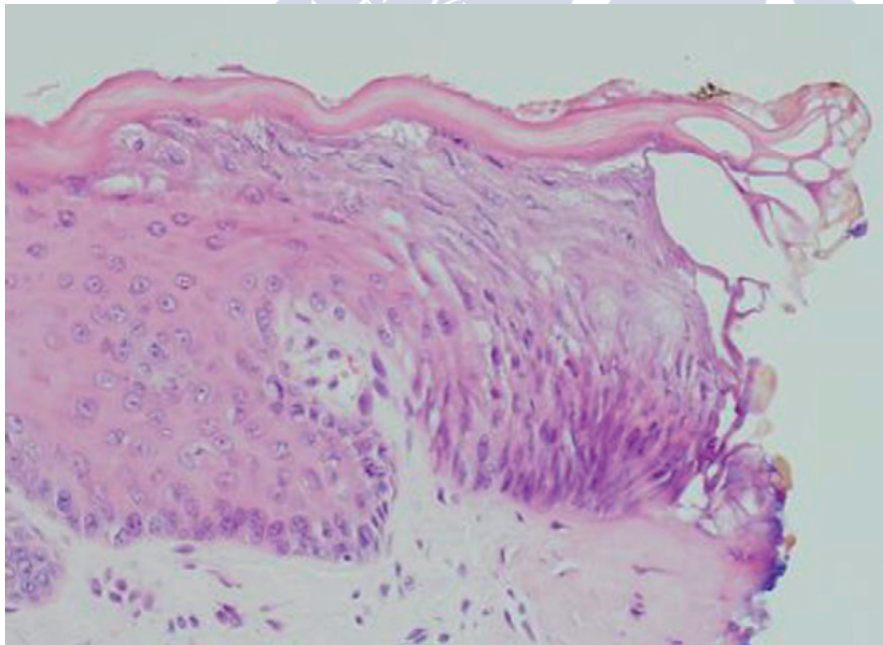


Figura 3: Ejemplar obtenido con láser CO₂, muestra un margen irregular, hiperchromatismo, elongación nuclear y despegamiento de queratina (hematoxilina y eosina, magnificación original 40X)

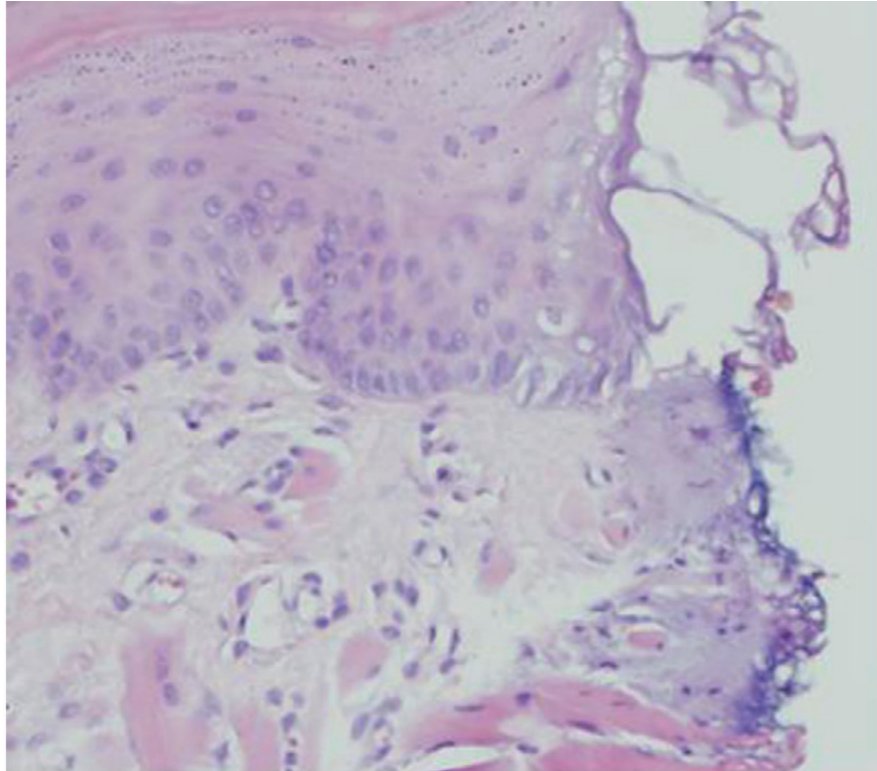


Figura 4: Se observan mínimos artefactos al haber usado láser Er,CR:YSGG, sin embargo se aprecian despegamiento de queratina y cambios basofílicos en el colágeno(hematoxilina eosina, magnificación original 40X)

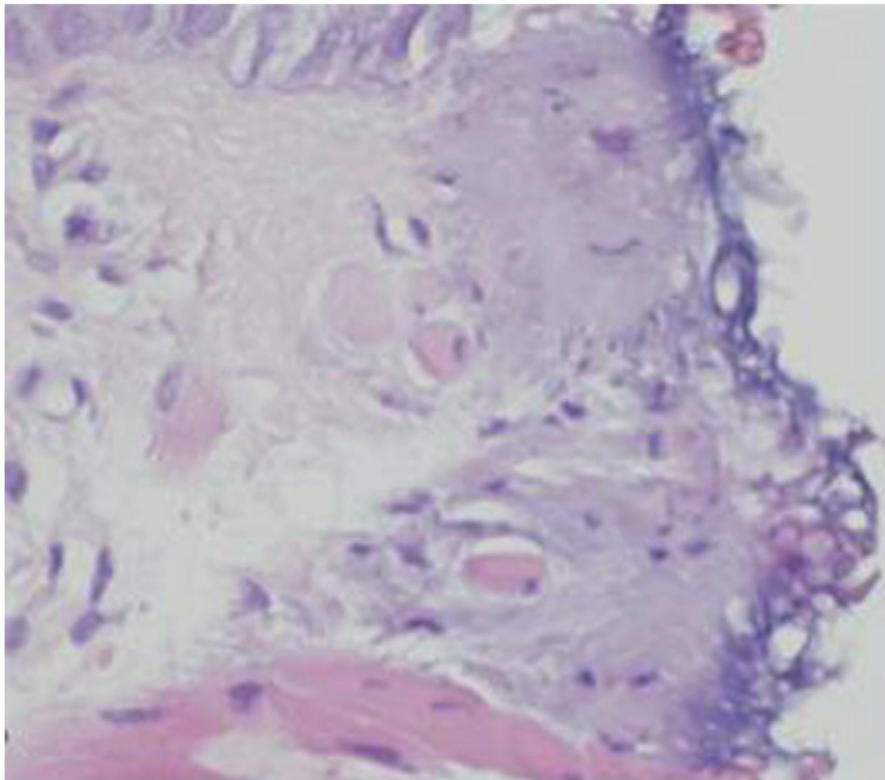


Figura 5: después del uso de láser Er,CR:YSGG la condensación de la lamina propia en el borde de la herida puede neutralizar el sangrado de los vasos(hematoxilina y eosina, magnificación original 100X).



3.2. Terapia con láser Er,Cr:YSGG para leucoplasias orales minimiza la afectación térmica en los márgenes quirúrgicos. Estudio piloto.

3.2.1. RESUMEN

El uso de láser para la biopsia de lesiones sospechosa de malignidad puede simular atiplas citológicas en el margen de la incisión. El láser de Erbium, Chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet (Er,Cr:YSGG) ha demostrado resultados prometedores en modelos experimentales provocando menos artefactos. Los objetivos de este estudio son evaluar las heridas térmicas producidas por el láser Er,Cr:YSGG valorando en una pequeña serie de casos de leucoplasias orales en términos de cambios citológicos y estructura epitelial así como medir la longitud del daño lateral térmico en el borde de la incisión. El estudio se compone de una serie de 4 pacientes con leucoplasias orales las cuales serán extirpadas con láser Er,Cr:YSGG. Los pacientes fueron controlados semanalmente hasta que la curación fue completa, y posteriormente fueron incluidos en los programas de seguimiento existentes para este tipo de lesiones. Las muestras fueron procesadas protocolariamente por el mismo técnico de laboratorio y analizadas a doble ciego por dos patólogos independientes. El análisis histopatológico de las muestras no reveló signos de autólisis, ni artefactos por manipulación o inadecuada fijación. Sin embargo, en dos ejemplos, pudieron observarse polimorfismo celular y nuclear. La pérdida de adherencia intercelular fue el artefacto térmico mas repetido en esta serie; todos los artefactos pseudodisplásicos en este estudio fueron de baja intensidad, y localizados en los estratos basal y suprabasal del epitelio leucoplásico. El ancho del daño lateral térmico en el margen de la herida tubo un rango de $26,60 \pm 25,3 \mu\text{m}$. Se concluye que la irradiación con láser Er,Cr:YSGG induce una mínima cantidad de artefactos en el margen quirúrgico de las leucoplasias, permitiendo así correcto diagnostico sin interferencias con los bordes reales displásicos.

3.2.2. INTRODUCCIÓN

La leucoplasia oral es una lesión potencialmente maligna que se define como “ una placa blanca, de riesgo cuestionable habiendo excluido (otras) enfermedades conocidas o alteraciones que no suponen un aumento del riesgo de cáncer (van der Waal, 2009), cuya tasa de malignización es de un un 1% aproximadamente (van der Waal, 2009; Bagan y cols, 2004). Sin

embargo las lesiones en la lengua y/o suelo de boca mayores de 200 mm² y con aspecto clínico no homogéneo —especialmente la leucoplasia verrugosa proliferativa— muestran un riesgo superior de malignización (van der Waal, 2009). Por otra parte, los pacientes no fumadores con displasia epitelial oral tienen alto riesgo de transformación maligna, requiriendo tratamientos más agresivos (van der Waal, 2009; Bagan y cols, 2004).

La revisión de la literatura revela que no existe consenso en el manejo de las lesiones premalignas; los enfoques existentes varían desde seguimiento, tratamiento no quirúrgico, crioterapia, vaporización por láser y excisión quirúrgica (van der Waal, 2009; Ribeiro y cols, 2010).

El tratamiento no quirúrgico utilizando carotenoides (beta-caroteno y licopeno), vitaminas (L-ácido ascórbico, alfa tocoferol y ácido retinoico), bleomicina y terapia fotodinámica tanto tópica como sistémica presentan tasas de éxito muy dispares, con tasas de recurrencia desde un 5% hasta un 67% y un porcentaje de malignización de un 8% a un 23% (Ribeiro y cols, 2010). Otra limitación de estas terapias son sus frecuentes efectos adversos (Lodi, 2008).

Por contra, y teniendo en cuenta los escasos beneficios de la terapia quirúrgica en la displasia epitelial oral para la prevención de recidivas y malignización, el nivel de recomendación de tratamientos quirúrgicos específicos es bajo, (van der Waal, 2009). A pesar de esto, parece haber consenso en que la excisión quirúrgica es el mejor tratamiento para este tipo de lesiones. (Meltzer, 2007)

Así como el uso del bisturí puede producir grandes áreas de mucosa desnuda con una cicatrización desfavorable y alteraciones funcionales como secuelas quirúrgicas; el uso de láseres CO₂, Nd:YAG y KTP ha sido sugerido para vaporización o excisión de leucoplasias orales (Ribeiro y cols, 2010), ya que su precisión permite una cirugía conservadora y mínimamente invasiva dejando un campo quirúrgico estéril y una hemorragia intraoperatoria mínima. Estos láseres permiten un mejor postoperatorio con menos dolor e inflamación y una curación con mínima cicatriz. (Lodi, 2008; Meltzer, 2007; Vivek y cols, 2008; Montebugnoli y cols 2012; Roodenburg, 2011) Los láseres poseen ventajas adicionales como la buena visualización del campo quirúrgico, sellado de vasos linfáticos y terminaciones nerviosas —que minimiza la diseminación de células neoplásicas— y la eliminación de áreas precancerosas (displasia) colindantes a la leucoplasia con la mínima morbilidad. Estas particularidades

justificarían futuras investigaciones sobre su uso en el tratamiento del precáncer oral (Lodi, 2008; Meltzer, 2007; Vivek y cols, 2008; Montebugnoli y cols 2012; Roodenburg,2011).

Sin embargo la utilización del láser en la biopsia de lesiones sospechosos de malignidad tiene algunas desventajas, ya que los márgenes de la lesión tratados con láser pueden simular atipias citológicas (hipercromatismo, pleomorfismo y elongación nuclear) (Eversole, 1997). Estos cambios pseudodisplásicos tan característicos son muy habituales en el láser CO₂ y se hallan con mas frecuencia en las capas basal y suprabasal del epitelio (Seoane y cols, 2010) siendo estas un un desafío para el diagnostico patológico. En estas circunstancias, la necesidad de la evaluación de láseres con otras longitudes de onda es evidente. (Deppe y cols, 2012)

En este sentido, la irradiación con láser Er,Cr:YSGG (de 2 a 4 W) ha demostrado resultados prometedores en mucosa sana de modelos experimentales tanto *in vivo* como *ex vivo* (González-Mosquera y cols, 2012; Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010; RizoIU y cols, 1996). Sin embargo, este láser no ha sido utilizado nunca para el tratamiento de leucoplasias orales. Por consiguiente, los objetivos de este estudio son evaluar las heridas térmicas producidas por el uso del láser Er,Cr:YSGG en un pequeña serie de casos de leucoplasias orales, tomando como referencia los cambios histológicos y de la arquitectura epitelial y asimismo medir la anchura del daño lateral térmico en el borde de la incisión.

3.2.3.MATERIAL Y MÉTODOS.

Cuatro pacientes con leucoplasia oral fueron tratados con excisión completa de sus lesiones utilizando láser Er,Cr:YSGG (Waterlase MD, Biolase Technology, Inc. San Clemente, CA, USA) a una longitud de onda de 2,780 nm. (rango de potencias de 0,1-8 W; modo pulsado en intervalo de 10-50 Hz). La refrigeración con spray de agua/aire fue colocado a una proporción de 30/10% respectivamente (6 ml. de agua por minuto). El laser se configuró en el modo 3C (recomendado para incisiones en tejido blando), a 2 W de potencia , 20 pulsos por segundo(en Hercios) con una duración por pulso de 140 μ s y una energía de de 100 mJ por pulso. Se empleo una punta de zafiro con una fibra óptica de 600 μ m de diámetro, con una densidad de energía de 35,7 J/cm².

Todos los pacientes fueron tratados por el mismo cirujano, utilizando anestesia infiltrativa perilesional (clorhidrato de articaína con 0.005 mg de epinefrina, Ultrajan, Normon SA, España) y dirigiendo el haz láser de manera perpendicular a la lesión (tocando ligeramente

la mucosa) siguiendo el contorno del área a eliminar. La toma del espécimen fue asegurada dando un punto intralesional para fijación o con una pinzas Adsson no dentadas sujetando el borde de la lesión. La lesión fue disecada una vez se marcó el margen profundo. Ya completada la eliminación de la lesión, se realizó hemostasia y se permitió que la herida cicatrizase por segunda intención sin sutura. Todos los pacientes fueron revisados semanalmente hasta la curación completa de la herida, siendo incluidos posteriormente en el programa de seguimiento para este tipo de lesiones. De acuerdo con los objetivos del estudio, este se dio por finalizado a los 3 meses después de la cirugía. Todos los pacientes fueron informados de las condiciones y motivaciones del estudio, prestando su consentimiento informado por escrito antes de la intervención.

Los especímenes biopsiados se fijaron con formol neutro tamponado al 10% durante 24 horas. Todas las muestras fueron cortadas longitudinalmente por el mismo patólogo, utilizando una hoja de bisturí nueva para cada sección. Posteriormente fueron embebidos en parafina siguiendo los procedimientos rutinarios. Se realizaron cortes de 4 μm para cada espécimen. Estas secciones fueron montadas en un portaobjetos y teñidas con Hematoxilina y Eosina (H&E) por el mismo patólogo. Las muestras se codificaron y estudiaron de forma independiente por dos patólogos hasta que se alcanzó un consenso en cada caso. Todas las muestras se examinaron con un microscopio Optiphot-2 (Nikon, Tokyo, Japon). Para la medición del daño lateral térmico se utilizó un ocular con micrómetro (Graticules Ltd, Tonbridge, UK). El análisis patológico fue enfocado a las características epiteliales siguiendo los criterios de displasia. (Pindborg y cols, 1997)

El diseño del estudio fue aceptado por el Comité de Bioética de la Universidad de Santiago de Compostela y la investigación se llevó a cabo siguiendo los protocolos éticos de la Unión Europea.

3.2.4. RESULTADOS

La muestra presenta cuatro pacientes (tres mujeres y un varón) con una edad media de 59 años y diagnóstico clínico de leucoplasia oral (dos homogéneas y dos no homogéneas). A todos se les realizó exéresis total de sus lesiones con láser Er,Cr:YSGG tal como se describe con anterioridad.

Todos los casos alcanzaron una adecuada hemostasia sin necesidad de sutura, así como, cicatrización completa por segunda intención entre la cuarta y la quinta semana después de la cirugía. Únicamente los pacientes nº2 y nº3 necesitaron medidas para el control del sangrado: compresión con gasa empapada en ácido tranexánico (Amchafibrin, Alcalá-Farma, Spain) en combinación con aplicación de láser Er,Cr:YSGG (0.75w, 50Hz, no aire, no agua) a lo largo de la herida. Se observó una recurrencia temprana de una leucoplasia verrucosa proliferativa a las 8 semanas después de la cirugía situada en la misma ubicación de la lesión original. (Tabla 5 y Figs. 6,7,8 y 9)

El análisis histopatológico no muestra indicios de autólisis ni de artefactos dependientes de la manipulación (pseudocistes, fragmentación, aplastamiento, hemorragia o fisuras). Sin embargo se observaron células fusiformes con núcleos elongados e hipercromáticos (polimorfismo celular y nuclear) en dos muestras. El artefacto más habitual en esta serie ha sido la pérdida de adherencia intercelular; todos los artefactos pseudodisplásicos son de baja intensidad y localizados en la capa basal y suprabasal del epitelio de las leucoplasias. La longitud del daño térmico en el borde de la incisión alcanza un promedio de $26.60 \pm 23.5 \mu\text{m}$, mostrando todos los ejemplares sellado de vasos en el margen del conectivo. (Tabla 6 y Figs. 6,7,8,y 9).

3.2.5. DISCUSIÓN

Los porcentajes de malignización de la leucoplasia oral varían desde un 0,1 a 17,5% dependiendo de las características de la población a estudiar, la longitud del seguimiento y el tratamiento aplicado (Amagasa y cols, 2011). Debido a esto diversos estudios concluyen que el riesgo de desarrollar un neoplasia a partir de una leucoplasia no se reduce significativamente con el tratamiento quirúrgico (Holmstrup y cols, 2006). Por contra, una pequeña cantidad de estudios rigurosos con un adecuado tamaño de la muestra y largos periodos de seguimiento demuestran que el tratamiento quirúrgico puede influir en la tasa de malignización de las leucoplasias orales demostrando menor malignización que la ausencia de tratamiento o el abordaje no quirúrgico (Saito y cols, 2001).

Esta incongruencia puede ser debida , al corto periodo de seguimiento que se emplea en muchos estudios, lo cual , hace que no se ajuste análisis de los datos a los factores relacionados con la transformación maligna, o incluso a la ausencia de ensayos clínicos randomizados con un diseño adecuado.

Nuestro estudio tiene una naturaleza descriptiva, con un análisis transversal de los artefactos relacionándolos con la técnica quirúrgica y durante un periodo de seguimiento dirigido únicamente al periodo de cicatrización, por lo tanto, este corto periodo de seguimiento no debería ser una limitación del estudio.

La leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP) es un tipo de leucoplasia no homogénea caracterizada por una presentación multifocal y una alta tendencia a evolucionar hacia el carcinoma oral de células escamosas (60-100%). Las revividas en las LVP son frecuentes (Bagan y cols, 2004) debido a la existencia de un campo de premaligno. El caso de recurrencia temprana detectado en este estudio, fue de una LVP, las recurrencias posteriores a terapia resectiva con láser se atribuyen a cancerización de campo o a diseminación de una lesión localizada (Bagan y cols, 2004; Schwarz y cols, 2005). Además, este tipo de recidivas se han identificado como un factor pronóstico independiente para la transformación maligna de leucoplasias orales, mostrándose como un grupo de riesgo por sí solo (Yang y cols, 2010). Estos carcinomas pueden desarrollarse en el sitio donde fue retirada la lesión o en cualquier localización dentro del tracto aerodigestivo superior (van der Waal, 2009; Bagan y cols, 2004).

Diferentes tipos de láser (e.g., Nd:YAG, Er:YAG, y CO₂) han demostrado ser efectivos para el tratamiento de leucoplasias orales, con similares tasas de recurrencia (Vivek y cols, 2008; Montebugnoli y cols 2012; Deppe y cols, 2012; Schwarz y cols, 2005; Meister y cols, 2010). Las recurrencias después del tratamiento con láser CO₂ varían en un rango entre 10 y 57,1% (Lodi y cols, 2008; Amagasa y cols, 2011). Estudios descriptivos no comparativos sostienen que la vaporización con láser CO₂ (en modo continuo desfocalizado) es la elección de tratamiento para la leucoplasia oral (Roodenburg, 2011; Deppe y cols, 2012), aunque este procedimiento presenta limitaciones, puesto que no genera una muestra para estudio patológico y molecular. Así mismo, las biopsias incisionales previas a la vaporización por láser pueden no ser representativas de la lesión (Pentenero y cols 2003; Lee y cols 2007) e inducen a un infradiagnóstico en un porcentaje que varía desde 29,5% (si se toma una sola muestra) hasta 11.9% (con biopsias múltiples) si lo comparamos con un tratamiento excisional (Pentenero y cols 2003). Las leucoplasias no homogéneas muestran una tendencia significativa al infradiagnóstico con biopsias incisionales, con un alto porcentaje de malignizaciones imprevistas, especialmente cuando se localizan en borde lateral de lengua (Pentenero y cols 2003; Lee y cols 2007; Jeong y cols 2012).

Los protocolos de biopsia excisional permiten un análisis histológico de toda la lesión, y los mapeados por biopsia múltiple sugieren la excisión por láser como técnica para paladar blando y lateral de lengua, así como ocurre en cara central de la lengua y suelo de boca, donde los cambios displásicos son frecuentes y existe alto riesgo de malignización (Thomson y cols 2012). Estos hallazgos deben ser tenidos en cuenta cuando se decida entre excisión y vaporización en una lesión determinada. La localización de la lesión y el conocimiento de su biología guiaran la elección del procedimiento en lugar de las preferencias personales del cirujano. En esta serie se han estudiado lesiones extensas y no homogéneas, la vaporización hubiese causado infradiagnóstico y haciendo imposible un adecuado diagnóstico de la displasia epitelial.

La valoración de los márgenes quirúrgicos es otro punto clave de este procedimiento. Tal y como han descrito estudios previos, existe una alta proporción de displasia de leve a moderada en los márgenes de los especímenes tomados con láser CO₂ en lesiones displásicas de la cavidad oral (van der Waal, 2009), lo cual, condicionara la reepitelización y la recidiva de la leucoplasia. Además, los artefactos térmicos (pérdida de adherencia intercelular, presencia de células fusiformes, hiperchromatismo nuclear y entonación nuclear) producidos por este láser pueden ser confundidos con displasia epitelial cuando acompañan a una muestra de biopsia de epitelio (Eeversole, 1997; Seoane y cols, 2010; González-Mosquera y cols, 2012). La gran variabilidad de datos mostrada en la medida del daño lateral térmico de nuestra serie, puede deberse a diferencias en la absorción de energía causadas por diferencias en la queratinización y en la composición de agua de las diferentes leucoplasias. Las diferencias en la proporción aire agua en el punto de contacto del láser con el epitelio durante la exéresis pueden haber contribuido a esta dispersión.

La fotocoagulación de las proteínas por efecto del calor puede enmascarar o alterar los epítomos de superficie, lo cual, limitaría el uso de ciertas técnicas de tinción inmunohistoquímica.

En estas circunstancias el desconocimiento de los efectos producidos por el láser CO₂ puede inducir a sobretratamientos o abordajes terapéuticos erróneos. Sin embargo el uso del láser Er,Cr:YSGG bajo el protocolo indicado en este artículo, minimiza los artefactos térmicos y provee excelentes márgenes epiteliales para el análisis histopatológico. Estos hallazgos sugieren que el láser Er,Cr:YSGG puede ser una herramienta fiable para biopsias incisionales en lesiones del epitelio oral.

El daño térmico generado por los láseres de diodo, CO₂, y Nd: YAG, requiere una cantidad adicional de tejido sano (1 a 3 mm) si se quieren tomar muestras de tejido blando para estudio histopatológico (Seoane y cols, 2010; Cercadillo-Ibarguren 2010); el ancho del daño térmico producido por el láser Er,Cr:YSGG recogido en este estudio hace que no sean necesarios los márgenes de seguridad anteriormente citados.

Se concluye teniendo en cuenta las limitaciones inherentes a este tipo de estudios, que la irradiación con láser Er,Cr:YSGG genera una mínima cantidad de artefactos térmicos en el margen quirúrgico de leucoplasias orales evitando así la interferencia con márgenes realmente displásicos cuando se estudian lesiones sospechosas de malignidad. Sin embargo son necesarios estudios (ensayos clínicos randomizados) con series de casos más largas para confirmar estos hallazgos.



3.2.6. ANEXO

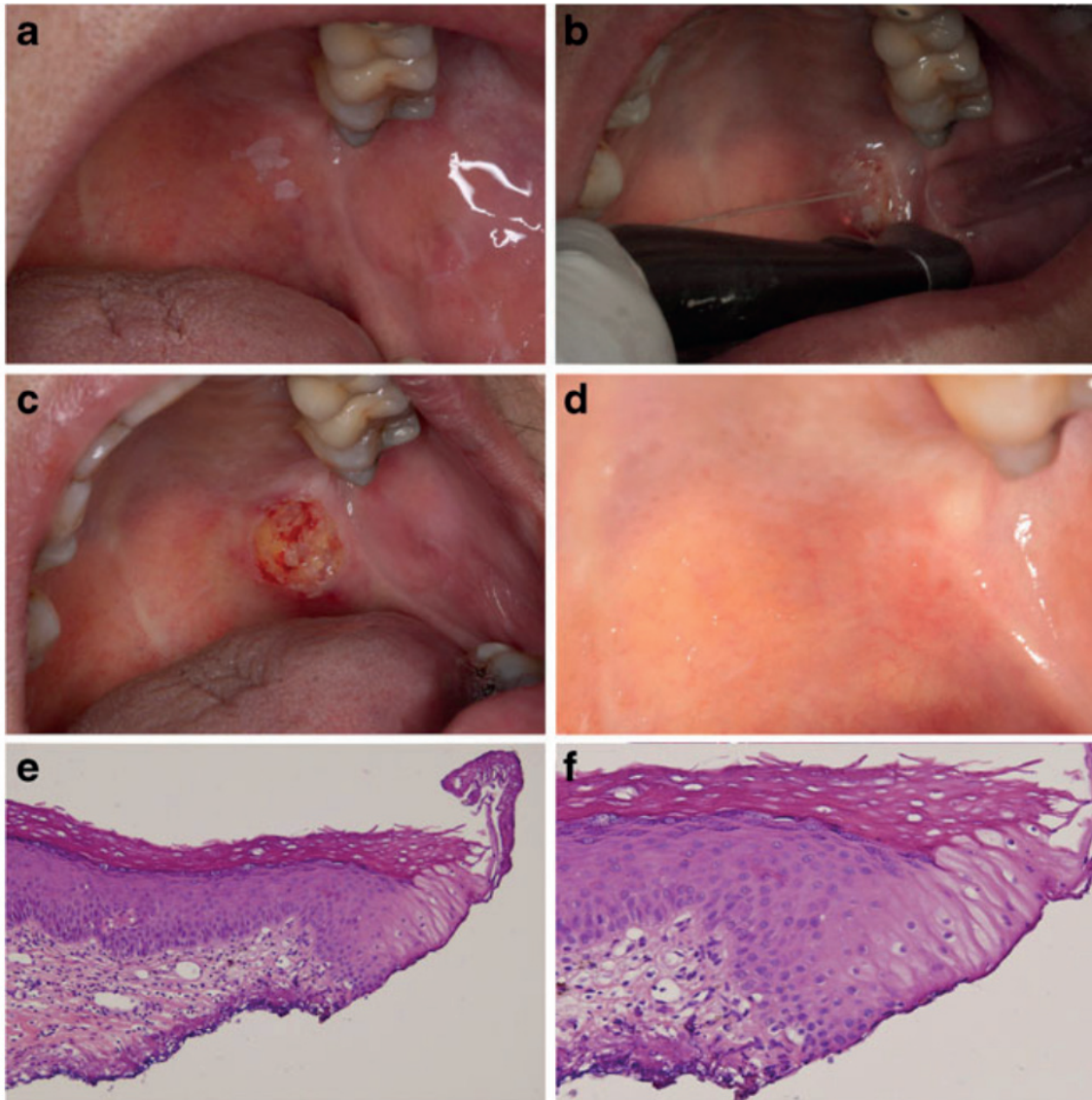


Figura6: a Leucoplasia homogénea en paladar blando. b: Incisión con láser Er, CR:YSSG y punto de sutura para tracción del espécimen. c: Herida quirúrgica con hemostasia efectiva. d: Cicatrización a las 4 semanas. e: Margen quirúrgico de la leucoplasia (H&E X10). F: Margen quirúrgico de libre de artefactos pseudodisplásicos.

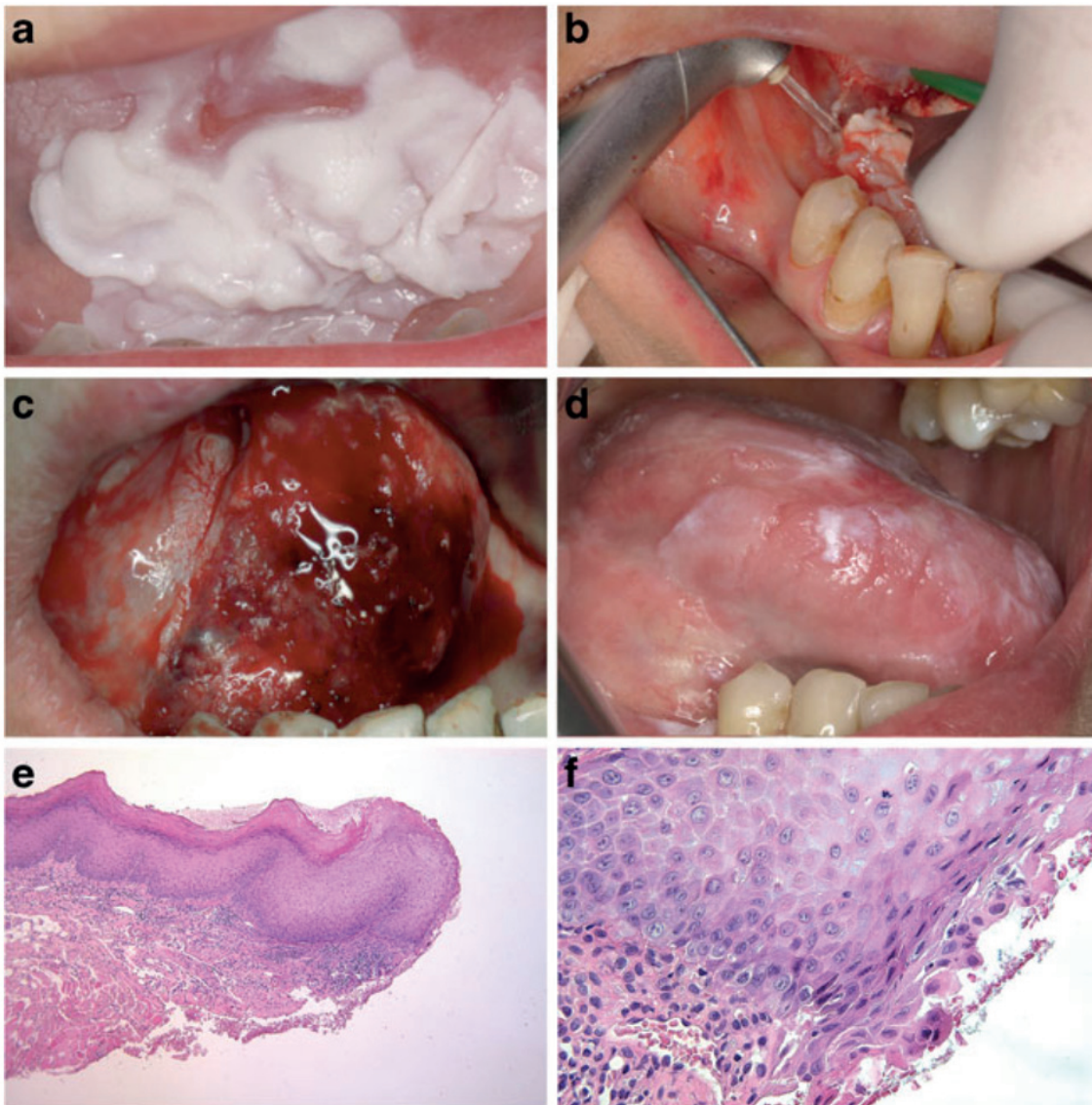


Figura 7: a: Leucoplasia verrucosa proliferativa. b: exéresis quirúrgica. c: herida intraoperatoria. d: reparación de lesión. e: Imagen histopatológica del margen del espécimen. f: Polimorfismo nuclear, hiper cromatismo y pérdida de adherencia intercelular en el margen quirúrgico.

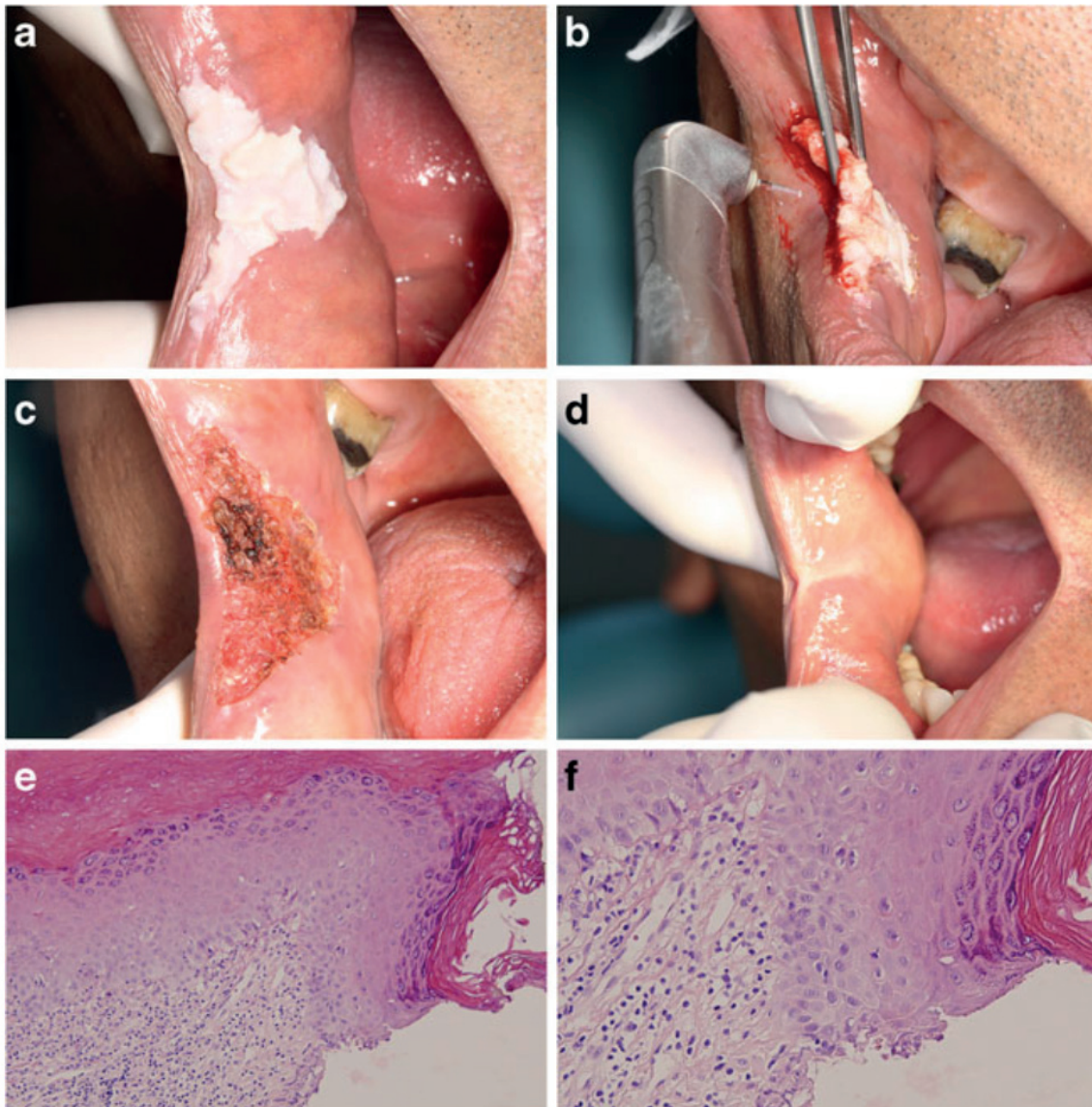


Figura 8: a: Leucoplasia verrucosa proliferativa. b: excisión de la lesión con láser Er, CR:YSSG. c: Herida quirúrgica. d: postoperatorio de 5 semanas. e: Imagen histopatológica del margen quirúrgico (H&E 10X). f: Pérdida de adherencia intercelular en el margen quirúrgico (H&E 40X).

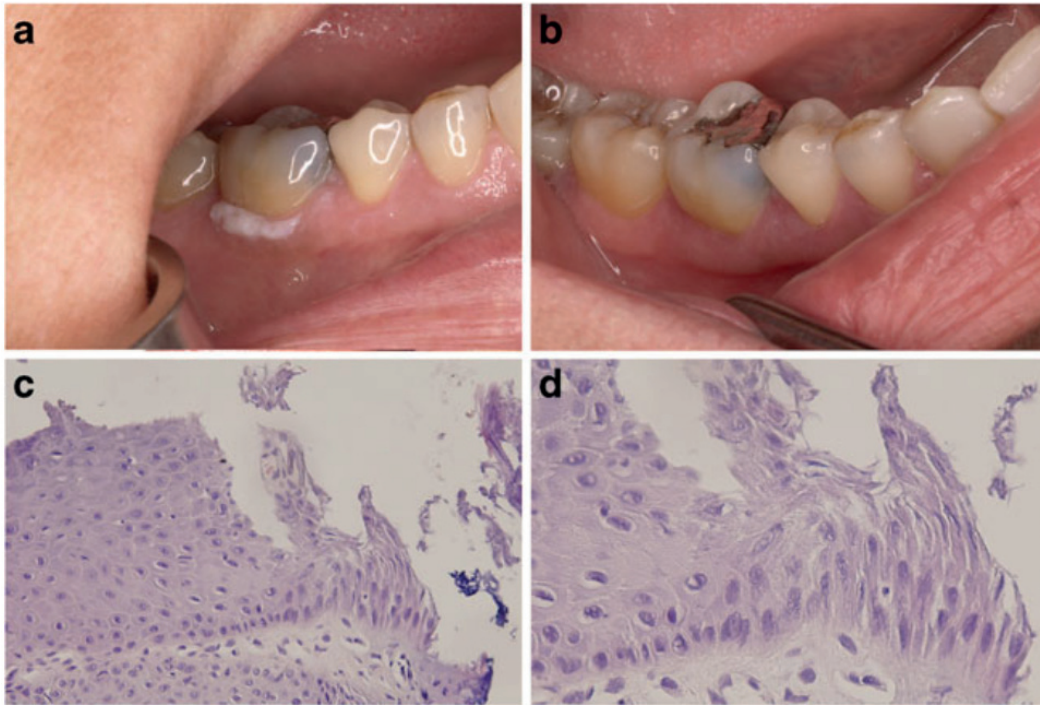
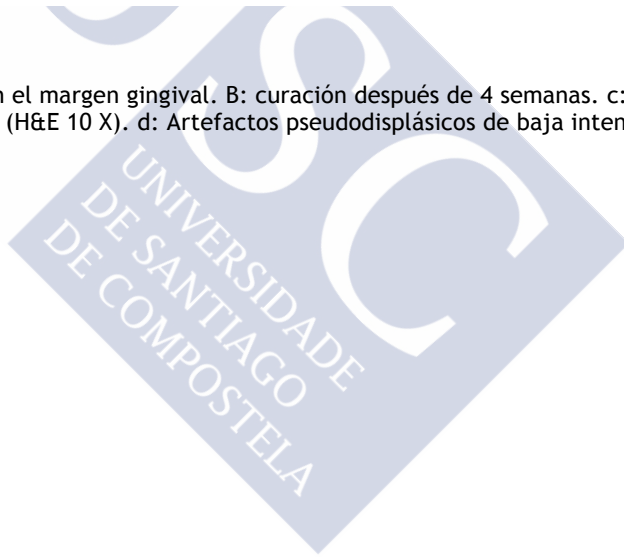


Figura 9: a; leucoplasia homogénea en el margen gingival. B: curación después de 4 semanas. c: Imagen histopatológica del margen quirúrgico (H&E 10 X). d: Artefactos pseudodisplásicos de baja intensidad (H&E 40X).



Paciente	Sexo	Edad	Fumador	Tipo clínico	Asiento	Tamaño de la lesión (cm)	Estadio histológico	Tiempo hasta la reepitelización (semanas)	Escisión terapéutica	Recidiva (3 meses de seguimiento)
1	Mujer	70	No	Lisa (H)	Paladar blando	1,0x1,5	Hiperplasia escamosa	4	Completa	No
2	Mujer	67	No	LVP (NH)	LL & SB	4,0x2,5	Hiperplasia escamosa	5	Completa	Si
3	Hombre	42	Si	Verrucosa (NH)	Comisura	2,0x2,0	Displasia moderada	5	Completa	Non
4	Mujer	57	No	Liso (H)	Encía	1,0x0,5	Displasia escamosa	4	Completa	No

Tabla 5: Descripción individualizada de la serie.

ARTEFACTOS PSEUDODISPLÁSICOS				
	Polimorfismo	Hipercromatismo	Perdida de adh. Intercel.	Ancho del daño térmico (μm) ($X \pm SD$)
1	-	-	-	5,62 \pm 2,07
2	+	+	+	56,86 \pm 17,79
3	-	-	+	3,32 \pm 1,02
4	+	+	+	40,62 \pm 10,36

Tabla 6: Distribución del daño térmico y evaluación del margen quirúrgico.



3.3. Hiperplasia pseudoepiteliomatosa tras cirugía oral con láser de diodo. Un estudio experimental.

3.3.1 RESUMEN

Objetivos: Examinar el proceso de reparación epitelial en una herida quirúrgica ocasionada por láser de diodo.

Diseño del estudio: Se realizó un estudio experimental con 27 ratas Sprague-Dawley. Los animales fueron asignados al azar en dos grupos, realizándose una glosectomía por medio de un láser de diodo en diferentes potencias, y un grupo de control tratado utilizando una hoja de bisturí número 15.

Los animales fueron sacrificados en el 2°, 7°, y 14° día tras la glosectomía. Los especímenes fueron analizados por dos patólogos de manera independiente y ciega.

Resultados: En el séptimo día, la reepitelización fue ligeramente más rápida en el grupo control (incisión convencional)($p=0.011$). En el 14° día, en todos los grupos se observó una reepitelización completa. En los grupos experimentales se apreció una hiperplasia pseudoepiteliomatosa.

Conclusiones: Se concluye que, considerando las limitaciones de este tipo de estudios experimentales, una temprana reepitelización sucede de manera más rápida cuando se utiliza la técnica convencional para realizar la incisión, aunque la reepitelización se completa a las dos semanas independientemente del instrumento utilizado. Además, la Hiperplasia pseudoepiteliomatosa es un efecto potencial tras la cirugía de mucosa oral con el láser de diodo. Teniendo conocimiento de este fenómeno (no descrito previamente), podemos prevenir errores de diagnóstico y enfoques de tratamiento inadecuados; en concreto, cuando se trata de lesiones de la cavidad oral potencialmente malignas.

Palabras clave: Laser diodo, modelo animal, biopsia oral, cáncer oral, precáncer oral, Hiperplasia pseudoepiteliomatosa

3.3.2. INTRODUCCIÓN

Láser con diferentes longitudes de onda han sido utilizados en cirugía oral y maxilofacial por las características y afinidades de cada uno de ellos (Merigo y cols, 2012), búsqueda de una técnica mínimamente invasiva, exactitud, hemorragia intraoperatoria

reducida, esterilización de la herida quirúrgica, mientras que causa infrecuente morbilidad postoperatoria (Amagasa y cols, 2011). En este sentido, el láser de diodo (810nm -980nm) ha demostrado ser una herramienta eficiente con un rendimiento fiable, tanto en modo continuo (2-10w) y pulsado (10-15w), como en modo contacto (centrado) y no contacto (descentrado) (Romanos y cols; Capodiferro y cols 2008). Basados en estas propiedades, publicaciones clínicas recientes sugieren que el láser diodo podría ser la primera elección para la cirugía oral de tejidos blandos (Capodiferro y cols 2008), principalmente en la técnica de biopsia de lesiones premalignas y malignas de la cavidad oral (Capodiferro y cols 2008; Akbulut y cols, 2013; Angiero y cols, 2012).

Diversos estudios clínicos (Kusukawa y cols, 1984) y experimentales (Safour y cols, 1984; Ohtake y cols, 1990) han revelado la presencia de células tumorales circulantes y la subsecuente elevada incidencia de metástasis locorregional tras realizar biopsias incisionales de carcinoma oral de células escamosas (COCE) llevadas a cabo con un bisturí convencional. El número de células cancerígenas en circulación procede tanto del desprendimiento celular del tumor primario como de la accesibilidad de los vasos durante la extracción de la muestra de tejido tumoral (Weiss, 1989). Sin embargo, el uso del láser en la técnica de biopsia podría evitar la diseminación de células tumorales, aprovechando la capacidad del láser para generar un mínima pérdida de sangre y sellado de los vasos linfáticos y terminaciones nerviosos (Klein, 1977). A pesar de estos beneficios, el uso del láser en las técnicas de biopsia sigue siendo controvertido, sobre todo debido a la dificultad para la evaluación patológica de los márgenes quirúrgicos (Eversole, 1997). El láser de diodo induce un efecto térmico que ocasiona daño epitelial y una zona hialinizada alrededor de la incisión, sella los vasos en la herida quirúrgica (Goharkhav y cols, 1999; Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010), lo que puede ser también una ventaja en las biopsias de lesiones orales potencialmente malignas (LOPM).

Varios estudios transversales han evaluado las características histológicas de ambas incisiones y márgenes quirúrgicos de lesiones orales tratadas con láser de diodo con diferentes configuraciones (Capodiferro y cols 2008; Akbulut y cols, 2013; Angiero y cols, 2012; Goharkhav y cols, 1999; Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010), pero no existen datos de estudios longitudinales sobre este tema, a pesar de que los hallazgos histológicos cambien con el transcurso del tiempo (D'Arcangelo y cols, 2007), y la reepitelización de la herida quirúrgica tras las biopsias incisionales en el tratamiento COCE y LOPM es crucial. Por tanto, el objetivo

de este estudio es el de examinar el proceso de reparación epitelial en la herida quirúrgica producido por el láser de diodo.

3.3.3. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental con 27 ratas tipo Sprague-Dawley (con un peso de aproximadamente 250gr). Los animales fueron asignados aleatoriamente a tres grupos: dos grupos experimentales (n=9 en cada uno), en los que se les realizó una glosectomía utilizando láser diodo a diferentes potencias, y un grupo control (n=9) tratados utilizando un bisturí del nº 15 (B/Braun, Aesculap AG, Germany).

El láser de diodo (810nm) (Lasersmail, Biolase Technology, Inc.) fue utilizado en modo pulsado a 5.1 W, 25Hz, 20ms por pulsación para un grupo, y modo continuo con 6W para el otro grupo experimental. La calibración del dispositivo (Lasersmail, Biolase Technology, Inc.) fue realizada utilizando un sensor de potencia (Ophir F100A-HE) y un monitor OphirNova. Se utilizó una fibra de 400µm (incidiendo perpendicularmente sobre el sensor) a una distancia de 1-2mm con el fin de minimizar las pérdidas debido a las irregularidades y a la parte final de la fibra. La densidad de potencia fue calculada en el extremo terminal de la fibra (4480 W/cm²) para el modo continuo, y la densidad de energía (fluencia) para el modo pulsado (76.8 J/cm²).

La técnica quirúrgica (glosectomía) fue realizada por un único cirujano dirigiendo el haz de láser perpendicularmente al dorso de la lengua mientras se estabilizaba el espécimen con una pinza Adson no dentada colocada en la punta de la lengua. Los animales fueron sacrificados en el 2º, 7º y 14º día después de la cirugía mediante una sobredosis de anestesia, siguiendo los protocolos de la U.E.. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad de Santiago de Compostela.

Siguiendo los protocolos previamente publicados (Gonzalez-Mosquera y cols, 2012; Seoane y cols, 2010), las muestras fueron fijadas inmediatamente en una solución salina de formol tamponado al 10% durante 24 horas. Todas las muestras fueron cortadas longitudinalmente por un único patólogo utilizando un bisturí desechable para cada muestra. Tras la inclusión en parafina, se realizaron cortes de secciones de 4µm para posteriormente teñirlos con hematoxilina y eosina. Las muestras fueron estudiadas individualmente por dos patólogos de manera ciega. El análisis histológico incluía todo el muñón lingual, con el objetivo

de evaluar el grado de epitelización de la herida quirúrgica. Las diferentes muestras fueron analizadas y fotografiadas con un microscopio Provis AX70 (Olympus Corp., Tokyo, Japan).

Se utilizó la escala de Sinha (Sinha y cols, 2003; Camacho-Alonso y cols, 2007) para evaluar el grado de reepitelización: (0= reepitelización en el borde de la herida; 1= reepitelización de menos de la mitad de la herida; 2= reepitelización de más de la mitad de la herida; 3= reepitelización completa de la herida con un espesor irregular; y 4= reepitelización completa de la herida con un espesor regular).

El análisis de los resultados se realizó mediante el paquete estadístico SPSS+ 15.0 (IBM, NY, USA). Se aplicó un test no paramétrico para comparar proporciones (Chi cuadrado). El nivel de significancia escogido fue de 5%.

3.3.4. RESULTADOS

El láser de diodo provocó sangrado intraoperatorio leve o inexistente.

Solo un animal (asignado al grupo de los 6 vatios y programado para su estudio el 2º día) fue retirado del estudio.

No se observó autólisis o fenómenos relacionados con una inadecuada fijación de los tejidos.

El análisis llevado a cabo en el segundo día tras la cirugía mostró ausencia de reepitelización (grado 0 en la escala Sinha) en todos los grupos de estudio (n=8; 100%). En ese momento, el tejido de la herida quirúrgica estaba compuesto por fibrina y tejido necrótico con abundantes neutrófilos. En la figura se aprecia una capa edematosa con numerosos neutrófilos y mastocitos sobre las fibras de tejido muscular dañado rodeada de células inflamatorias y ocasionalmente vasos sanguíneos y fibroblastos (fig. 10)

En el 7º día, la reepitelización fue ligeramente más rápida en el grupo control (bisturí frío) frente al grupo experimental (p=0.01). El grupo control (n=3; 1005) registró un grado 2 en la escala de Sinha –más de la mitad de la herida quirúrgica- mientras que el grupo experimental (n=6) mostraron una reepitelización de menos de la mitad de la herida en el 100% de las muestras, con fibrosis bajo los bordes del epitelio recién formado. En el centro de la herida, una capa de fibrina con neutrófilos polinucleares cubría un tejido de granulación con vasos sanguíneos dilatados, fibroblastos, junto con abundantes linfocitos y células plasmáticas (fig. 11).

Catorce días después de la cirugía, se pudo observar una completa reepitelización de la herida quirúrgica en todos los grupos, aunque se observaron diferencias significativas en términos de regularidad del epitelio entre el grupo control y los grupos experimentales ($p=0.01$): En las muestras obtenidas con bisturí (fig.12), se formó un epitelio normal ($n=3$; 100%), en contraste con la hiperplasia pseudoepiteliomatosa hallada en las muestras tratadas con láser (tanto en modo pulsado como modo continuo) ($n=6$; 100%). Ligera fibrosis, abundantes células inflamatoria, y vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas de nueva formación fueron observados bajo el epitelio (Fig. 13).

3.3.5. DISCUSIÓN

Una amplia variedad de animales y muestras en cadáveres fueron propuestos como modelos experimentales para técnicas quirúrgicas orales, y su validez para los estudios con la técnica del láser ha sido demostrada (Gonzalez-Mosquera y cols, 2012; Seoane y cols, 2010). El daño térmico inducido en los tejidos blandos de la cavidad oral por el láser de diodo ha sido previamente evaluado en humano (Angiero y cols, 2012; Suter y cols, 2010), mucosa oral porcina *ex vivo* (Goharkhav y cols, 1999; Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010), y ratas (D'Arcangelo y cols, 2007). Este último modelo experimental fue seleccionado para un estudio longitudinal (14 días) con el objetivo de investigar la respuesta inflamatoria (D'Arcangelo y cols, 2007). En todos los estudios anteriormente citados, la técnica quirúrgica realizada consistía en una o múltiples incisiones superficiales (Goharkhav y cols, 1999; Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010; D'Arcangelo y cols, 2007).

Teniendo en cuenta que el objetivo del presente estudio fue el de evaluar la reepitelización de la herida quirúrgica (similar a lo sucedido en una biopsia incisional) y que la técnica de biopsia mediante el láser de diodo requiere al menos un diámetro de 5mm en las muestras para que sea posible su estudio (Angiero y cols, 2012), se escogió del protocolo de glosectomía en ratas (Gonzalez-Mosquera y cols, 2012; Seoane y cols, 2010). Este modelo quirúrgico ha sido previamente utilizado para evaluar el impacto del CO₂ y los láseres Er, Cr:YSGG en los tejidos orales (Gonzalez-Mosquera y cols, 2012; Seoane y cols, 2010).

Los láseres de diodo en el modo no centrado (10-15 w/onda continua) permiten la vaporización de lesiones leucoplásicas y de liquen plano oral (Akbulut y cols, 2013; Sivolella y cols, 2012), pero estudios clínicos han utilizado potencias de 2 a 7 w para la biopsia de lesiones orales premalignas y malignas (Capodiferro y cols, 2008). Más específicamente, el

láser de diodo de 810nm, con 5.2w, modo pulsado, utilizando un diámetro de fibra de 400µm, en contacto con el tejido a biopsiar, permite llevar a cabo biopsias sin complicaciones significativas (Suter y cols, 2010). Estos hallazgos parecen apoyar los parámetros del dispositivo de láser utilizado en nuestro modelo experimental.

El efecto térmico del láser de diodo es ampliamente conocido y puede afectar hasta 754.2µm (95%CI=551.0-957.4) del tejido a ambos lados de la herida quirúrgica (Capodiferro y cols, 2008; Angiero y cols, 2012; Goharkhav y cols, 1999; Suter y cols, 2010). Estos efectos incluyen cambios térmicos en el epitelio artefactado, que consisten en la alteración de la estructura celular y la presencia de atipias citológicas (Capodiferro y cols 2008; Angiero y cols, 2012), los cuales pueden confundirse con cambios pseudodisplásicos (presencia de células fusiformes, hiperchromatismo, polimorfismo y elongación nuclear, con pérdida de la adherencia intercelular). Estos hallazgos han sido descritos previamente con la utilización de laser de CO₂ y Er,Cr:YSGG en la mucosa oral (Eversole, 1997; Seoane y cols, 2010). Un diagnóstico erróneo de estos cambios bien podría llevar a un enfoque terapéutico inadecuado, ya que estos criterios de displasia son particularmente relevantes para la predicción del potencial maligno de la lesión (Warnakulasuriya, 2001). Con el fin de evitar esta circunstancia indeseada, sería conveniente la ampliación de la incisión quirúrgica (abarcando una parte de tejido marginal sano) al menos 0,5mm en casos con sospecha de lesiones displásicas y neoplásicas (Angiero y cols, 2012).

A pesar de que la reepitelización de la herida quirúrgica podría condicionar la recurrencia de la lesión,(Seoane y cols, 2013) y esto es un efecto importante a analizar en las muestras obtenidas tras biopsias incisionales, y en el tratamiento de COCE (incluido en protocolos previos) (Zarovnaya y cols, 2005), no se han encontrado estudios centrados en la reparación epitelial tras la irradiación del láser de diodo.

Nuestros resultados, obtenidos bajo condiciones experimentales, sugieren la existencia de hiperplasias pseudoepiteliomatosa (HPE). En los grupos de láser de diodo. Este hallazgo compromete seriamente la idoneidad de este láser como un instrumento quirúrgico accesorio para la toma de biopsias de tejidos blandos de la cavidad oral (Angiero y cols, 2012), particularmente cuando se trata con epitelio de lesiones preneoplásicas o neoplásicas.

La HPE es una reacción proliferativa del epitelio cuya principal característica a nivel microscópico incluye una prominente hiperplasia epitelial irregular, con lengüetas epiteliales en un patrón pseudoinvasivo hacia el tejido conectivo. Debido a estas características, la HPE

se conoce también como “hiperplasia pseudocarcinomatosa” (El-Khoury y cols, 2012). Dentro de la cavidad oral, la HPE ha sido descrita asociada a células tumorales granulares, sialometaplasia necrotizante, paracoccidiodomicosis, osteonecrosis asociada a bisfosfonatos, fibrosis submucosa oral, y adenoma pleomórfico de las glándulas salivales menores. Su similitud al COCE nos puede llevar a un diagnóstico erróneo (Zarovnaya y cols, 2005; El-Khoury y cols, 2012). La dificultad diagnóstica aumenta cuando las muestras son pequeñas y superficiales, y/o con un alto componente inflamatorio, o con secciones de tejido mal orientadas (Zarovnaya y cols, 2005). Además, no se ha llegado a ningún consenso de criterios inmunohistoquímicos para diferenciar la HPE del COCE (Zarovnaya y cols, 2005), así que el conocimiento del fenómeno de HPE tras la irradiación del láser de diodo es especialmente relevante.

Bien podría haber ocurrido que la escasez de estudios longitudinales y del uso de incisiones superficiales como modelo quirúrgico (D’Arcangelo y cols, 2007) habría impedido una fácil descripción de estos hallazgos. HPE ha sido también descrito en quemaduras y heridas crónicas contaminadas, donde aparece en torno al 10º y 14º días tras la lesión (El-Khoury y cols, 2012).

Nuestro modelo experimental ha sido realizado en condiciones similares a la situación clínica actual, con un adecuado seguimiento y una amplia zona quirúrgica expuesta a contaminación bacteriana. Además, y dado el origen del HPE (El-Khoury y cols, 2012), es más probable que suceda en superficies de la mucosa oral con un alto número de glándulas salivales.

Podemos concluir que, teniendo en cuenta las limitaciones de este tipo de estudios experimentales, una rápida reepitelización ocurre ligeramente más deprisa cuando la incisión se realiza con bisturí convencional, aunque la reepitelización se completa en dos semanas sin importar el instrumento utilizado. Además, la hiperplasia pseudoepitelomatosa es un posible efecto tras la cirugía de mucosa oral con láser de diodo. El conocimiento de este fenómeno (no descrito previamente) puede prevenir errores diagnósticos y técnicas de tratamiento inadecuadas, particularmente cuando tratamos lesiones potencialmente malignas de la cavidad oral.

F
3.3.6. ANEXO

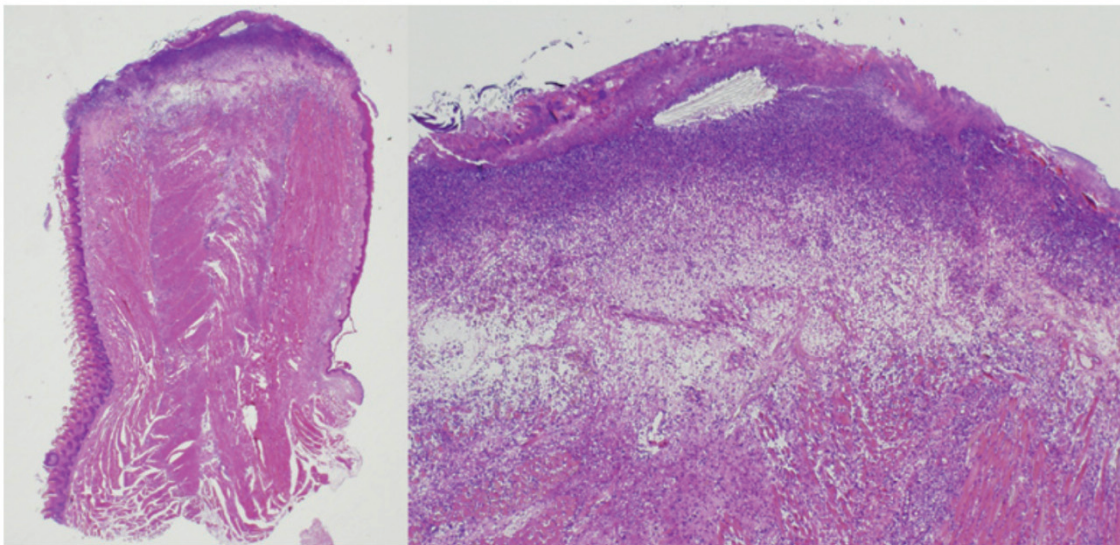


figura 10 : segundo día postcirugía/ diodo modo pulsado.
En esta fase temprana de cicatrización, no existe reepitelización. La superficie de la herida presenta tres capas sobre el musculo: una capa superficial eosinofílica compuesta por una matriz de fibrina, una intermedia basófila de restos celulares y una profunda de edema (H&E, 1,25 x Izq/ 4x Dcha.)

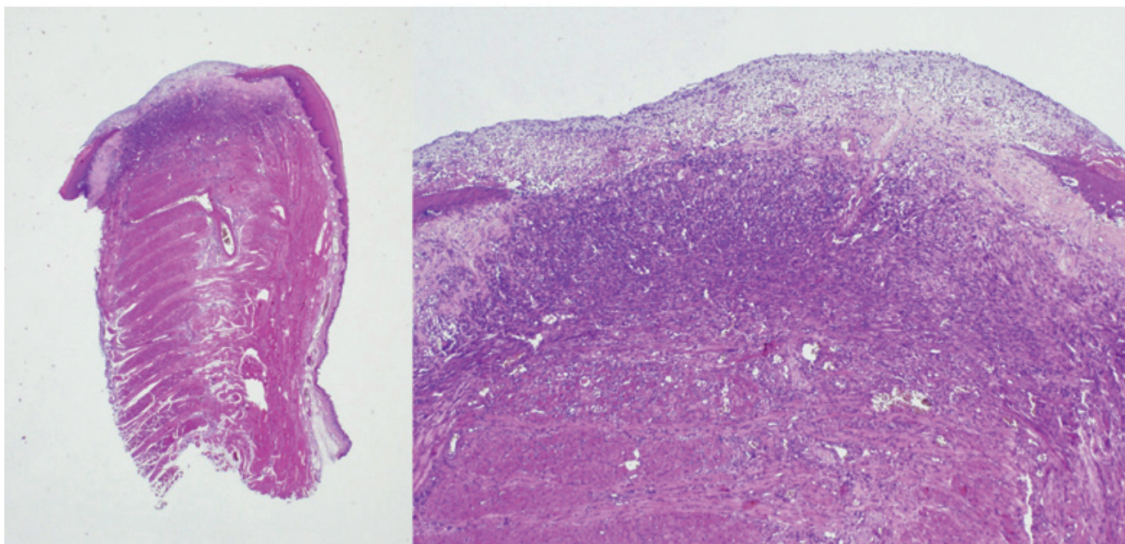


Figura 11 : Séptimo día postcirugía/ diodo modo pulsado.
En esta fecha la reepitelización, apenas cubre la mitad de la herida, presentando una capa eosinofílica de fibrosis por debajo del nuevo epitelio. La superficie de la herida muestra una capa superior compuesta por fibrina y neutrófilos por encima del tejido de granulación. (H&E, 1,25 x Izq/ 4x Dcha.)

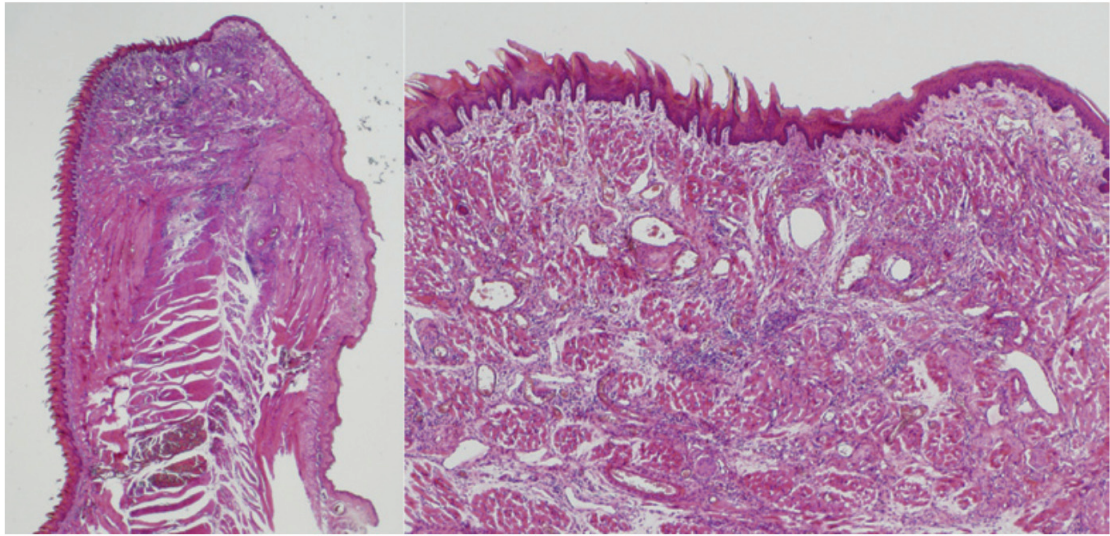


Figura12 : Catorce días de la intervención. Bisturí frío.
 A las dos semanas postcirugía con bisturí frío la totalidad de la herida se ha cubierto por epitelio normal. (H&E, 1,25 x Izq/ 4x Dcha.)

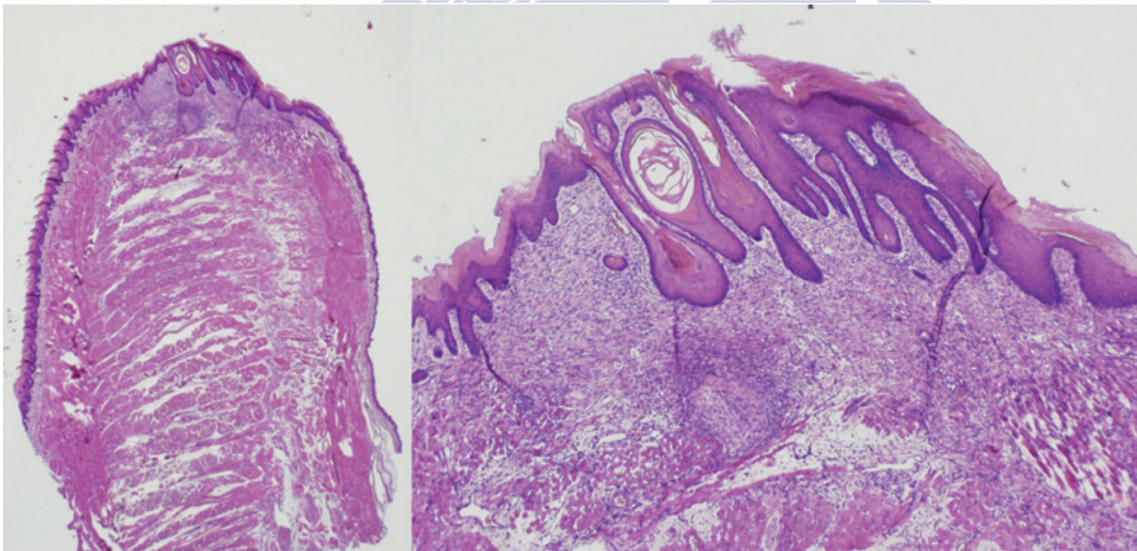


Figura13 : catorce días de la intervención. Diodo pulsado.
 Muestra una reepitelización completa, pero en este caso muestra una hiperplasia pseudoepiteliomatosa severa. (H&E, 1,25 x Izq/ 4x Dcha.)





4. RESUMEN



4. Resumen

En 1978, la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó al “precáncer oral” utilizando los términos de lesión y condición precancerosa. El concepto de lesión se refiere a tejidos morfológicamente alterados sobre los cuales es más probable que ocurra un cáncer oral, en comparación con su equivalente no alterado. Por el contrario, condición precancerosa define un estado generalizado asociado con un incremento en el riesgo de presentar cáncer oral (van der Waal, 2009).

Años más tarde, en 2005, la OMS asume el concepto de “campo de cancerización”, de forma que esta subdivisión entre “lesión y condición” precancerosa queda debilitada para dar paso a un nuevo criterio que propone referirnos a cualquier condición clínica con riesgo potencial de desarrollar cáncer oral como un “desorden oral potencialmente maligno”; usando también el término de “lesiones epiteliales precursoras” y definiéndolas como alteraciones epiteliales con un incremento del riesgo de progresión hacia carcinoma de células escamosas. En esta definición, la palabra “alteración” se utiliza para referirse a la displasia epitelial (van der Waal, 2009; van der Waal, 2010). A partir de estas definiciones se incluyen entonces lesiones como las leucoplasias, las eritropias, las queratosis, y las lesiones inflamatorias asociadas a factores internos, como el lupus eritematoso discoide y el liquen plano, y otras asociadas a factores externos como el traumatismo mucoso crónico.

La leucoplasia oral es definida por varios autores como una lesión predominantemente blanca de la mucosa oral que no puede ser caracterizada como ninguna otra lesión (Scheifele y Reichart, 2003) (Fig. 1). En 1963, el grupo de Pindborg (Bagán y cols, 2004) categorizó las leucoplasias en simples (planas) y nodulares (con interposición de zonas rojas), estando estas últimas frecuentemente asociadas a displasia epitelial y progresión hacia carcinoma. Años más tarde, en 1994, la OMS reclasifica las leucoplasias como homogéneas y no homogéneas: la característica principal de las leucoplasias homogéneas sería su aspecto clínico definido por placas blancas con ausencia de zonas rojas, planas o corrugadas; mientras que las leucoplasias no homogéneas serían definidas por placas blancas con interposición de zonas rojas, o verrugosas, nodulares o ulceradas (Ho y cols, 2012).

La tasa anual de transformación maligna es de aproximadamente un 1% para todos los tipos de leucoplasia (van der Waal, 2009; van der Waal, 2010; Scheifele y Reichart, 2003). Sin

embargo, las leucoplasias localizadas en la lengua y/o suelo de boca, con un tamaño mayor 200 mm² y de aspecto clínicamente no-homogéneo, particularmente las leucoplasias verrugosas proliferativas (LVP) presentan un mayor riesgo de malignización (van der Waal 2009; van der Waal, 2010; Bagán y cols, 2004). Por otro lado, los pacientes no fumadores y con displasia epitelial oral, sufren una mayor probabilidad de transformación maligna de estas lesiones, por lo que en consecuencia precisarían de una mayor agresividad terapéutica (Ho y cols, 2012).

No existe consenso acerca de cómo manejar las lesiones orales premalignas. Diferentes abordajes incluyen la observación, el tratamiento no quirúrgico, la crioterapia, la vaporización con láser y la escisión quirúrgica (Kademani y Dierks, 2007). La decisión entre tratamiento quirúrgico y no quirúrgico de las leucoplasias debería basarse en el grado de displasia epitelial hallada en el estudio anatomopatológico: una displasia moderada o severa debe ser objeto de escisión quirúrgica de la lesión, mientras que una displasia leve podría tratarse con quimioprevención (Scheifele y Reichart, 2003; Kademani y Dierks, 2007), definida como el uso de sustancias naturales o sintéticas para la detención, el retraso o la reversión de la progresión hacia la malignidad de los tejidos, ante el riesgo de desarrollar un cáncer invasivo (Kademani y Dierks, 2007).

Mediante el abordaje no quirúrgico con carotenoides (β -Caroteno y Licopeno), vitaminas (ácido L-Ascórbico, -Tocoferol y ácido Retinoico), Bleomicina y terapia fotodinámica tópica o sistémica (Spinola y cols, 2010) se han conseguido porcentajes de resolución clínica muy heterogéneos, con tasas de recurrencia que varían del 5 al 67%, y una transformación maligna que oscila entre el 8 y el 23% (Spinola y cols, 2010); además de ser frecuentes los efectos adversos asociados a estas terapéuticas (Lodi y Porter, 2008).

En los últimos 25 años se ha generado una gran cantidad de conocimiento sobre la efectividad clínica de la terapia no quirúrgica para el manejo de las leucoplasias orales (Scheifele y Reichart, 2003), con resultados muy variables para los distintos compuestos:

1. Carotenoides: Dentro de ellos están los Beta-Carotenos, precursores de la vitamina A y su único efecto adverso conocido es la pigmentación cutánea asociada a la sobredosificación, y que desaparece a las pocas semanas de suspender su consumo. La literatura arroja un porcentaje de entre 4 y 54% de resolución clínica de la leucoplasia a dosis de entre 20 y 90 mg/día durante un período entre 3 y 12 meses. El licopeno es un carotenoide no precursor de la vitamina A, cuyo consumo se relaciona positivamente con la disminución del riesgo de desarrollar enfermedades degenerativas causadas por radicales libres. Debido a estas propiedades

antioxidantes, el licopeno tiene además la capacidad de modificar las uniones intracelulares, lo que parece ser un mecanismo anticancerígeno. No existe toxicidad sistémica demostrada con el licopeno, pero aún se necesitan más estudios para clarificar su función potencial en humanos, ya que solo un estudio de los revisados evaluó su eficacia en la resolución clínica de la leucoplasia oral a dosis de entre 4 y 8mg/día durante un período de tratamiento de 3 meses, obteniendo entre 25 y 55% de resolución.

2. Vitaminas: Entre ellas también existe una opción de tratamiento para la leucoplasia oral: el ácido L-ascórbico (vitamina C), que tiene también propiedades antioxidantes, reaccionando con los superóxidos y radicales libres producto de los procesos metabólicos normales de las células. Sin embargo, no existen estudios que demuestren su eficacia como tratamiento único para la leucoplasia oral. El alfa-tocoferol (vitamina E) es la forma más común y activa de vitamina E, un potente antioxidante ante altos niveles de oxígeno, protegiendo la membrana celular de la peroxidación lipídica. Algunos estudios han evaluado la administración del alfa-tocoferol solo o combinado con otras terapias, en una dosis de 800 IU/día y un período de tratamiento de 6 a 9 meses, con una tasa de reducción del tamaño de la leucoplasia del 55.7%, pero ninguna de esas investigaciones llegó a lograr la remisión completa de la lesión.

3. Retinoides: El ácido retinoico, cuya definición incluye todos los componentes naturales y sintéticos de acción similar a la vitamina A, comenzó a emplearse en el tratamiento de la leucoplasia en 1960, y su mecanismo de acción incluye la producción de queratina, la expresión de factores de crecimiento, actuación sobre la oncogénesis, la apoptosis, la producción de matriz colágena, la modulación de la respuesta inmune e inflamatoria, y la diferenciación celular y morfogénesis embrionaria. En consecuencia su utilización no ha sido ampliamente aceptada, debido a sus efectos colaterales como la hipervitaminosis, toxicidad, efectos teratogénicos y las alteraciones en varios órganos. Para su uso sistémico se han administrado dosis de 300.000 IU, obteniéndose una resolución clínica del 50%, y en uso tópico a dosis del 0.5 al 1%, con una resolución clínica de entre el 10 y 27%. La alta recurrencia después de períodos cortos de discontinuidad en el tratamiento, junto a los ya mencionados efectos colaterales, son importantes factores limitantes para su uso terapéutico. El fenretinida (4-HPR) o N-(4-hidroxifenil) retinamida es un análogo de la vitamina A cuya característica principal es la habilidad para inhibir el crecimiento celular a través de la inducción de apoptosis; este compuesto se ha utilizado a dosis sistémicas de 200 mg/día durante 3 meses, demostrando

resolución parcial de la leucoplasia, sin que se hayan publicado datos suficientes sobre su uso tópico.

4. Bleomicina: Es un antibiótico citotóxico utilizado primeramente para neoplasias de pene y escroto, y que últimamente ha sido utilizado también en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, esófago y piel. Su empleo en el tratamiento de leucoplasias orales a una dosis tópica de entre 0.5 y 1% al día por 12 a 14 días, ha proporcionado una resolución clínica del 32% en un período de seguimiento de 40 meses y una tasa de malignización del 11% (Scheifele y Reichart, 2003).

5. Terapia fotodinámica: El fundamento de esta terapia es una reacción fotoquímica no térmica sobre una droga que genera fotosensibilidad, como hacen los derivados de la hematoporfirina o 5-ácido aminolaevulinico (ALA). Así, una luz visible de longitud de onda específica activa la droga fotosensibilizante transfiriendo energía al oxígeno molecular, para generar moléculas de oxígeno reactivo de forma localizada con el consecuente daño tisular (Kadenami y Dierks, 2007); lo que parece ser prometedor para el tratamiento de las lesiones epiteliales premalignas, planteándose como una alternativa más exitosa que las terapias quirúrgicas convencionales, pero son todavía necesarios más estudios clínicos. El principal factor limitante de esta terapia es la fotosensibilidad cutánea.

Dentro de este grupo terapéutico no quirúrgico, la atención se encuentra focalizada en desarrollar agentes terapéuticos específicos para cada estadio de la progresión molecular, desde la normalidad epitelial hasta el carcinoma de células escamosas. Un ejemplo que ha ofrecido resultados prometedores in vitro, en modelos animales y en estudios clínicos recientes son los inhibidores ciclooxigenasa-2 (COX-2) e inhibidores de factores de crecimiento epidérmicos (EGFR). Sin embargo, todavía son necesarios más estudios clínicos, histológicos y que valoren la efectividad de estos agentes terapéuticos específicos (Kadenami y Dierks, 2007).

Por otra parte, y en virtud de los limitados beneficios de las intervenciones quirúrgicas sobre la displasia epitelial, favoreciendo la prevención de las recurrencias y evitando la transformación maligna (Chuang, 2010), el nivel de recomendación para intervenciones quirúrgicas específicas es escaso (van der Waal, 2009 y van der Waal, 2010). A pesar de ello, existe consenso acerca de que la escisión es la mejor opción de tratamiento para las leucoplasias orales (Meltzer, 2007).

Debido a que el empleo del bisturí frío puede condicionar la aparición de amplias zonas de mucosa denudada, con cambios cicatriciales desfavorables y una alteración funcional

secundaria como secuela quirúrgica (Kademani y Dierks, 2007), se ha promovido el empleo de láser CO₂, NdYAG, Er:YAG, KTP láser y diodos, bajo protocolos de vaporización o de escisión para el tratamiento de leucoplasias orales (Lodi y Porter, 2008; Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010), buscando precisión, una cirugía mínimamente invasiva y conservadora sobre el sitio específico de la lesión, además de la esterilización del área quirúrgica, la disminución del dolor y el sangrado postoperatorio, y también mejorar la cicatrización. Otras ventajas del láser incluirían el mínimo sangrado, lo que permitiría la perfecta visualización del lecho quirúrgico, el sellado de vasos linfáticos y terminaciones nerviosas, evitando el envío de células neoplásicas a distancia. Esta tecnología permitiría también eliminar campos precancerosos periféricos a la leucoplasia, con mínima morbilidad quirúrgica. Todo ello parece justificar el desarrollo de investigaciones para el uso del láser en el tratamiento del precancer oral y específicamente de las leucoplasias orales (Meltzer, 2007; Klein, 1977; Wilder-Smith y cols, 1995).

A la hora de comparar los tejidos irradiados por láser de CO₂ y ErCr:YSGG, ambos mostraron los mismos artefactos citoarquitecturales, sin que se identificara en las muestras analizadas ningún otro de los criterios citológicos o arquitecturales de displasia epitelial; su distribución en virtud de la potencia del láser empleada se describe en la Tabla 3. En este grupo de muestras no se observaron fenómenos de autólisis o asociados a una adecuada fijación de la muestra.

La amplitud del daño térmico epitelial adyacente a la incisión con láser de CO₂ alcanzó un valor promedio de $281,6 \pm 119,7 \mu$, mientras que el promedio alcanzado por el láser de Er,Cr:YSGG fue de $144,0 \pm 65,0 \mu$, siendo esta diferencia estadísticamente significativa a favor (menor daño) de los grupos de láser Er,Cr:YSGG ($X_i - X_j = 137,6$; 95% IC = 78,6 a 196,7).

También la proporción de artefactos del tipo de elongación nuclear –pleomorfismo celular y nuclear-, e hiper cromatismo nuclear fue significativamente menor en los grupos tratados con láser de Er,Cr:YSGG frente a los grupos de láser CO₂ ($p = 0,0001$) (fig8). El número de artefactos citológicos por espécimen tratado con láser Er,Cr:YSGG fue de $0,8 \pm 0,8$, mientras que alcanzó un promedio significativamente mayor en los grupos sometidos al láser de CO₂ ($X_i - X_j = 1,2$; 95% IC = 0,7 a 1,7).

La extensión del daño térmico determinado a nivel de la hilera de células basales en el grupo tratado con láser de CO₂ a baja potencia (3W) fue de $210 \pm 45,9 \mu$ y de $280 \pm 87,2 \mu$ en el grupo de 6W, para alcanzar los $355 \pm 157,5$ en el grupo de 10 W. El análisis de varianza únicamente pudo detectar diferencias entre los grupos tratados con láser de CO₂ a baja y alta

potencia, de modo que el daño epitelial generado a 10 W fue significativamente mayor que el generado a 3 W ($X_i - X_j = 145,0$; 95% IC= 22,4 a 267,5). También se identificaron diferencias significativas entre los grupos irradiados con láser CO₂ a 6 y 10 W respecto al grupo tratado con el mismo láser a 3 W, en términos de prevalencia de artefactos por espécimen. Considerando los grupos experimentales en su conjunto, el grupo de láser Er,Cr:YSGG a 3 W produjo significativamente el menor número de artefactos citológicos por espécimen, observándose marcada diferencia con el grupo de láser CO₂ a la misma potencia ($X_i - X_j = 1,0$; 95% IC= 0,8 a 1,0), a 6 W ($X_i - X_j = 1,1$; 95% IC= 0,1 a 2,0), y a 10 W ($X_i - X_j = 2,1$; 95% IC= 1,1 a 3,0)

La traslación de la investigación al ser humano mediante el ya descrito estudio piloto, contó con la participación de cuatro pacientes (3 mujeres) con una edad media de 59 años y diagnóstico clínico de leucoplasia oral (dos homogéneas y dos no homogéneas), a los que se les practicó una escisión completa de sus lesiones mediante láser Er,Cr:YSGG, siguiendo el protocolo previamente descrito. Todos los pacientes lograron una hemostasia adecuada sin precisar sutura y alcanzaron la curación completa por segunda intención entre la cuarta y la quinta semana postoperatoria. Se observó una única recurrencia temprana de una leucoplasia verrucosa proliferativa a las 8 semanas de la intervención en el mismo lugar de la lesión inicial

El estudio histopatológico reveló una vez más la ausencia de autólisis y de artefactos relacionados con la manipulación y fijación de las muestras (pseudoquistes, aplastamiento, fragmentación, hemorragias o fisuras). Sin embargo, dos de las muestras revelaron células fusiformes con núcleos elongados e hiper cromáticos (pleomorfismo celular y nuclear). La pérdida de adherencia intercelular fue el artefacto más frecuentemente identificado en la serie; todos los artefactos pseudodisplásicos identificados en esta parte del estudio fueron de baja intensidad y localizados en las capas basal y suprabasal del epitelio de las leucoplasias. La amplitud del daño térmico en el borde de la incisión alcanzó una media de $26,6 \pm 25,3 \mu$, y todas las muestras evidenciaron un sellado de los vasos en el margen conectivo

En el tercer estudio efectuado con láser de diodos no se objetivó sangrado quirúrgico en ninguno de los especímenes. A los dos días de seguimiento no se encontró reepitelización en ningún caso. La superficie de la herida estaba compuesta por restos necróticos, fibrina y abundantes polimorfonucleares degenerados. Bajo esta cubierta se evidenció una capa edematosa con neutrófilos y células cebadas sobre un lecho de fibras musculares alteradas. A los 7 días, la reepitelización del muñón fue ligeramente más rápida en el grupo intervenido con bisturí frío, frente al grupo tratado con láser de diodos, que cubría menos de la mitad de la

superficie de la herida. A los 14 días se ha producido la reepitelización completa de la herida quirúrgica, con independencia de la técnica utilizada. Sin embargo, se apreciaron diferencias en el espesor epitelial entre las ratas glosectomizadas mediante bisturí frío y las tratadas con láser de diodos. En el grupo intervenido mediante bisturí frío se reepitelizó la herida con un espesor normal. Por el contrario, se encontró una respuesta hiperplásica del epitelio (hiperplasia pseudoepiteliomatosa) en las muestras procedentes del grupo intervenido con láser.







5.DISCUSIÓN



5. Discusión

Una gran variedad de modelos animales, como primates, cerdos, ovejas, vacas y perros han sido usados en docencia y experimentación de técnicas quirúrgicas orales (Liboon y cols, 1997). También se ha empleado material cadavérico o partes de animales como modelo experimental en técnicas de biopsia oral; de modo que el uso de modelos animales y su validez para la investigación en este campo ha sido previamente demostrada (Liboon y cols, 1997; Fleiner y Plath, 1995; Panje y cols, 1989). Sin embargo, los efectos del láser de CO₂ sobre los tejidos varían de acuerdo con las diferencias en el contenido de agua y de densidad del tejido blando (Pogrel y cols, 1990) y, de este modo, el modelo experimental de la lengua de rata ha sido utilizado en estudios que evaluaban el daño térmico inducido por láser de CO₂ en la mucosa oral y cuerdas vocales (Fleiner y Plath, 1995; Liboon y cols, 1997). En este estudio se ha optado por descartar la superficie dorsal de la lengua de rata, altamente queratinizada, y emplear la superficie ventral de la misma para evaluar los cambios epiteliales, debido a su similitud con la mucosa oral humana.

La displasia epitelial se ha definido como una lesión precancerosa del epitelio estratificado caracterizada por atipia celular y pérdida de maduración y estratificación normales próxima al carcinoma *in situ* (Pindborg y cols, 1997). Sin embargo, el reconocimiento de estas características y la interpretación de sus significados en varias combinaciones y formas está sometida a una subjetividad considerable, lo que podría llegar a ser una limitación del presente estudio. Las dificultades en la evaluación del significado de la displasia surgen de la falta de objetividad en la evaluación de los criterios establecidos, junto con una división arbitraria entre las distintas categorías y la ausencia de estándares de calibración y gradación (Warnakulasuriya, 2001), inconvenientes que se ha intentado soslayar haciendo que las muestras fueran examinadas por dos patólogos con amplia experiencia en displasia oral.

El uso del láser de dióxido de carbono en el área maxilofacial se ha visto favorecido por su contribución a la precisión en la cirugía, la mínima hemorragia intraoperatoria que provoca, así como la esterilización del área quirúrgica, la curación con mínima cicatriz y la menor tumefacción postoperatoria subsiguiente a estas intervenciones (Liboon y cols, 1997; Wilder-Smith y cols, 1995). Este láser se ha usado para extraer tumores orales u orofaríngeos, lesiones

premalignas, tumores benignos, cirugía de la articulación temporomandibular, uvulopalatoplastia (Panje y cols, 1989; Pecaro y Garchume, 1983) y para biopsias incisionales y escisionales en la cavidad oral (Pecaro y Garchume, 1983; Pick y Pecaro, 1987) aprovechando las ya mencionadas ventajas que aporta a la hora de minimizar la pérdida de sangre y sellar los vasos linfáticos y terminaciones nerviosas (Klein, 1977).

El uso de láseres en la toma de biopsias podría posiblemente minimizar la dispersión de células tumorales (Klein, 1977), habiéndose demostrado experimentalmente un aumento en la presencia de metástasis cervicales procedentes de carcinomas de células escamosas en estadios I y II después de biopsias incisionales (Eriksson, 1984; Ohtake y cols, 1990), y la presencia de células tumorales de carcinoma oral de células escamosas en sangre periférica 15 minutos después de la biopsia con bisturí convencional (Kusukawa y cols, 2000).

Por otra parte, los cambios epiteliales artefactuales (presencia de células fusiformes, hipercromatismo (Ficarra y cols, 1987; Eversole, 1997), pleomorfismo y elongación nuclear (Eversole, 1997) asociados al uso del láser carbónico, bien podrían ocasionar errores a la hora de valorar la displasia epitelial en biopsias orales (Eversole, 1997; Convissar, 1997).

Estudios previos han asociado algunas atipias citológicas al uso de altas potencias en modo continuo (Eversole, 1997; Convissar, 1997), sugiriendo que el empleo de bajas potencias – tres vatios en modo pulsado o superpulsado- podría evitarlos: “No se cazan conejos con una escopeta para elefantes” (Eversole, 1997). Sin embargo, a la hora de considerar cambios pseudodisplásicos, los resultados del estudio que se presenta no identificaron diferencias entre las potencias más frecuentemente utilizadas para el manejo quirúrgico del precáncer oral (leucoplasia, eritroplasia y queilitis actínica) y las empleadas para la toma de biopsias de lesiones sospechosas de malignidad (Fleiner y Plath, 1995; Schoelch y cols, 1999; Thomsom y Wylie, 2002). La malinterpretación de estos cambios podría conllevar serias consecuencias ya que estos criterios de displasia son especialmente relevantes para la predicción del potencial maligno, pues estas características se encuentran frecuentemente en displasias adyacentes a carcinomas orales (Warnakulasuriya, 2001; Wright y Shear, 1985), y la presencia de displasia epitelial leve o moderada en los márgenes de un carcinoma oral de células escamosas retirado quirúrgicamente implica un riesgo significativo de recidiva (Weijers, 2002). Aún a pesar del examen histológico de los márgenes, siempre existe la posibilidad de una remoción incompleta del tumor. Así pues, el desconocimiento de estos artefactos bien podría acarrear sobretamientos y enfoques terapéuticos erróneos.

Aunque la diseminación lateral de la energía en las heridas causadas por el láser de CO₂ es baja (Pogrel y cols, 1990; Pogrel y cols, 1988), depende esencialmente de la longitud de onda del láser y de la densidad de la energía aplicada (que aumenta con el tiempo y el tamaño del punto; así pues, puede ser reducida empleando el tamaño de punto más pequeño). Además, el daño térmico también varía según el tipo de tejido, con una banda necrótica más ancha en tejidos fibrosos densos y musculares, y menor en glándulas salivares y tejido conectivo laxo (Pogrel y cols, 1990). El epitelio oral muestra una amplia zona de necrosis lateral a las incisiones con láser de CO₂, en un rango que oscila entre las 70 μ y las 750μ (Fleiner y Plath, 1995; Thomson y Wylie, 2002; Pogrel y cols, 1990; Wilder-Smith y cols, 1995), que podrían justificar la necesidad de incluir una cantidad adicional de tejido sano que abarque más allá de la posible extensión del daño térmico epitelial (como mínimo 1 mm más allá del límite de la lesión).

En nuestro estudio, la determinación cuantitativa del daño térmico a nivel epitelial muestra que no existen beneficios adicionales en el empleo de bajas energías dentro del rango de potencias que se han explorado. Una importante recomendación clínica a la hora de reducir el daño epitelial es seleccionar, como densidad de energía óptima, la mayor potencia que pueda ser controlada por el cirujano con seguridad (Catone, 1997).

Entre las ventajas ya mencionadas del uso del láser para la toma de biopsias orales figura la capacidad para disminuir el número de células neoplásicas circulantes durante la toma de biopsias o la cirugía oncológica debido al sellado de los canales vasculares durante la remoción del tumor. En este sentido, los dos láseres considerados en esta investigación (CO₂ y Er,Cr:YSGG), y a las potencias estudiadas, produjeron por efecto térmico una hialinización del área próxima a la incisión y el sellado de vasos de pequeño calibre, lo que concuerda con la literatura previa (Klein, 1977).

En el presente estudio, el hiperchromatismo y la elongación nuclear han sido los artefactos citológicos más frecuentemente encontrados en los grupos experimentales con láser de CO₂, y a pesar de que se ha descrito una escasa presencia (Cercadillo-Ibarguren y cols, 2010) o incluso la inexistencia de cambios morfológicos en el epitelio adyacente a la incisión con láser de Er,Cr:YSGG (Rizoiu, 1996), en el presente estudio se han podido observar idénticas alteraciones citológicas a las descritas para los grupos experimentales intervenidos con láser de dióxido de carbono, aunque en una proporción significativamente menor.

En los casos de displasia oral leve los cambios citológicos y arquitecturales se encuentran limitados al tercio más basal del epitelio, en tanto que si la displasia es moderada, los cambios afectan al tercio basal y medio del espesor epitelial (Pindborg y cols, 1997). En nuestro estudio, las atipias citológicas (artefactos) también afectan a las capas basales y parabasales del epitelio oral. Sin embargo, en ningún caso se han podido objetivar como artefactos otros criterios de displasia oral como las crestas epiteliales en gotas, la estratificación irregular del epitelio o la presencia de mitosis anormales o en capas superficiales del epitelio y la queratinización de células epiteliales aisladas o en grupos. De modo que la presencia de alguno de los antedichos fenómenos contribuiría a excluir del diagnóstico de artefactos pseudodisplásicos asociados al empleo del láser.

Los hallazgos relativos a la amplitud del daño térmico lateral a la incisión en el caso del láser de CO₂ sugieren la necesidad de aportar una extensión de tejido sano superior a 1 mm como margen de seguridad; en el caso del láser Er,Cr:YSGG, esta extensión ha resultado ser significativamente menor.

En este estudio, mediciones de carácter cualitativo y cuantitativo sobre el daño térmico epitelial en el margen de la lesión muestran la ventaja de utilizar el láser Er,Cr:YSGG dentro del rango de los parámetros estudiados. Además, y en base a los hallazgos observados, el láser de ErCr:YSGG parece ser una herramienta quirúrgica superior al láser de CO₂ para proporcionar unos márgenes seguros y que permitan su visualización con mínimos artefactos.

La relevancia clínica de estos hallazgos viene condicionada por que la tasa de malignización de la leucoplasia oral oscila entre el 0,1 y el 17,5%, dependiendo de las características de la población objeto de estudio y de los tratamientos aplicados (Amagasa y cols, 2011), y muchos estudios concluyen que el riesgo de desarrollar una neoplasia a partir de una leucoplasia oral no puede ser significativamente reducido mediante tratamientos quirúrgicos (Holsmtrup y cols, 2006). No obstante, un reducido número de estudios rigurosos empleando un tamaño muestral adecuado y largos periodos de seguimiento demuestran que la tasa de malignización de la leucoplasia puede verse afectada por el tratamiento quirúrgico, que resulta en porcentajes de malignización significativamente menores que los que ocurren en series de pacientes no tratados o sometidos a terapias no quirúrgicas (Saito y cols, 2001) Esta discrepancia bien podría ser debida a los reducidos periodos de seguimiento empleados en muchos estudios, que a su vez no ajustan el análisis de sus datos por todos los factores conocidos

que se han relacionado con la malignización de estas lesiones (factores de confusión), y también por la ausencia de ensayos clínicos aleatorizados y adecuadamente diseñados.

El estudio piloto realizado en humanos es descriptivo, con un análisis transversal de los artefactos vinculados a la técnica quirúrgica y con un período de seguimiento cuyo único propósito fue estudiar el periodo de cicatrización de las heridas. Así pues el seguimiento realizado a estos pacientes no parece ser una limitación del estudio.

La leucoplasia verrucosa proliferativa es un tipo de leucoplasia no homogénea definida por una presentación multifocal con una gran tendencia a desarrollar carcinomas orales de células escamosas (60% - 100%). Las recidivas son frecuentes (Bagán y cols, 2004) debido a la existencia de un campo premaligno. La única recidiva precoz detectada en nuestra serie fue la de una leucoplasia verrucosa proliferativa diagnosticada en una paciente y ha sido atribuida a la amplia dispersión de lesiones focales y al efecto de “campo de cancerización” (Bagán y cols, 2004; Schwarz, 2005). Además, la recurrencia tras el tratamiento con láser se ha identificado como un factor pronóstico independiente de malignización de leucoplasias orales hasta el punto de definir por sí mismo un grupo de riesgo (Yang y cols, 2010). Estos carcinomas pueden desarrollarse en el lugar de asiento de la lesión inicial o en cualquier otra zona dentro del tracto aerodigestivo superior (van der Waal, 2009; Bagán y cols, 2004), lo que obliga a tratamientos agresivos y al seguimiento de por vida, al menos una vez cada 3 o seis meses (van der Waal, 2009; Bagán y cols, 2004).

Distintos láseres (por ejemplo, Nd:YAG, Er:YAG y CO₂) han demostrado ser capaces de tratar satisfactoriamente leucoplasias orales con similares tasas de recidiva (Vivek y cols, 2008; Montebugnoli y cols, 2012; Deppe y cols, 2012; Schwarz y cols, 2005; Meister y cols, 2010). Las recidivas de leuplasias tras el tratamiento con láser de CO₂ oscilan entre el 10% y el 57,1% (Amagasa y cols, 2011; Rizoiu y cols, 1996), existiendo estudios descriptivos y no comparativos que abogan por la vaporización con láser de CO₂ (específicamente por la vaporización con onda continua, no focalizada) como la modalidad de elección para el tratamiento de la leucoplasia de la mucosa oral (Roodenburg, 2011; Deppe y cols, 2012), aunque este procedimiento tiene ciertos inconvenientes relativos a la falta de un espécimen para analizar anatomopatológicamente y molecularmente. Además, las biopsias incisionales previas a la vaporización con láser pueden no ser representativas de la lesión (Pentenero y cols, 2003; Lee y cols, 2007), provocando un infradiagnóstico en porcentajes que van de un 29,5% (cuando se obtiene una única biopsia) al 11,9% (cuando se toman varias) en relación al diagnóstico

obtenido mediante tratamientos escisionales (Pentenero y cols, 2003). Las leucoplasias no homogéneas muestran una tendencia significativa a ser infradiagnosticadas a partir biopsias incisionales, con altos porcentajes de malignidades no esperadas, particularmente cuando asientan en los bordes laterales de la lengua (Pentenero y cols, 2003; Lee y cols, 2007; Yeong y cols, 2012).

Los protocolos de biopsia escisional permiten un estudio histopatológico de toda la lesión, y el uso de múltiples biopsias enfatizan la escisión dirigida empleando láser para el paladar blando y bordes laterales de la lengua, al igual que ocurre en la cara ventral de la lengua o el suelo de la boca, donde los cambios displásicos son frecuentes y existe alto riesgo de malignización (Thomson y amada, 2007). Estos hallazgos deben tenerse presentes a la hora de decidir entre escisión o vaporización de una lesión en particular, y la localización de la lesión y el conocimiento de su biología deben guiar el abordaje quirúrgico, en lugar de la simple preferencia del cirujano. En esta serie, donde se estudiaron lesiones extensas y no homogéneas, la vaporización hubiera ocasionado un infradiagnóstico e imposibilitado un diagnóstico adecuado de la displasia epitelial.

La evaluación de los márgenes quirúrgicos es otro punto crítico de este procedimiento, puesto que informes previos han descrito una alta proporción de displasia leve a moderada en los márgenes de lesiones displásicas extraídas con láser CO₂ (van der Waal, 2009), lo que puede condicionar la reepitelización y la recidiva de la lesión. Además, los cambios térmicos citológicos artefactuales en el epitelio inducidos por este láser pueden ser, como ya se ha mencionado, malinterpretados como displasia epitelial a la hora de evaluar muestras biópsicas, y la fotocoagulación de las proteínas por efecto del calor puede también enmascarar o alterar los epitopos de superficie, lo que limita la utilidad de algunas tinciones inmunohistoquímicas. En esta circunstancia, el desconocimiento de estos efectos ocasionados por el láser de dióxido de carbono bien podría ocasionar sobretratamientos a estos pacientes. Sin embargo, el uso del láser de Er,Cr:YSGG, siguiendo el protocolo empleado en esta serie, minimiza los artefactos térmicos y proporciona excelentes márgenes para el estudio histopatológico.

De otra parte, el láser de diodos en modo desfocalizado (10-15 w/continuo) permite la vaporización de leucoplasias orales y del Liquen plano oral (Akblunut y cols, 2013; Sivoilella y cols, 2010). Sin embargo, estudios clínicos han utilizado potencias de 2 a 7 watios para la toma de biopsias en lesiones orales premalignas o malignas (Capodiferro y cols, 2008) . Se ha comprobado específicamente que el uso de un láser de diodo de 810 nm con 5,2 w en modo

pulsado, un diámetro de la fibra 400 μm , y un tratamiento en modo contacto, permite la toma de biopsias orales sin complicaciones significativas (Suter y cols, 2010). Esto justifica los parámetros de láser que hemos utilizado en nuestro modelo experimental. Además, es bien conocido el efecto térmico del láser de diodos sobre tejidos orales, cuyo daño lateral puede extenderse hasta 754.2 μm (95%CI=551.0-957.4) (Capodiferro y cols, 2008; Angiero y cols, 2012; Goharkhay y cols, 1999; Suter y cols, 2010), así como las alteraciones citoestructurales del epitelio (Capodiferro y cols, 2008; Angiero y cols, 2012), que pueden remedar los cambios pseudodisplásicos identificados previamente por la irradiación de láser CO_2 y Er,Cr:YSGG sobre mucosa oral (Eversole, 1997; Seoane y cols, 2010). Este error diagnóstico podría conducir a una terapéutica equivocada, dado que estos criterios de displasia son particularmente relevantes para predecir el potencial de malignización de la lesión (Warnakulasuriya, 2001). Para evitar esta posibilidad, se ha propuesto incluir tejido sano adicional de al menos 0.5 mm en lesiones neoplásicas o displásicas (Angiero y cols, 2012).

A pesar de que la reepitelización del lecho quirúrgico podría condicionar la recurrencia lesional (Seoane y cols, 2013) y que constituye un punto crítico, en la interpretación de especímenes obtenidos tras biopsias incisionales o tras tratamiento de COCE como parte del seguimiento (Zarovnaya y cols, 2005) no existen estudios focalizados en la reparación epitelial tras la irradiación con láser de diodos. La aparición en nuestro estudio, bajo condiciones experimentales, de hiperplasias seudoepiteliomatosas (HPE), limita severamente la perspectiva de considerar el láser de diodos como instrumento idóneo en la toma de biopsias orales (Angiero y cols, 2012), específicamente en patologías neoplásicas o preneoplásicas de naturaleza epitelial.

HPE es una proliferación epitelial reactiva, caracterizada microscópicamente por una prominente hiperplasia epitelial irregular, con lengüetas epiteliales adoptando un patrón de pseudoinvasión en el conectivo, por lo que también se la conoce como “*hiperplasia seudocarcinomatosa*” (El-Khoury y cols, 2012). En cavidad oral se la ha descrito asociada a tumores de células granulares, sialometaplasia necrotizante, paracoccidiodomycosis, osteonecrosis asociada a bisfosfonatos, oral submucous fibrosis y adenoma pleomorfo de glándulas salivales menores en mucosa oral, y su similitud con el COCE podría conducir a un diagnóstico erróneo (Zarovnaya y cols, 2005; El-Khoury y cols, 2012). Esta dificultad diagnóstica se acrecienta en las biopsias orales pequeñas y superficiales, con gran componente

inflamatorio y muestras mal orientadas (Zarovnaya y cols, 2005). Además, no se ha conseguido consenso sobre un panel inmunohistoquímico capaz de diferenciar ambas entidades (Zarovnaya y cols, 2005), por lo que el conocimiento de la aparición de HPE tras la irradiación con láser de diodos es particularmente relevante.

Es probable que la escasez de estudios longitudinales y el que se haya empleado incisiones superficiales, como modelo quirúrgico, (D'Arcangelo y cols, 2007) no haya permitido la descripción previa de este hallazgo. La HPE también se ha descrito en quemaduras y heridas crónicas contaminadas, y ha sido reportada entre los 10 y 14 días (El-Khoury y cols, 2012). En nuestro estudio, el modelo experimental ha proporcionado unas condiciones similares a la realidad clínica, con suficiente seguimiento y con una amplia superficie quirúrgica expuesta a la contaminación bacteriana.



6.CONCLUSIONES





6. Conclusiones

1. Con las limitaciones inherentes a este tipo de experimentos, se concluye que el láser de CO₂ (potencias de 3 a 10 w) genera un daño epitelial, capaz de simular cambios displásicos ligeros con atipias citológicas que afectan principalmente a las capas basales y suprabasales. Estos cambios deberían tenerse en cuenta para evitar abordajes terapéuticos erróneos. Sin embargo, la radiación con láser Er,Cr:YSGG genera márgenes epiteliales precisos, con mínimos artefactos y un escaso daño epitelial; por lo que es potencialmente útil para la toma de biopsias orales en lesiones neoplásicas y desórdenes potencialmente malignos.
2. La irradiación con láser de Er,Cr:YSGG induce un número mínimo de artefactos térmicos en los márgenes quirúrgicos de las leucoplasias orales en humanos y evita interferencias diagnósticas con displasias epiteliales cuando se estudian los bordes de lesiones potencialmente malignas. Estas características hacen que sea un instrumento idóneo en el manejo de esta patología. Sin embargo son necesarios más estudios (ensayos clínicos aleatorizados y controlados) para confirmar estos hallazgos.
3. A pesar de la tendencia quirúrgica a considerar la indicación del láser de diodos en el tratamiento y la toma de biopsias en desórdenes orales potencialmente malignos (DOPM), la reepitelización irregular e hiperplásica de la herida desaconseja esta opción quirúrgica. Además, la hiperplasia pseudoepiteliomatosa como evento potencialmente posible tras la cirugía de mucosa oral con láser de diodos, conduciría a errores diagnósticos y terapéuticos en el manejo de patología neoplásica y preneoplásica.



7.BIBLIOGRAFIA





7. Bibliografía

Akbulut N, Kursun ES, Tumer MK, Kamburoglu K, Gulsen U. Is the 810-nm diode laser the best choice in oral soft tissue therapy? *Eur J Dent.* 2013;7:207-211. doi: 10.4103/1305-7456.110174.

Amagasa T, Yamashiro M, Uzawa N. (2011): Oral premalignant lesions: from a clinical perspective. *Int J Clin Oncol* 16(1):5-14.

Angiero F, Parma L, Crippa R, Benedicenti S. Diode laser (808 nm) applied to oral soft tissue lesions: a retrospective study to assess histopathological diagnosis and evaluate physical damage. *Lasers Med Sci.* 2012;27:383-388.

Bagán JV, Murillo J, Poveda R, Gavaldá C, Jiménez Y, Scully C. (2004): Proliferative verrucous leukoplakia: unusual locations of oral squamous cell carcinomas, and field cancerization as shown by the appearance of multiple OSCCs. *Oral Oncol.* 40(4):440-3.

Bernstein ML, Biopsy technique: the pathological considerations. (1978): *J Am Dent Assoc.* 96: 438–443.

Camacho-Alonso F, López-Jornet P. Clinical-pathological study of the healing of wounds provoked on the dorso-lingual mucosa in 186 albino rats. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;136:119-124.

Capodiferro S1, Maiorano E, Loiudice AM, Scarpelli F, Favia G. Oral laser surgical pathology: a preliminary study on the clinical advantages of diode laser and on the histopathological features of specimens evaluated by conventional and confocal laser scanning microscopy. *Minerva Stomatol.* 2008;57:1-6, 6-7.

Catone GA. Qualitative laser physics in maxillofacial surgery. In: Catone A and Alling, Ch.C, eds.: Laser applications in oral and maxillofacial surgery. Philadelphia: WB Saunders Company, 1997: 7.

Cercadillo-Ibarguren I, España-Tost A, Arnabat-Domínguez J, Valmaseda-Castellón E, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. (2010): Histologic evaluation of thermal damage produced on soft tissues by CO₂, Er,Cr:YSGG and diode lasers. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*.15(6):e912-8.

Convissar, RA. (1997): Laser biopsy artefact. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 84: 458.

D'Arcangelo C, Di Nardo Di Maio F, Prosperi GD, Conte E, Baldi M, Caputi S. A preliminary study of healing of diode laser versus scalpel incisions in rat oral tissue: a comparison of clinical, histological, and immunohistochemical results. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;103:764-773.

Deppe H, Mücke T, Hohlweg-Majert B, Hauck W, Wagenpfeil S, Hölzle F. (2012): Different CO₂ laser vaporization protocols for the therapy of oral precancerous lesions and precancerous conditions: a 10-year follow-up. *Lasers Med Sci*. 27(1):59-63.

Eriksson O, Hagmar B, Ryd W. (1984): Effects of fine needle aspiration and other biopsy procedure on tumour dissemination in mice. *Cancer*. 54: 73-78.

Eversole LR.(1997): Laser artefacts and diagnostic biopsy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 83: 639-640.

Ficarra G, McClintock B, Hansen LS. (1987) Artefacts created during oral biopsy procedures. *J Cranio Max Fac Surg*.15: 34-37.

Fleiner B, Plath T. (1995): Histological evaluation of leukoplakia following CO₂ laser excision. A clinical and experimental study. *Adv Otorhinolaryngol*.49: 125-129.

Fleiner B, Plath T. Histological evaluation of leukoplakia following CO₂ laser excision. A clinical and experimental study. *Adv Otorhinolaryngol* 1995; 49:125-9.

Gonzalez-Mosquera A, Seoane J, García-Caballero L, Lopez-Jornet P, García-Caballero T, Varela-Centelles P (2012) Er,Cr: YSGG lasers induce fewer dysplastic-like epithelial artefacts than CO₂ lasers: an in vivo experimental study on oral mucosa. *Br J Oral Maxillofac Surg* 50:508-512.

Goharkhay K1, Moritz A, Wilder-Smith P, Schoop U, Kluger W, Jah S, et al. Effects on oral soft tissue produced by a diode laser in vitro. *Lasers Surg Med*. 1999;25:401-406.

Ho MW, Risk JM, Woolgar JA, Field EA, Field JK, Steele JC, Rajlawat BP, Triantafyllou A, Rogers SN, Lowe D, Shaw RJ. (2012): The clinical determinants of malignant transformation in oral epithelial dysplasia. *Oral Oncol*. 48(10): 969-76.

Holmstrup P, Vedtofte P, Reibel J, Stoltze K. (2006): Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions. *Oral Oncol*. 42(5):461-474.

Horch HH, Gerlach KL, Schaefer, HE.(1986): CO₂ laser surgery of oral premalignant lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg*.15: 19-24.

Jerjes W, Upile T, Hamdoon Z, Mosse CA, Akram S, Hopper C. Prospective evaluation of outcome after transoral CO₂ laser resection of T1/T2 oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011 Jan 11.

Jeong WJ, Paik JH, Cho SW, Sung MW, Kim KH, Ahn SH. (2012): Excisional biopsy for management of lateral tongue leukoplakia. *J Oral Pathol Med.*41(5):384-388.

Kademani D, Dierks E. (2007): Surgical management of oral and mucosal dysplasias: The case for surgical excision. *J Oral Maxillofac Surg.* 65(2):287-92.

Klein DR.(1977): The use of the carbon dioxide laser in plastic surgery. *South Med J.* 70: 429-31.

Kusukawa J, Suefuji Y, Ryu F, Noguchi R, Iwamoto O, Kameyama T. (2000): Dissemination of cancer cells into circulation occurs by incisional biopsy of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 29: 303-307.

Lee JJ, Hung HC, Cheng SJ. (2007): Factors associated with underdiagnosis from incisional biopsy of oral leukoplakic lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 104(2):217-225.

Liboon J, Funkhouser W, Terris DJ. (1997): A comparison of mucosal incision made by scalpel, CO₂ laser, electrocautery, and constant-voltage electrocautery. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 116: 379-385.

Lodi G, Porter S.(2008): Management of potentially malignant disorders: evidence and critique. *J Oral Pathol Med.* 37(2):63-9.

Margarone JE, Natiella JR, Vaughan CD. (1985): Artefacts in oral biopsy specimens. *J Oral Maxillofac Surg.* 4: 163–172.

Meister J, franzen R, Eyrich G, Bongartz J, Gutknecht N, Hering P. (2010): First clinical application of a liquid-core Light guide connected to an Er:YAG laser for oral treatment of leukoplakia. *Laser Med Sci.* 25:669-673.

Meltzer C. (2007): Surgical management of oral and mucosal dysplasias: The case for laser

excision. *J Oral Maxillofac Surg.* 65(2):293-5.

Merigo E, Clini F, Fornaini C, Oppici A, Paties C, Zangrandi A, et al. Laser-assisted surgery with different wavelengths: a preliminary ex vivo study on thermal increase and histological evaluation. *Lasers Med Sci.* 2013;28:497-504. doi: 10.1007/s10103-012-1081-8. Epub 2012 Apr 14

Montebugnoli L, Frini F, Gissi DB, Gabusi A, Cervellati F, Foschini MP, Marchetti C. (2012): Histological and immunohistochemical evaluation of new epithelium after removal of oral leukoplakia with Nd:YAG laser treatment. *Lasers Med Sci.* 27(1):205-210.

Moule L, Parsons PA, Irvine GH. (1995) : Avoiding artefacts in oral biopsies: the punch biopsy versus the incisional biopsy. *Br J Maxillofac Surg.* 33: 244-247.

Ohtake K, Shingaki S, Nakajima T. (1990): Effects of incision and irradiation on regional lymph node metastasis in carcinoma of the hamster tongue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 70: 62-69.

Panje WR, Scher N, Karnell M. (1989): Transoral carbon dioxide laser ablation for cancer, tumours, and other diseases. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 115: 681-688.

Pecaro BC, Garchume WJ. (1983): The CO₂ laser in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 41: 725-728.

Pentenero M, Carrozzo M, Pagano M, Galliano D, Broccoletti R, Scully C, Gandolfo S. (2003): Oral mucosal dysplastic lesions and early squamous cell carcinomas: underdiagnosis from incisional biopsy. *Oral Dis.* 9(2):68-72.

Pick RM, Pecaro BC. (1987): Use of the CO₂ laser in soft-tissue dental surgery. *Laser Surg Med.* 7: 207-213.

Pindborg JJ, Reichart PA, Smith, C.J. (1997): Histological typing of cancer and precancer of the oral mucosa. WHO. International histological classification of tumours. Berlin: Springer-Verlag, 25-26.

Pogrel MA, Yen CK, Taylorn RC.(1988): A thermographic evaluation of the temperatures achieved by a carbon dioxide laser on soft tissues and teeth. *Thermology*. 3: 50-52.

Poh CF, Ng S, Berean KW, Williams PM, Rosin MP, Zhang L. Biopsy and histopathologic diagnosis of oral premalignant and malignant lesions. *J Can Dent Asso* 2008;74:283-8.

Pogrel MA, McCracken KJ, Daniels TE. (1990) : Histologic evaluation of width of soft tissue necrosis adjacent to carbon dioxide incisions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 70: 564-568.

Rizoiu IM, Eversole LR, Kimmel AI. (1986): Effects of an erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium, garnet laser on mucocutaneous soft tissues. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 82: 386-95.

Romanos G, Nentwig GH. Diode laser (980 nm) in oral and maxillofacial surgical procedures: clinical observations based on clinical applications. *J Clin Laser Med Surg*. 1999;17:193-197.

Roodenburg JL. (2011): Dissertations 25 years after date 29. CO2 laser surgery of leukoplakia of the oral mucosa. *Ned Tijdschr Tandheelkd*. 118(10):496-500.

Safour IM, Wood NK, Tsiklakis K, Doemling DB, Joseph G. Incisional biopsy and seeding in hamster cheek pouch carcinoma. *J Dent Res* 1984;63:1116-20.

Saito T, Sugiura C, Hirai A, Notani K, Totsuka Y, Shindoh M, Fukuda H. (2001): Development of squamous cell carcinoma from pre-existent oral leukoplakia: with respect to treatment modality. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 30(1):49-53.

Santos NR, Aciole GT, Marchionni AM, Soares LG, dos Santos JN, Pinheiro AL. A feasible procedure in dental practice: the treatment of oral dysplastic hyperkeratotic lesions of the oral cavity with the CO₂ laser. *Photomed Laser Surg* 2010;28: S121-S1266. Epub 2010

Scheifele C, Reichart PA. (2003): Is there a natural limit of the transformation rate of oral leukoplakia? *Oral Oncol.* 39(5):470-5 .

Schoelch ML, Sekandari N, Regezi JA, Silverman S. (1999): Laser management of oral leukoplakias: A follow-up study of 70 patients. *The Laryngoscope.* 109: 949-953.

Schwarz F, Maraki D, Yalcinkaya S, Bieling K, Böcking A, Becker J. (2005): Cytologic and DNA-cytometric follow-up of oral leukoplakia after CO₂- and Er:YAG-laser assisted ablation: a pilot study. *Lasers Surg Med* 37(1):29-36

Seoane J, Caballero TG, Urizar JMA, Almagro M, Mosquera AG, Varela-Centelles P. Pseudodysplastic epithelial artefacts associated with oral mucosa CO₂ laser excision: an assessment of margin status. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010;39: 783-7.

Seoane J, González-Mosquera A, López-Niño J, García-Caballero L, Aliste C, Seoane-Romero JM, et al. Er,Cr:YSGG laser therapy for oral leukoplakia minimizes thermal artifacts on surgical margins: a pilot study. *Lasers Med Sci.* 2013;28:1591-1597. doi: 10.1007/s10103-013-1266-9. Epub 2013 Jan 17

Seoane J, Varela-Centelles P, Ramirez JR, Romero MA, De La Cruz A. (2002): Artefacts produced by suture traction during incisional biopsy of oral lesions. *Clin Otolaryngol.* 27: 549-553.

Sinha UK, Gallagher LA. Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO2 laser, and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in guinea pig oral mucosa. *Laryngoscope*. 2003;113:228-236.

Sivolella S, Berengo M, Cernuschi S, Valente M. Diode laser treatment is effective for plaque-like lichen planus of the tongue: a case report. *Lasers Med Sci*. 2012;27:521-524.

Spinola Ribeiro A, Ribeiro Salles P, Aparecida da Silva, Alves Mesquita R. (2010): A review of the nonsurgical treatment of oral leukoplakia. *International Journal of Dentistry*.doi:10.1155/2010/186018.

Suter VG, Altermatt HJ, Sendi P, Mettraux G, Bornstein MM. CO2 and diode laser for excisional biopsies of oral mucosal lesions. A pilot study evaluating clinical and histopathological parameters. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2010;120:664-671.

Thomson PJ, Hamadah O. (2007): Cancerisation within the oral cavity: the use of 'field mapping biopsies' in clinical management. *Oral Oncol*. 43 (1):20-26

Thomson PJ, Wylie J. (2002): Interventional laser surgery: an effective surgical and diagnostic tool in oral precancer management. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 31: 145-153.

van der Waal I. (2009): Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol*. 45(4-5):317-23.

van der Waal I. (2010): Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; present concepts of management. *Oral Oncol*. 46(6):423-5.

Vivek V, Jayasree RS, Balan A, Sreelatha KT, Gupta AK. (2008): Three-year follow-up of oral leukoplakia after neodymium:yttrium aluminum garnet (Nd:YAG) laser surgery. *Lasers Med Sci*. 23(4):375-379.

Warnakulasuriya, S. (2001): Histological grading of oral epithelial dysplasia: revisited. *J Pathol* 2001. 194: 294-297.

Weijers M, Snow GB, Bezemer PD, van der Wal JE, van der Waal I. (2002): The clinical relevance of epithelial dysplasia in the surgical margins of tongue and floor of mouth squamous cell carcinoma: an analysis of 37 patients. *J Oral Pathol Med.* 31: 11-15.

Weiss H. Metastases caused by fine needle puncture? *Ultraschall Med* 1989;10: 147-51.

Wilder-Smith P, Arrastia AA, Liaw L, Berns M. (1995): Incision properties and thermal effects of three CO₂ lasers in soft tissue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 79: 685-91.

Wright A, Shear M. (1985): Epithelial dysplasia immediately adjacent to oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol.* 14: 559-564.

Woolgar JA, Triantafyllou A. A histopathological appraisal of surgical margins in oral and oropharyngeal cancer resection specimens. *Oral Oncol* 2005; 41:1034-43.

Yang SW, Wu CJ, Lee YS, Chen TA, Tsai CN. (2010) Postoperative recurrence as an associated factor of malignant transformation of oral dysplastic leukoplakia. *ORLJ Otorhinolaryngol Relat Spec* 72(5):280-290.

Zarovnaya E1, Black C. Distinguishing pseudoepitheliomatous hyperplasia from squamous cell carcinoma in mucosal biopsy specimens from the head and neck. *Arch Pathol Lab Med.* 2005;129:1032-1036.



8.PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS DOCTORAL





Publicaciones derivadas de la Tesis Doctoral

- I. González-Mosquera A, Seoane J, García-Caballero L, López-Jornet P, García-Caballero T, Varela-Centelles P. Er,Cr:YSGG lasers induce fewer dysplastic-like epithelial artefacts than CO2 lasers: an in vivo experimental study on oral mucosa. Br J Oral Maxillofac Surg. 2012 Sep;50(6):508-12 (JCR)

- II. Seoane J, González-Mosquera A, López-Niño J, García-Caballero L, Aliste C, Seoane-Romero JM, Varela-Centelles P. Er,Cr:YSGG laser therapy for oral leukoplakia minimizes thermal artifacts on surgical margins: a pilot study. Lasers Med Sci. 2013 Nov;28(6):1591-7. (JCR)

- III. Seoane J, Gonzalez-Mosquera A, García-Martín, Gacía-Caballero L, Seoane-Romero JM, Varela-Centelles P. Pseudoepitheliomatous hyperplasia after diode laser oral surgery. An experimental study. Med Oral Pathol Oral Cir Bucal,2015 (aceptada para publicación).

Links Articulos derivados de la tesis, por orden de aparición.

[http://www.bjoms.com/article/S0266-4356\(11\)00586-9/abstract](http://www.bjoms.com/article/S0266-4356(11)00586-9/abstract)

<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10103-013-1266-9>

http://www.medicinaoral.com/pubmed/medoralv20_i5_p554.pdf

