

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

**MUCOCLASIA Y ESCLEROSIS
DE LA VESÍCULA BILIAR.
ESTUDIO EXPERIMENTAL DE FACTIBILIDAD.**

Trabajo de Tesis para optar al título de

Doctor en Medicina y Cirugía

Rafael José Jover Clos

Córdoba

República Argentina

2012

Comisión de Seguimiento de Tesis:

Director:

Profesor Doctor Luis Gramática

Integrantes:

Profesora Doctora María Elisa Dionisio de Cabalier

Profesor Doctor Héctor Faustino Bustos

Artículo 30° del reglamento de la Carrera de Doctorado en Medicina y Cirugía:

“LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS NO SE HACE SOLIDARIA CON LAS
OPINIONES DE ESTA TESIS.”

DEDICATORIAS

A Tery, mi madre

A Mery, mi tía

A Catalina y José, mis abuelos maternos

A Irene, mi hija

A mis maestros

AGRADECIMIENTOS

En la primera etapa de esta Tesis participaron como miembros de la comisión los Profesores Gladys Martellotto y Carlos Oulton, y como director el Prof. Narciso Hernández. A ellos, y especialmente al Prof. Hernández, les debo haber iniciado el presente trabajo.

Mi agradecimiento a la Sra. Méd. Mónica Matsuzaki, que realizó los estudios anatomopatológicos, y al Sr. Méd. Germán Javurek, que aportó la aparatología y su experiencia en el uso del láser.

Varios residentes del Servicio de Cirugía N° 1 del Hospital Nacional de Clínicas participaron en el cuidado de los animales y en la realización de los procedimientos. Fueron imprescindibles para la conclusión de este trabajo. Entre ellos no puedo dejar de mencionar al Sr. Méd. Juan Pablo Álamo.

El Servicio de Cirugía N° 1 del Hospital Nacional de Clínicas me formó como cirujano, y sus profesores fueron mis maestros: Jorge Kaparián, José Norberto Allende, Eduardo Figueroa, Narciso Hernández, Rafael Amuchástegui, Carlos Hernández, Mirta Roatta, Pedro Pizarro. A ellos y al resto del Servicio y sus Cátedras, mi sincero agradecimiento.

La segunda etapa de la Tesis, retomada luego de algunos años, fue dirigida por el Prof. Luis Gramática, secundado por los profesores María Elisa Dionisio de Cabalier y Héctor Faustino Bustos. Tuvieron la paciencia de alentar, controlar y corregir el trabajo para que llegara a buen puerto.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
CAPÍTULO 3. RESULTADOS.....	21
CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN.....	35
BIBLIOGRAFÍA.....	48
ANEXOS.....	55

RESUMEN

Introducción: Antes de la aparición y auge de la colecistectomía videolaparoscópica, existieron intentos para eliminar la vesícula biliar de manera no quirúrgica, aplicando químicos, calor o láser con la finalidad de necrosar su mucosa y reducir la vesícula a una cicatriz inocua. El objetivo de este trabajo es determinar si la aplicación de sustancias mucoclásicas y esclerosantes no estudiadas previamente (hipoclorito de sodio, GRF (gelatina-resorcinol-formol)) o el láser de diodo puede lograr una mucoclasia completa y esclerosis de la vesícula biliar del modelo animal usado.

Material y métodos: Se dividieron 50 conejos en 5 grupos de 10 animales. Se accedió quirúrgicamente a la vesícula biliar. En el grupo A se aplicó hipoclorito de sodio y para la oclusión del conducto cístico y de la luz vesicular, un adhesivo: cola de fibrina. En el grupo B, se usó formol al 5% y posteriormente, como adhesivo, una mezcla de gelatina con fenol. Estos 3 son los componentes de un adhesivo llamado GRF, usado principalmente en cirugía vascular. En el grupo C se aplicó láser de diodo de 980 nm endoluminalmente a través de una fibra óptica. Es el tipo de láser utilizado en flebología. En el grupo D se usó etanol como esclerosante más cola de fibrina, sirviendo de control debido a su uso probado en varios trabajos de escleroterapia vesicular. El grupo E fue en control donde solo se inyectó solución salina isotónica. A los 65 días se sacrificaron los animales y se observó el resultado del procedimiento macroscópica e histológicamente, evaluando la presencia de luz vesicular remanente, de áreas con mucosa viable y la fibrosis producida. Análisis estadístico: Test de Fisher.

Resultados: El procedimiento fue exitoso (eliminación completa de la mucosa y luz vesicular, con un área de fibrosis donde antes se hallaba la vesícula) en 8 de 10 de las vesículas del grupo A, B y C, mientras que en el grupo testigo D hubo una sola ablación completa, y en el grupo E ninguna. No hubo complicaciones intra ni postoperatorias. El análisis estadístico (test de Fisher) demostró una diferencia significativa favorable al grupo tratado con hipoclorito (A), GRF (B) y láser (C) en comparación con el de etanol más cola de fibrina (D) ($p < 0,0055$) y el de solución fisiológica (E) ($p < 0,0007$).

Conclusiones: En este modelo experimental fue posible la mucoclasia y esclerosis de la vesícula biliar usando hipoclorito como mucoclásico y cola de fibrina para obstruir la luz residual, GRF y láser de diodo.

SUMMARY

Introduction: Cholecystectomy is the current treatment for the biliary lithiasis. Nevertheless, attempts have been made to eliminate the gallbladder's epithelium and to generate sclerosis of the organ using chemical substances, heat and laser. The purpose of this investigation is to determine if the application of sodium hypochlorite, GRF (gelatin-resorcinol-formaline) or diode laser can produce mucoclasia and fibrosis of the gallbladder, leading to the functional exclusion of the organ.

Material and methods: Fifty rabbits were divided into 5 groups of 10 animals. The gallbladder was accessed surgically. In group A, sodium hypochlorite was injected into the gallbladder cavity as a sclerosing agent, after which fibrin glue was applied to occlude the cystic duct and collapse the residual organ lumen, thus avoiding bile reflux. In group B: 5% formaldehyde was used, and the adhesive was a mix of gelatin and fenol (GRF, a product used principally in vascular surgery). In group C, a 980 nm In Ga As P diode laser (currently used in phlebology), was applied intraluminally through an 600 micrometres optic fiber in order to shrink the gallbladder. In group D, the sclerosing agent was ethanol and fibrin glue was used to seal the lumen. In group E, the control group, only saline solution was injected into the gallbladder cavity. After 65 days the animals were sacrificed and the result of the procedure was observed macroscopically and histologically. The presence of remnant gallbladder lumen, fibrosis and areas of viable mucosa were assessed. Fisher's test was used for statistical analysis.

Results: The procedure was successful (complete elimination of the epithelium and gallbladder lumen, leaving a small subhepatic scar) in 8 of the 10 rabbits in each of groups A, B and C. In group D only one complete scarring was achieved, and there was no scarring in group E. No intra nor postoperative complications occurred. There was a statistically significant difference between the groups treated with sodium hypochlorite plus fibrin glue (A), GRF (B) and laser (C) compared to the ethanol plus fibrin glue group (D) ($p < 0,0055$) and the saline solution group (E) ($p < 0,0007$).

Conclusion: In this experimental rabbit model the use of sodium hypochlorite plus fibrin glue, GRF or diode laser can produce mucoclasia and scarring of the gallbladder, resulting in the functional exclusion of the organ.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

I. Breve historia del tratamiento de la litiasis vesicular

La litiasis vesicular (LV) es una enfermedad presente en el ser humano desde la antigüedad. Se han hallado cálculos en vesículas de momias egipcias ⁽¹⁾, así como en otras europeas ⁽²⁾ y americanas ⁽³⁾ más modernas. Alexander Trallianus (525-605 DC), médico griego, fue el primero en publicar sus observaciones sobre concreciones en el sistema biliar⁽⁴⁾. Beniveni (1440-1502) y Vesalius (1514-1564) en sus disecciones identificaron cálculos y algunas de sus consecuencias en el sistema biliar. En 1667 Teckoy experimentó con perros llegando a la conclusión de que la vesícula biliar (VB) no era indispensable para la vida ⁽⁵⁾.

Jean Louis Petit en 1743 describió su experiencia en el drenaje de empiemas vesiculares a través de un trócar, extrayendo posteriormente los cálculos ⁽⁶⁾. John Bobbs, cirujano norteamericano, realizó en 1867 la primera colecistostomía quirúrgica exitosa con extracción de cálculos en una mujer, anestesiada con cloroformo ^(1,5).

El cirujano alemán Carl Johann August Langenbuch, de Berlín, realizó la primera colecistectomía en el año 1882, en un hombre de 43 años con litiasis biliar sintomática, a través de una gran incisión abdominal en T. El paciente fue dado de alta a las seis semanas de la operación ⁽⁷⁾.

Reich en 1918 inyectó petrolato y pasta de bismuto en una fistula biliar generando accidentalmente la primera imagen radiológica de la vía biliar ⁽⁸⁾.

Pablo Luis Mirizzi creó en el año 1932 la colangiografía intraoperatoria ⁽⁹⁾.

En 1968 el cirujano argentino Rodolfo Mazzariello preconizó la extracción de los cálculos residuales a través de la fistula creada por el tubo de Kehr ⁽¹⁰⁾.

La aparición de métodos diagnósticos como la ecografía facilitó el desarrollo, a principios de la década del ochenta, del acceso percutáneo por punción guiada de la vesícula (colecistostomía percutánea) ⁽¹¹⁾. A fines de los setentas el desarrollo de instrumental endoscópico flexible hizo posible el acceso per-oral de la vía biliar principal y secundaria ⁽¹²⁾.

Salomonowitz en 1984 y Getrajdman en 1985 publicaron los primeros trabajos experimentales en busca de lograr la ablación química de la VB ^(13,14). En 1989 Cuschieri intentó la esclerosis de la vesicular por vía laparoscópica y Becker por vía percutánea ^(15,16).

En 1985 el cirujano alemán Erich Mühe, inspirado por el ginecólogo Kurt Semm (que practicaban la laparoscopia diagnóstica) realizó las primeras colecistectomías laparoscópicas ⁽¹⁷⁾, sin recibir apoyo de la comunidad médica de su país.

En marzo de 1987 el cirujano francés de Lyon Philippe Mouret, iniciado en la laparoscopia diagnóstica por Raoul Palmer, con una experiencia personal de más de 6000 celioscopias, llevó a cabo su primer “colecistectomía celioscópica”⁽¹⁸⁾ en una paciente en que se había planeado una cirugía de quiste de ovario por laparoscopia y posterior colecistectomía convencional en el mismo acto quirúrgico. Pero Mouret realizó por el mismo abordaje laparoscópico la exéresis vesicular, que por la falta de instrumentos adecuados resultó bastante dificultosa. Pero al día siguiente halló a la paciente ya vestida, lista para retirarse, molesta porque no encontró la herida ni los dolores esperados. Hay que reconocer que el cirujano argentino Aldo Kleiman publicó (también en 1987) su experiencia en cirugía laparoscópica de vesícula biliar en ovejas⁽¹⁹⁾, trabajo que pasó desapercibido. Comenzó un cambio de paradigma en la cirugía biliar y abdominal, actualmente la colecistectomía laparoscópica es el “*gold standard*” en el tratamiento de la litiasis biliar⁽²⁰⁾.

La colecistectomía videolaparoscópica reemplazó rápida y contundentemente a la cirugía convencional y relegó casi por completo otras propuestas terapéuticas, tales como la disolución oral de los cálculos⁽²¹⁾, la litotripsia extracorpórea⁽²²⁾ y los tratamientos percutáneos que comenzaron a esbozarse en los ochenta.

El éxito del abordaje laparoscópico curiosamente no se debió a una disminución en la morbimortalidad, sino al postoperatorio más corto, con poco dolor, y a los resultados estéticos (cicatrices pequeñas), hechos a los que los pacientes otorgan un valor excluyente. Cuanto menor es la lesión producida en el manto cutáneomuscular del cuerpo el procedimiento tendrá más aceptación.

Se ha buscado disminuir el tamaño de las incisiones usando trócares pequeños (la denominada cirugía “acuscópica”)⁽²³⁾, reducir al mínimo el número de incisiones por medio de la colecistectomía con un solo punto de abordaje umbilical⁽²⁴⁾, aumentar la precisión de las maniobras quirúrgicas a través de la cirugía robótica⁽²⁵⁾. Al comenzar a redactar el presente texto, la colecistectomía realizada a través de orificios naturales (accediendo a la vesícula a través del estómago o de la cúpula vaginal con endoscopios modificados), procedimiento que se conoce como N.O.T.E.S. (Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery), es la nueva promesa^(26,27).

Aquel método que permita eliminar por completo las incisiones abdominales, el dolor y la necesidad de evitar esfuerzos en el postoperatorio, pero que fundamentalmente también disminuya los riesgos de lesionar estructuras anatómicas como la vía biliar principal, arterias, etc., y que pueda ser realizado con mínima injerencia anestésica se acercará al “ideal”.

II. Epidemiología e importancia de la litiasis vesicular

La prevalencia de la LV varía ampliamente de acuerdo a aspectos étnicos, socioeconómicos, de género y geográficos. En América, poblaciones como la Mapuche ⁽²⁸⁾, Pima y otras revelan una incidencia de LV mayor a la media.

En Argentina, un estudio aleatorizado de 1.173 participantes realizado en la ciudad de Rosario utilizando ecografía reveló una prevalencia del 23,8% en mujeres y de 15,5% en hombres (promedio: 20,5%) ⁽²⁹⁾. En la ciudad de Córdoba, el estudio de 1.500 autopsias mostró una prevalencia del 28,8% (mujeres: 40%, hombres: 17,5%) ⁽³⁰⁾. Se estima que en Estados Unidos hay 20 millones de personas con LV ⁽³¹⁾.

En Europa, un trabajo italiano multicéntrico con 30.000 pacientes estudiados con ecografía demostró una prevalencia global de 5,5%. La incidencia acumulativa por año fue de 0,66% en hombres y 0,81% en mujeres ⁽³²⁾.

Todos los estudios muestran el aumento de la incidencia con la edad. La obesidad ⁽³³⁾, y el consumo de alcohol ⁽³⁴⁾ favorecen la aparición de LV.

Durante el año 2000, en Estados Unidos se registraron 750.000 consultas externas por LV, y fue la causa más común de internación por trastornos digestivos (250.000 internaciones, con un costo de 6.500 millones de dólares), y la colecistectomía fue la operación abdominal electiva más común (700.000 por año), a razón de 2,2 colecistectomías cada 1000 habitantes por año ⁽³¹⁾. El costo del tratamiento de la LV sintomática con internación por paciente, en el mismo año en Estados Unidos, fue de U\$S 11.584, y en Alemania aproximadamente de U\$S 2.800 ⁽³⁵⁾. Estos datos ayudan a comprender el profundo impacto socioeconómico que tiene esta enfermedad.

III. Antecedentes de la escleroterapia de la vesícula biliar

Los cálculos vesiculares de colesterol se pueden disolver usando drogas por vía oral como el ácido ursodesoxicólico ⁽²¹⁾ o recurriendo a solventes de contacto muy eficientes, como el metil tert-butil éter (MTBE) ⁽³⁶⁾ o el etil propionato ⁽³⁷⁾. También pueden fragmentarse o destruirse mecánicamente con ondas de choque externas (litotripsia extracorpórea) ⁽²²⁾, con litotriptores mecánicos ⁽³⁸⁾, con ondas electrohidráulicas transmitidas por contacto directo con los cálculos ⁽³⁹⁾ o con láser ⁽⁴⁰⁾.

Pero la simple eliminación de la litiasis no soluciona la enfermedad, ya que es necesario eliminar, al menos funcionalmente, al órgano que contribuye a desarrollar y alberga a la litiasis, que es la VB. La reaparición de los cálculos luego de una colecistolitotomía es muy frecuente ⁽⁴¹⁾.

Dentro de las posibilidades de la historia natural de la LV abandonada a su suerte se encuentra la repetición de cuadros inflamatorios, que pueden originar una fístula a la pared abdominal, al duodeno o al colon con expulsión de los cálculos a través de la misma. A su vez hay reemplazo por tejido fibroso de la pared y disminución del tamaño vesicular hasta su casi desaparición. Los cálculos pueden incluso quedar rodeados por una pared vesicular atrofiada, fibrótica, no funcionante, denominada vesícula escleroatrófica. Es la única forma de neutralizar el problema de que dispone la naturaleza. El ser humano interviene en la enfermedad ligando y seccionando los vasos sanguíneos de la VB, el conducto cístico (CC) y los tejidos que la unen al hígado para poder extraerla, con la consiguiente posibilidad de complicaciones ⁽⁴²⁾. Para llevar a cabo la colecistectomía, en cualquiera de sus variantes (convencional, laparoscópica, por orificios naturales, etc.), el paciente es sometido habitualmente a una anestesia general y la cavidad abdominal debe ser abierta de alguna forma.

Cuando se menciona la *mucoclasia* y *escleroterapia* se introduce el concepto de que solo es necesario destruir la mucosa vesicular, limitando de este modo los riesgos de lesionar estructuras vitales vecinas, eliminando la necesidad de anestesia general, disminuyendo el daño de la pared abdominal que implica cicatrices y dolor, actuando *endoluminalmente*. Se pretende “imitar”, pero mejorándola, la respuesta natural del cuerpo humano.

La VB es un órgano hueco. No es difícil acceder a su interior sin necesidad de abrir el abdomen, recurriendo a la vía percutánea con asistencia radiológica y ecográfica ^(43,44) o incluso endoscópica ⁽¹²⁾ y remover los cálculos, o simplemente abandonarlos ⁽⁴⁶⁾. Estos

abordajes mínimamente invasivos permiten introducir distintas soluciones para eliminar funcionalmente la VB, o más específicamente la parte del órgano que contribuye a generar los cálculos: su mucosa (*mucoclasia*), reemplazando la VB por una simple cicatriz fibrosa (*escleroterapia*).

Hay varios trabajos experimentales ^(13-16, 46-70) y clínicos ⁽⁷¹⁻⁷⁸⁾ que intentan la ablación de la VB, es decir la mucoclasia y esclerosis, con distintas sustancias químicas, calor o láser.

Estos procedimientos presentan como principal problema la resistencia y gran capacidad de regeneración de la mucosa a partir de islas de epitelio vital o por la continuidad con la mucosa del CC ^(14,51). Cuando queda epitelio sin destruir se convierte en un foco de células epiteliales viables que se reproducen y terminan con la restitución total de la mucosa o con la formación de nidos de epitelio, con el consiguiente riesgo de generar un mucocele, con el consiguiente fallo del procedimiento. En el ser humano la VB posee senos de Rokitansky-Aschoff cubiertos por epitelio que se introducen en las capas más externas, entonces el problema es potencialmente mayor ⁽⁷⁹⁾.

Un porcentaje no despreciable de pacientes puede albergar un cáncer de VB no advertido en los estudios preoperatorios ⁽⁸⁰⁾, y puede objetarse cualquier método no resectivo por la posibilidad de dejar una posible lesión neoplásica sin extirpar. A diferencia de la colecistectomía la “*colecistoescclerosis*” impide analizar histopatológicamente la pieza quirúrgica, pero la citología de la bilis y del lavado vesicular con solución fisiológica permite detectar células neoplásicas ⁽⁸¹⁾.

El abandono de los intentos iniciales del tratamiento esclerosante de la VB dejó problemas sin resolver: Determinar cuál es la sustancia o el método físico más efectivo para conseguir la mucoclasia y cómo ocluir el CC durante y después del procedimiento.

Se han estudiado los siguientes métodos para determinar cuál es efectivo en la destrucción del epitelio, con poco índice de reepitelización a largo plazo, seguro y accesible:

Esclerosantes : Sustancias químicas como etanol ^(13,14,45,55,58), etanol más tetradecilsulfato de sodio (TDSS) ^(14,16,50,54,63,65,72), etanol más ácido tricloroacético (ATCA) ⁽⁴⁶⁾, etanol más ácido trifluoroacético (ATFA) ^(51,67), tetraciclina ^(55,56,67), carbonato de sodio ⁽¹⁵⁾, ácido acético ^(57,68), hidróxido de sodio más peróxido de hidrógeno ^(61,62), fenol, solución de Stern ⁽⁶⁷⁾, polidocanol ⁽⁶⁵⁾, entre otros. Son alcoholes, ácidos o bases, que, solos o combinados, actúan por distintos mecanismos destruyendo la mucosa y favoreciendo la reacción fibrosa ⁽¹⁴⁾. La mayor parte de los trabajos consultados informan índices de reepitelización variables, desde fracasos completos ^(53,58,59) a éxitos llamativos ⁽⁶⁸⁾. Ninguno de

los esclerosantes usados hasta el momento es cien por ciento efectivo.

En este trabajo se propone el uso de **hipoclorito de sodio**. Es un álcali y un oxidante indirecto, que tiene una mayor penetración cáustica en los tejidos al no formar escara. Es una sustancia barata, estéril, que en casos de accidentes podría ser neutralizada con ácidos débiles. Al ser poco estable debe ser protegida de la luz y titulada antes de ser usada. En el humano se conoce su efecto tisular sobre la mucosa esofágica (esofagitis por cáusticos) ^(82,83).

Calor: Se lesiona la mucosa inyectando sustancias calientes, tales como medios de contraste o solución fisiológica ^(47,50,59,60,73,74). Es difícil delimitar la temperatura justa que permita eliminar sólo la mucosa sin necrosar todas las capas de la pared vesicular con la probable perforación. En la mayoría de los trabajos los resultados son poco alentadores.

Láser: Es un método que ofrece mayor control de la profundidad de la necrosis de la pared, pero es de más difícil aplicación ^(54,70,77). En este trabajo se utiliza por primera vez el **láser de diodo** de 980 nanómetros, que es empleado para el tratamiento endoluminal de las venas varicosas.

La mucoclasia y esclerosis percutánea implica el acceso a la VB por técnicas corrientes y afianzadas por la práctica ⁽⁸⁴⁾. Lo difícil pero imprescindible es la obliteración del CC para evitar en el paso de los químicos a la vía biliar principal. También es importante impedir que la bilis reingrese a la luz de la VB, porque de hacerlo mantiene separadas las paredes (exponiéndola al efecto inhibitor de la cicatrización de la bilis ⁽⁸⁵⁾), permite la progresión del epitelio desde el CC, y puede derramarse en la cavidad peritoneal una vez terminado el procedimiento.

Es necesario definir cuál es el método más práctico, inmediato y seguro para aislar la luz vesicular de la vía biliar. Se han realizado trabajos probando los siguientes métodos:

Cauterización del conducto cístico: Con láser ^(52,53), electrobisturí o radiofrecuencia ^(16,48,56,63,71,72), o microondas ⁽⁶⁴⁾. Estos métodos pueden requerir un período de espera para que la fibrosis oblitere el conducto.

Ligadura: Implica ingresar a la cavidad peritoneal ^(54,57,62).

Sonda balón: Permite inyectar el esclerosante en forma inmediata ⁽⁸⁶⁾.

Tapones: “Tornillos” de material reabsorbible ⁽⁴⁹⁾, o cianoacrilato con *coils* ⁽⁶⁸⁾. Incluso se ha intentado la inyección de un sistema de prepolímero de silicona para un llenado de la VB y lograr así la exclusión vesicular permanente ⁽⁶⁹⁾.

Adhesivos: Cola de fibrina ^(70,77) inyectada luego de la escleroterapia, para permitir el colapso de la pared vesicular desnudas de mucosa y la adherencia fibrosa precoz, y así mantener a la bilis (que interfiere negativamente sobre la cicatrización) fuera de la cavidad desepitelizada y evitar la progresión del epitelio desde el CC. Este adhesivo es utilizado en tres de los grupos del presente trabajo.

Proponemos también el uso de un adhesivo de fácil producción y económico, que tiene a su vez como ventaja que dos de sus componentes tienen efecto destructivo sobre la mucosa. Es un compuesto de tres sustancias: un prepolímero soluble con capacidad de insolubilizarse formando un gel: colágeno (gelatina), un agente capaz de generar uniones cruzadas entre sí y con los tejidos: formaldehído (formol) y una sustancia resistente al agua que reacciona con las proteínas para producir un polímero insoluble: resorcina o fenol ^(87,88). Con el nombre de **GRF (gelatina-resorcina-formol)** fue desarrollado por Braunwald en el año 1965 como agente hemostático en operaciones hepáticas y renales. Su principal uso es en cirugía cardiovascular ^(89,90). Su ventaja es la adhesividad, resistencia a la tensión, el actuar como barrera mecánica y su lenta absorción ⁽⁸⁹⁾. Actualmente hay trabajos en los que se aplica en otros tipos de operaciones, como las cirugías de la pared abdominal y ginecológicas ^(90,91).

IV. Objetivos

- Determinar la eficacia del **hipoclorito de sodio** como mucoclásico y esclerosante, y la utilidad del **adhesivo a base de fibrina** para prevenir el pasaje de bilis al peritoneo luego del procedimiento y disminuir el índice de reepitelización post escleroterapia.
- Probar la acción mucoclásica del **formol**, aprovechando el hecho de que es a su vez parte integrante de un **adhesivo** cuyos otros dos componentes son el colágeno y el fenol (**GRF**).
- Establecer si el **láser de diodo** puede ser efectivo en la ablación de la mucosa y esclerosis de la VB del conejo.
- Estudiar los posibles trastornos locales, sistémicos y complicaciones del procedimiento en el modelo animal utilizado.

CAPÍTULO 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El modelo animal que se eligió fue el conejo neozelandés. Su utilizaron machos de 3 a 4 kg de peso, de 4 meses de edad (Figura 1). En la Figura 2 se muestra la VB del conejo y en la Figura 3 su imagen microscópica.



Figura 1: Conejo neozelandés blanco, animal utilizado como modelo experimental.

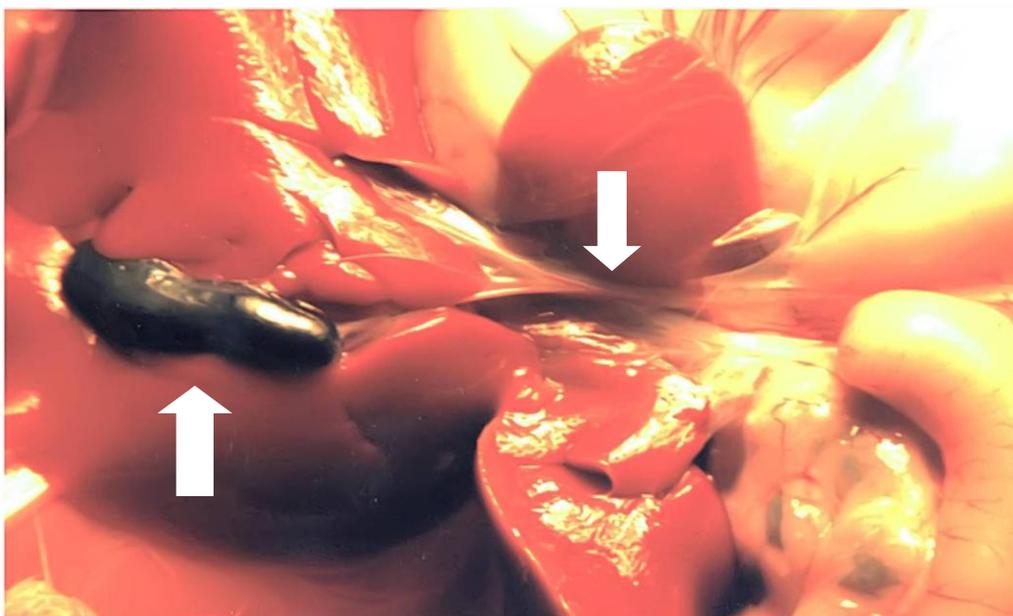


Figura 2: Vesícula biliar del conejo (flecha izquierda). La flecha de la derecha señala la vía biliar principal.

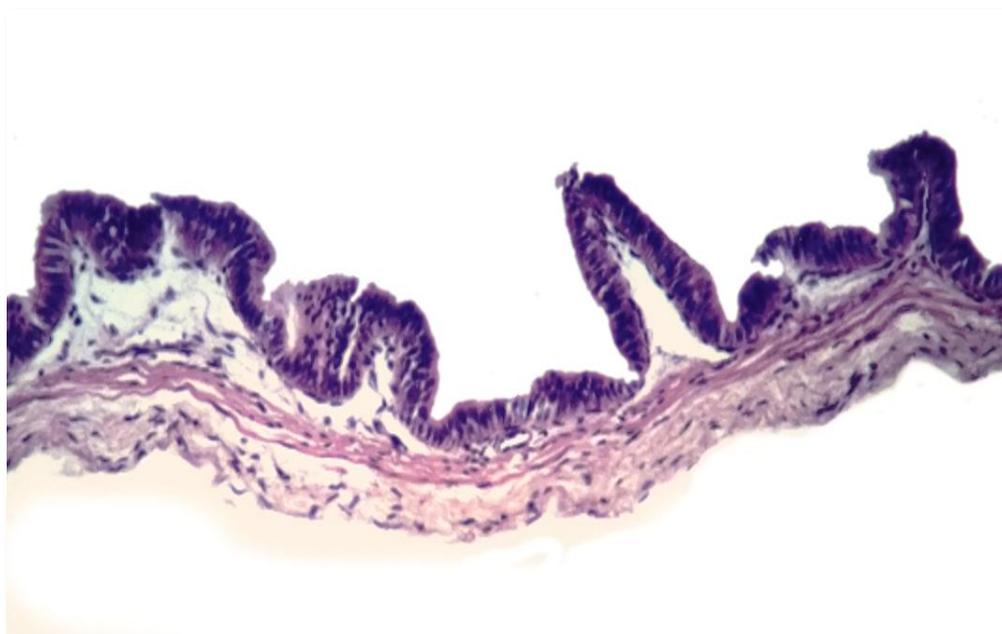


Figura 3: Corte histológico de la VB normal del conejo, que muestra su epitelio cilíndrico simple. Hematoxilina eosina, 40 X.

Los conejos fueron distribuidos en tres grupos problema y dos grupos testigo. Cada uno de los grupos estuvo constituido por 10 animales, que a continuación se detallan:

Grupo A: La vesícula de este grupo problema fue tratada con *hipoclorito de sodio* como mucoclásico y esclerosante. Para la obstrucción definitiva del CC y el colapso de la luz vesicular se utilizó *cola de fibrina*.

Grupo B: En estos animales se usó *GRF* para necrosar la mucosa, obturar el CC y facilitar la adhesión de las paredes vesiculares.

Grupo C: Se aplicó *láser* para destruir la mucosa y ocluir el CC.

Grupo D: Como mucoclásico y esclerosante se usó *etanol*, y cola de fibrina para eliminar la luz vesicular. Se recurrió a este grupo control ya que el etanol es uno de los esclerosantes más utilizado y probado, y su efecto está bien documentado en varios trabajos sobre escleroterapia de la VB.

Grupo E: Se inyectó *solución salina* isotónica.

Procedimiento general: Todos los animales fueron anestesiados con ketamina (30 mg/kg) y diazepam (3 mg/kg) intramuscular más infiltración de la pared con lidocaína al 2%. Utilizamos como profilaxis antibiótica cefalotina IM en dosis de 20 mg/kg. Se accedió a la cavidad abdominal por una incisión subcostal (Figura 4) y la disección del CC se llevó a cabo

con delicadeza para evitar lesionar los elementos vasculares, que pasan muy cerca del mismo (Figura 5). Posteriormente con un clamp vascular delicado se obstruyó el CC (Figura 6) y se procedió a la punción de la VB con un Abbocath N° 18 (Figura 7).

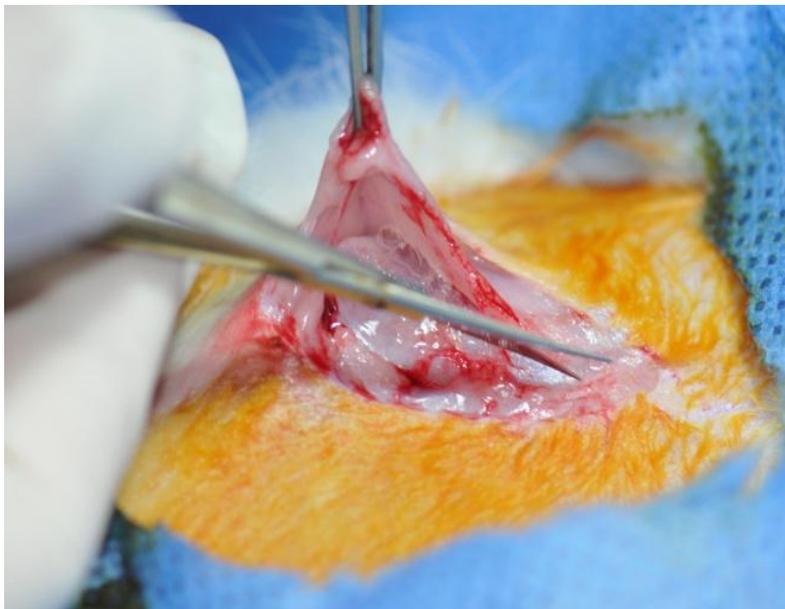


Figura 4: Incisión subcostal en el abdomen del conejo anestesiado. Previamente se hizo campo con iodo povidona, se colocó un campo estéril y se infiltraron todos los planos parietales con lidocaína al 2%.

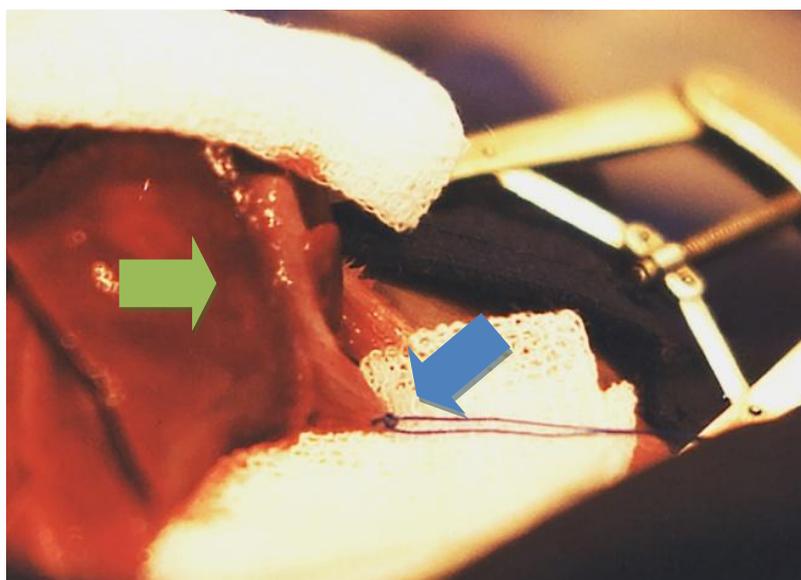


Figura 5: Disección e identificación del conducto cístico, jalonado y señalado con una flecha azul. La flecha verde de la izquierda señala la vesícula biliar.



Figura 6: Clamp vascular delicado obstruyendo el conducto cístico.



Figura 7: Punción de la vesícula biliar con un Abbocath N° 18.

Procedimiento por cada grupo:

En los conejos del **grupo A**, luego de aspirar el contenido biliar, se inyectó **hipoclorito de sodio** de reciente titulación a una concentración de 20 g Cl/l a temperatura ambiente hasta llenar la VB. Después de 5 minutos (Figura 8) fue aspirado y se inyectó por segunda vez la R.J.J.C.

misma solución (la repetición de la infusión se explica porque el hipoclorito es inactivado con el contacto prolongado con sustancias orgánicas). Luego de otros 5 minutos se eliminó el hipoclorito y se lavó la cavidad vesicular con solución fisiológica. La preparación de cola de fibrina (Tissucol® 0,5) (Figura 9) fue inyectada (Figura 10). Para colapsar la VB se aspiró el excedente del adhesivo y se retiró el clamp.



Figura 8: Inyección del hipoclorito de sodio en la vesícula biliar.



Figura 9: Los componentes de la cola de fibrina (Tissucol) preparados en sus jeringas.



Figura 10: Inyección de la cola de fibrina en la vesícula biliar.

En las VB de los animales del **grupo B** se inyectó **formol** al 5% a temperatura ambiente, que permaneció en la luz por 5 minutos, y se finalizó el procedimiento con inyección de adhesivo de colágeno a 40°C (para disminuir su viscosidad) (Figura 11). Por su aumento de densidad al enfriarse fue difícil de aspirar completamente el excedente. Se retiró el clamp. El adhesivo de colágeno (GRF) se obtuvo diluyendo 15 gr de **gelatina** (colágeno) en 20 ml de agua destilada más 5 gr de **fenol** (que reemplaza a la resorcina de la fórmula original, y tiene la función de insolubilizar el compuesto, a la vez que prolonga el efecto de daño tisular local). El producto así obtenido es calentado y mezclado por 30 min a 50 °C (Figura 12).

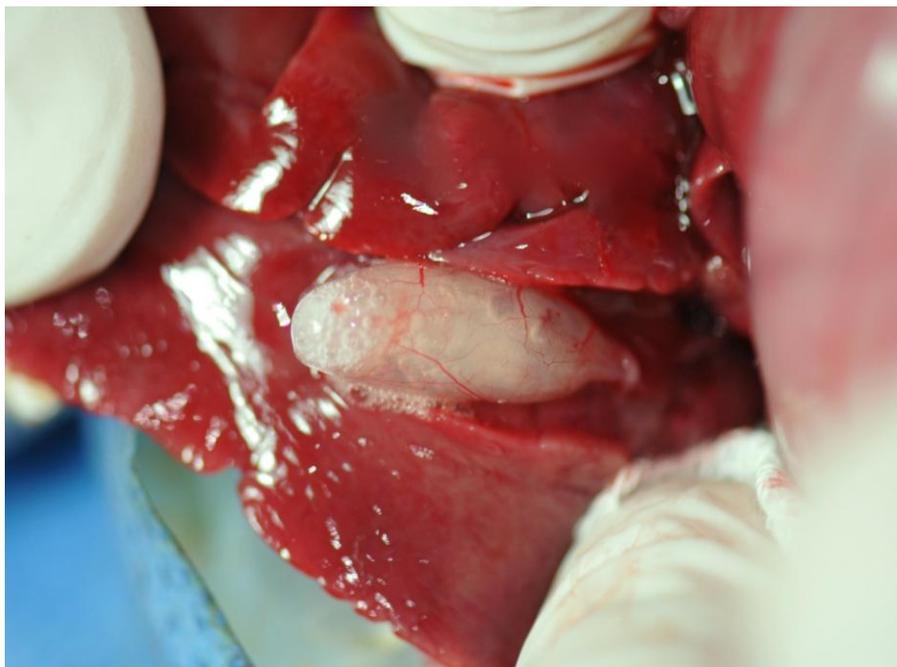


Figura 11: Inyección en la vesícula biliar de la mezcla de colágeno con fenol luego de haber aspirado el formol inyectado previamente.



Figura 12: Aspecto del GRF a temperatura ambiente (alrededor de 20 °C). A mayor temperatura es más fluido y fácil de inyectar.

Las VB del **grupo C** se trataron con **láser** de diodo In Ga As P de 980 nm (Novadiode 980 Synus Laser de Orlight Laser, Argentina) (Figura 13). Se introdujo una fibra óptica de 600 micrones. El láser se aplicó endoluminalmente en la desembocadura del CC y posteriormente a lo largo de la VB, desde el infundíbulo al bacinete, con pulsos de 1 segundos a una potencia de 7 Watts. Se repitieron los pulsos hasta lograr el colapso de la VB (Figura 14).



Figura 13: Láser de diodo In Ga As P de 980 nm (Novadiode 980 Synus Laser de Orlight Laser, Argentina).

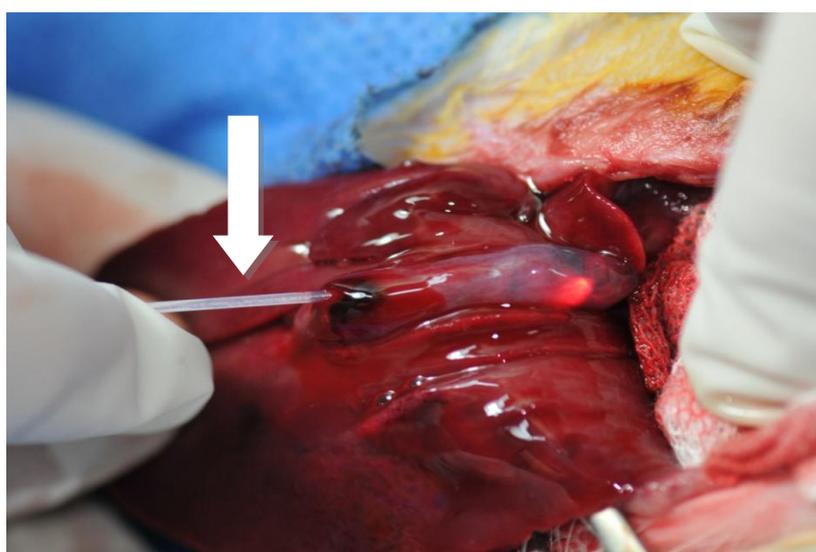


Figura 14: Aplicación del láser dentro de la vesícula biliar. La flecha blanca indica la fibra óptica.

En los conejos del **grupo D** se inyectó de **alcohol etílico** al 96% hasta llenar la VB, el cual fue aspirado luego de dejarlo actuar 10 minutos. La luz vesicular fue lavada con solución fisiológica y posteriormente se inyectó cola de fibrina (Tissucol[®] 0,5) hasta distender la VB. Para colapsar la vesícula se aspiró el excedente y finalmente se extrajo el clamp.

Al **grupo E** solo se le inyectó solución fisiológica (grupo sham). El sitio de punción de la VB debió cerrarse con una jareta de polipropileno 7/0 para impedir el paso de la bilis a la cavidad peritoneal.

En los animales de todos los grupos se cerró la pared abdominal con surget de poliglactina (Vicryl 2/0) y la piel con surget de Vicryl (Figura 15). El procedimiento duró un promedio de 35 minutos.

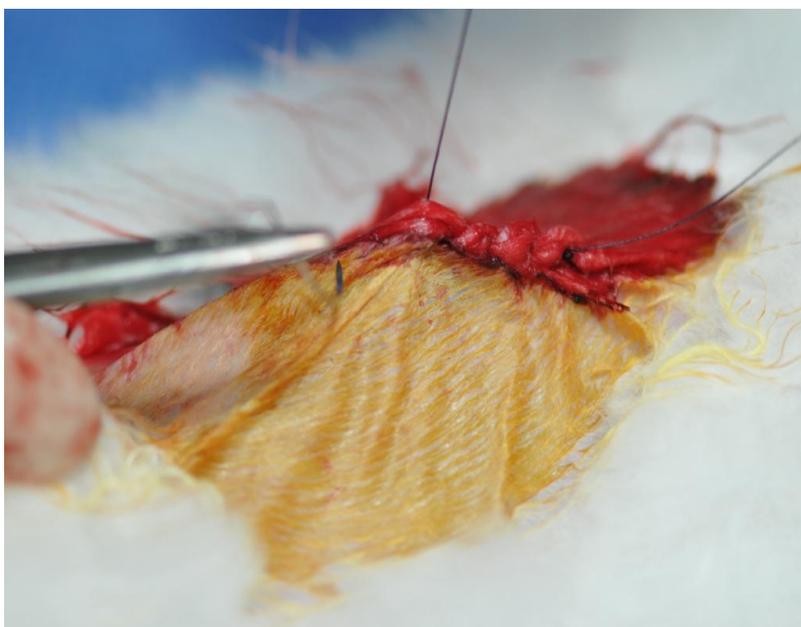


Figura 15: Cierre de la pared abdominal una vez completado el procedimiento.

La evolución postoperatoria fue controlada diariamente. A los 65 días de realizado el procedimiento (tiempo suficiente en los trabajos consultados para comprobar si se produjo la mucoclasia completa y la fibrosis y desaparición de la luz vesicular), se sacrificaron los animales inyectando diazepam (5 mg/kg IM) para sedación y posteriormente se aplicó pentobarbital sódico (200 mg/kg EV). Previa laparotomía mediana xifopubiana y observación de la zona quirúrgica, se extirpó la VB con tejido hepático adyacente y la vía biliar principal para estudio histopatológico. El mismo consistió en la descripción macroscópica de la pieza

operatoria y posterior procesamiento de las muestras (pared vesicular, vía biliar e hígado) con técnicas de rutina: Impregnación en parafina, cortes de 4 micras y coloración de hematoxilina-eosina. Se evaluó la existencia o ausencia de luz, el grado de fibrosis producida, la presencia de quistes mucinosos, de áreas de reepitelización y de lesiones en la mucosa de la vía biliar principal y en el parénquima hepático.

El análisis estadístico seleccionado fue el test de Fisher comparando cada grupo problema con los dos testigos. Se consideró significativo un $p < 0,05$. El software utilizado fue GraphPad Prism 5.0.3 (GraphPad Software, Inc., California, USA).

CAPÍTULO 3. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el intento de determinar la utilidad del hipoclorito de sodio, del formol y del láser como mucoclásicos, y de la cola de fibrina y del GRF como obturadores de la luz vesicular y del CC y favorecedores de la esclerosis de la VB, aplicados en la VB del conejo, son los que se describen a continuación.

Un animal murió durante la administración de anestesia y fue reemplazado. No hubo muertes postoperatorias. Los animales de todos los grupos evolucionaron bien, perdiendo peso los dos primeros días, y a lo largo del mes siguiente se registró una actividad normal y aumento constante de peso, encontrándose todos los animales en óptimo estado en el momento del sacrificio. La cavidad peritoneal presentó en algunos casos adherencias laxas entre la pared, hígado, estómago y fondo de la VB, propios de la manipulación quirúrgica, similares en todos los grupos (Figura 16). Se produjeron dos eventraciones, en animales del grupo A y D.

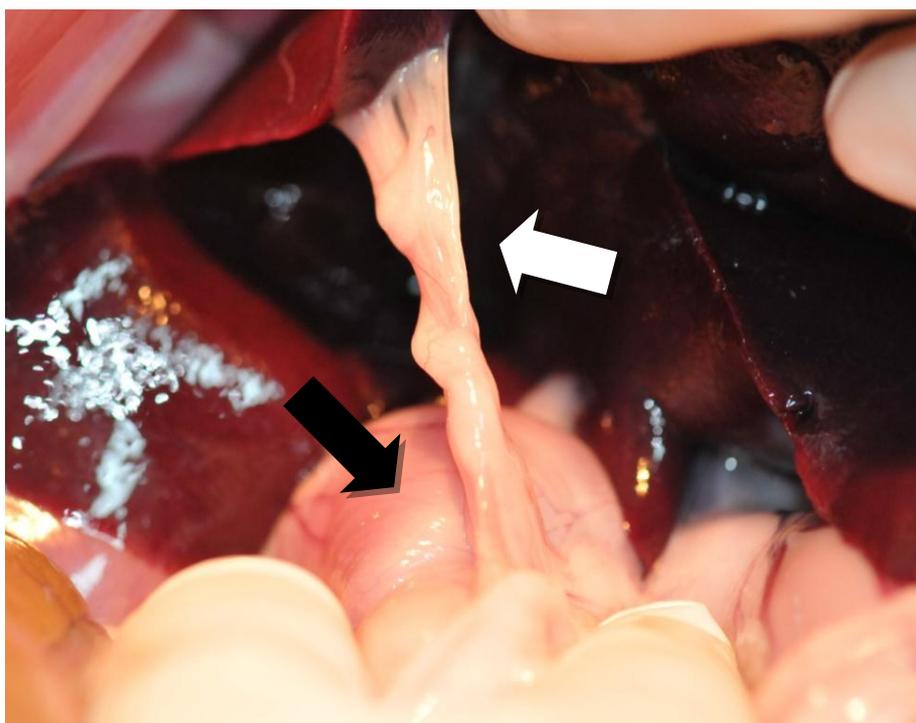


Figura 16: Adherencias laxas entre el fondo de la vesícula biliar (flecha superior) y el intestino delgado (flecha inferior), en un animal del grupo C.

No se apreció lesión macro ni microscópica en el hígado que rodea a la VB (tales como estasis venosa central con distensión de sinusoides, fibrosis de septos interlobulillares o

necrosis hepatocelular), ni en la vía biliar principal (como inflamación aguda o crónica y fibrosis) en ninguna de las piezas analizadas de los distintos grupos.

Se clasificó el resultado del procedimiento de la siguiente manera:

Tipo I: Ablación completa de la mucosa de la VB, quedando solamente tejido cicatricial. Se considera al resultado del procedimiento como *exitoso*.

Tipo IIa: Esclerosis parcial, sin conexión con la vía biliar, con la presencia de quiste de contenido seromucinoso. *Fracaso* del procedimiento.

Tipo IIb: Esclerosis parcial (disminución del tamaño del remanente vesicular, fibrosis parietal), con luz que contiene bilis proveniente de un CC permeable. *Fracaso* del procedimiento.

Tipo III: Vesícula con luz, sin fibrosis y con bilis. *Fracaso* del procedimiento.

Resultados en los distintos grupos:

Grupo A: El 80% de las vesículas tratadas con hipoclorito desaparecieron dejando una pequeña cicatriz subhepática de aspecto predominantemente cilíndrico (Figuras 17 y 18). La microscopia mostró destrucción completa de la histoarquitectura de la VB, ausencia de luz y de epitelio, con desarrollo de fibrosis mural, con leve infiltrado linfocitario (Figuras 19 y 20). Resultado tipo I (éxito).

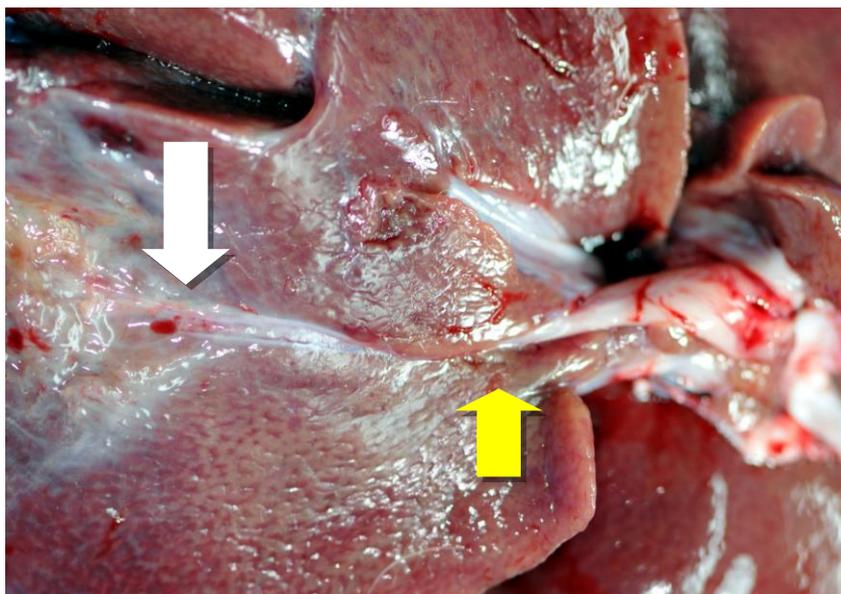


Figura 17: Aspecto de una vesícula biliar tratada exitosamente con hipoclorito y cola de fibrina del grupo A. Resultado tipo I. La flecha izquierda muestra los restos de la VB y la derecha la vía biliar principal.

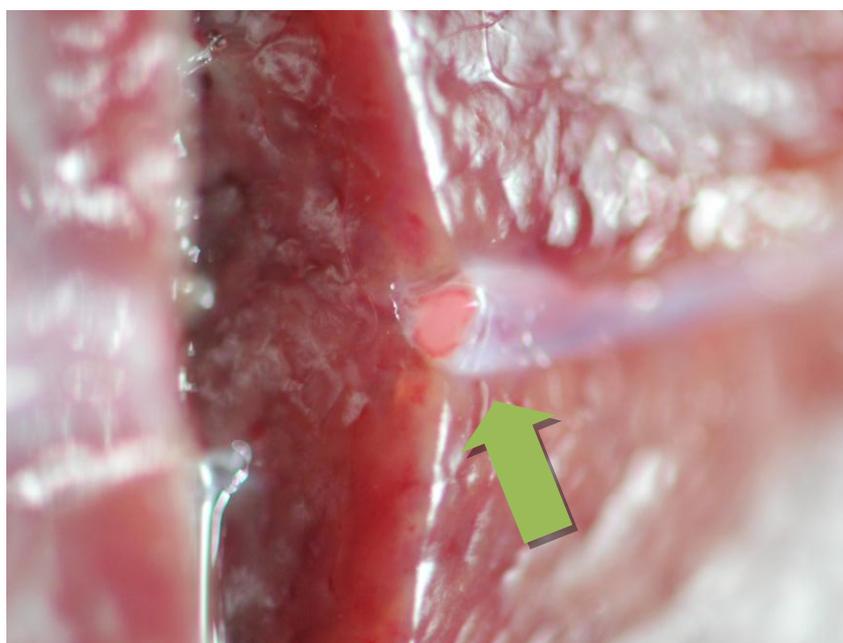


Figura 18: Aspecto de la sección transversal de una vesícula biliar tratada exitosamente con hipoclorito y cola de fibrina del grupo A. Resultado tipo I. La flecha muestra la sección de la cicatriz cilíndrica que corresponde a la vesícula biliar fibrosada, sin luz ni mucosa.

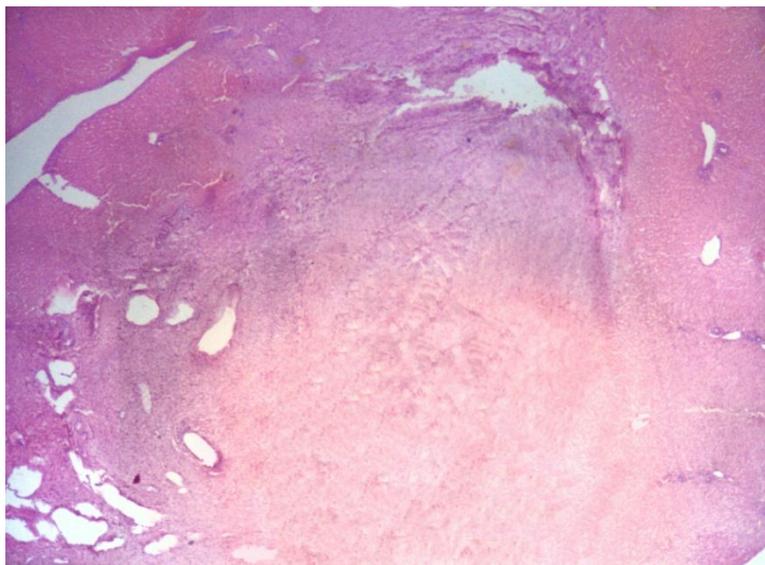


Figura 19: Microfotografía de una vesícula biliar tratada exitosamente con hipoclorito y cola de fibrina del grupo A. La vesícula está reemplazada por tejido fibroso (colágeno y fibroblastos). Hígado adyacente normal. Hematoxilina eosina, 40X.

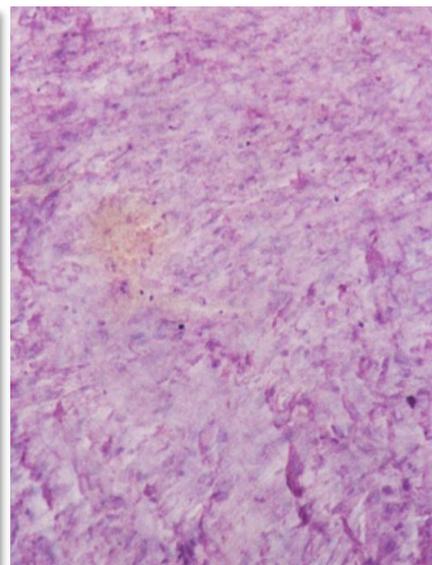


Figura 20: Microfotografía de la misma pieza del grupo A en un acercamiento a la cicatriz. Hematoxilina eosina, 60X.

En un caso hubo un quiste de retención debido a mucosa remanente vital con capacidad secretora (Figuras 21 y 22). Microscópicamente se observó una cavidad quística revestida de epitelio aplanado, con fibrosis e infiltrado linfocitario de la pared (Figura 23). Resultado tipo IIa (fracaso).

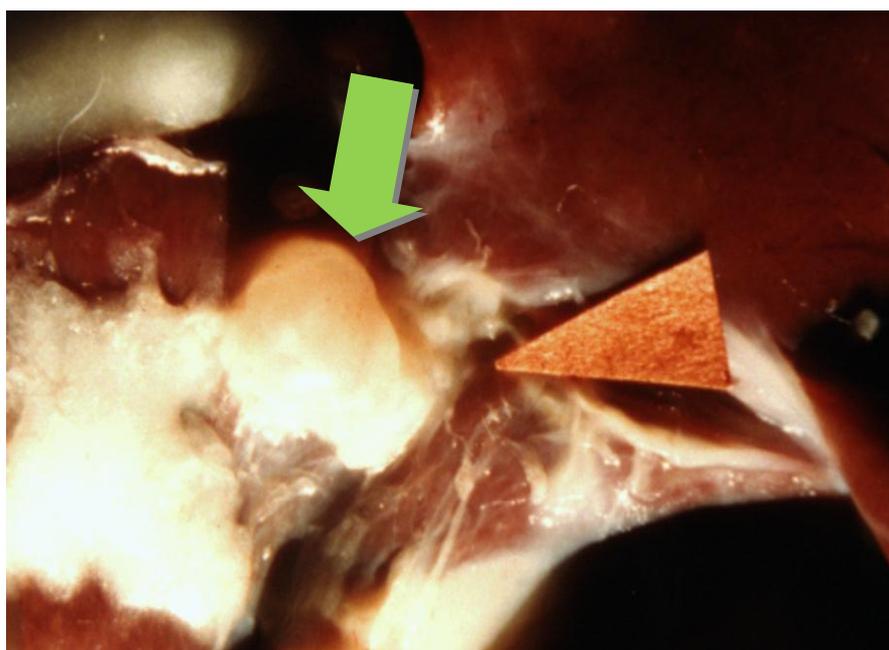


Figura 21: Quiste seroso (resultado tipo IIa) en una vesícula del Grupo A (tratada con hipoclorito de sodio), señalado por la flecha verde superior. El triángulo color naranja marca el conducto cístico.

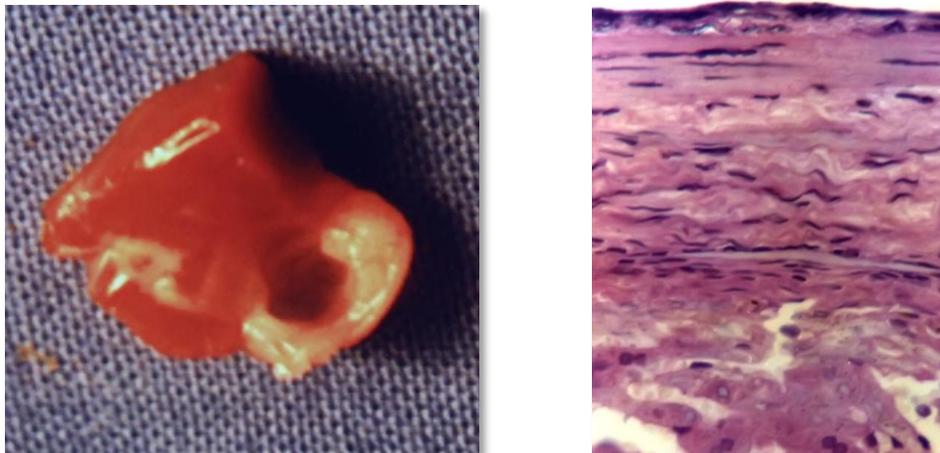


Figura 22 (izquierda): Un quiste seroso en una vesícula del Grupo A (tratada con hipoclorito de sodio) cortado transversalmente.

Figura 23 (derecha): Corte de la pared del quiste de la VB del grupo A con resultado IIa. Se pueden apreciar células epiteliales planas en la luz (parte superior). Hematoxilina eosina, 100X.

En otro caso quedó un pequeño remanente vesicular, con engrosamiento parietal y con contenido biliar (Figuras 24 y 25). El estudio histopatológico informó pared vesicular engrosada, con proliferación fibroblástica e infiltrado linfoplasmocitario, cubierta de epitelio cilíndrico, aunque ausente en algunos tramos (Figura 26). Resultado tipo IIb (fracaso).

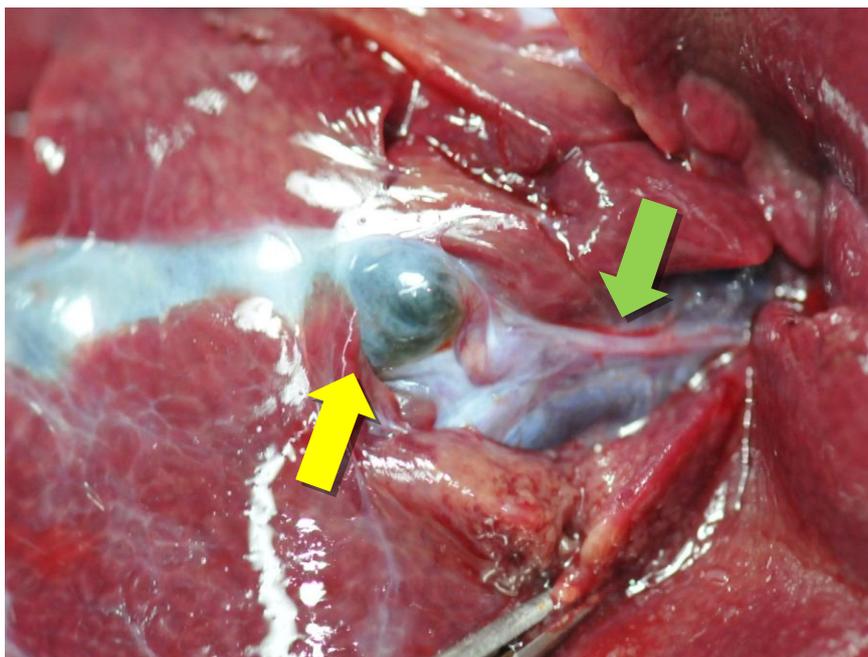


Figura 24: Remanente vesicular con conexión biliar (resultado tipo IIb) en un caso del grupo A (tratado con hipoclorito de sodio). La flecha izquierda amarilla muestra el remanente, la verde de la derecha el conducto cístico.

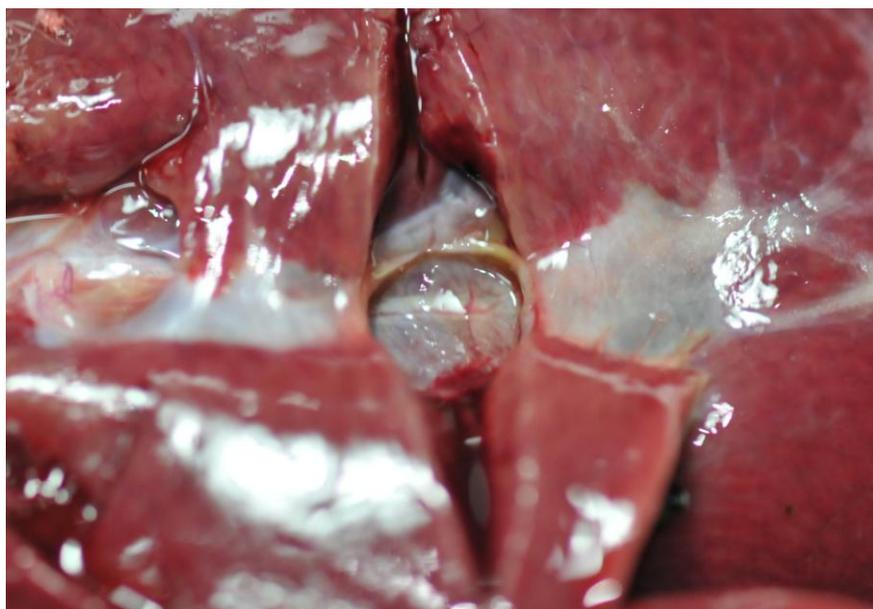


Figura 25: Remanente vesicular con conexión biliar (resultado tipo IIb) en un caso del grupo A (tratado con hipoclorito de sodio). Sección transversal.

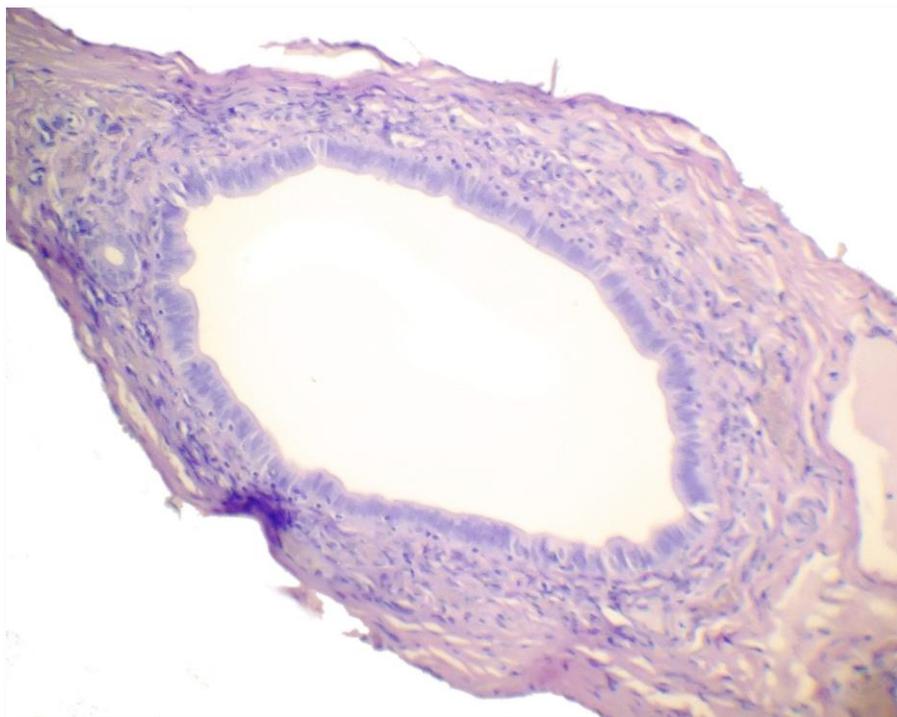


Figura 26: Remanente vesicular con conexión biliar (resultado tipo IIb) en un caso del grupo A (tratado con hipoclorito de sodio). Corte histológico sobre una zona con remanente epitelial (resultado tipo IIb) del grupo A. Hematoxilina eosina, 60X.

Grupo B: Ocho de las 10 VB tratadas con GRF desaparecieron dejando una cicatriz subhepática delgada y plana (Figuras 27 y 28). La microscopia mostró desaparición de las capas de la VB (ausencia de epitelio, capa muscular no reconocible), desaparición de la luz vesicular y fibrosis mural y endoluminal, con leve infiltrado linfocitario (Figura 29). Resultado tipo I (éxito).

En las otras dos quedó un pequeño remanente vesicular, con engrosamiento parietal, pero con contenido biliar. Al examen microscópico se demostró epitelio conservado, fibrosis e infiltrado linfocitario en una pared engrosada. Resultado tipo IIb (fracaso).



Figura 27: Resultado tipo I (éxito del tratamiento) en una de las vesículas del grupo B, tratadas con GRF.



Figura 28: Sección de una pieza con resultado tipo I (éxito del tratamiento) en una de las vesículas del grupo B, tratadas con GRF. La flecha indica una vena suprahepática triangular constante a pocos milímetros del lecho vesicular. La vesícula ha sido reemplazada por una cicatriz con escasa fibrosis.

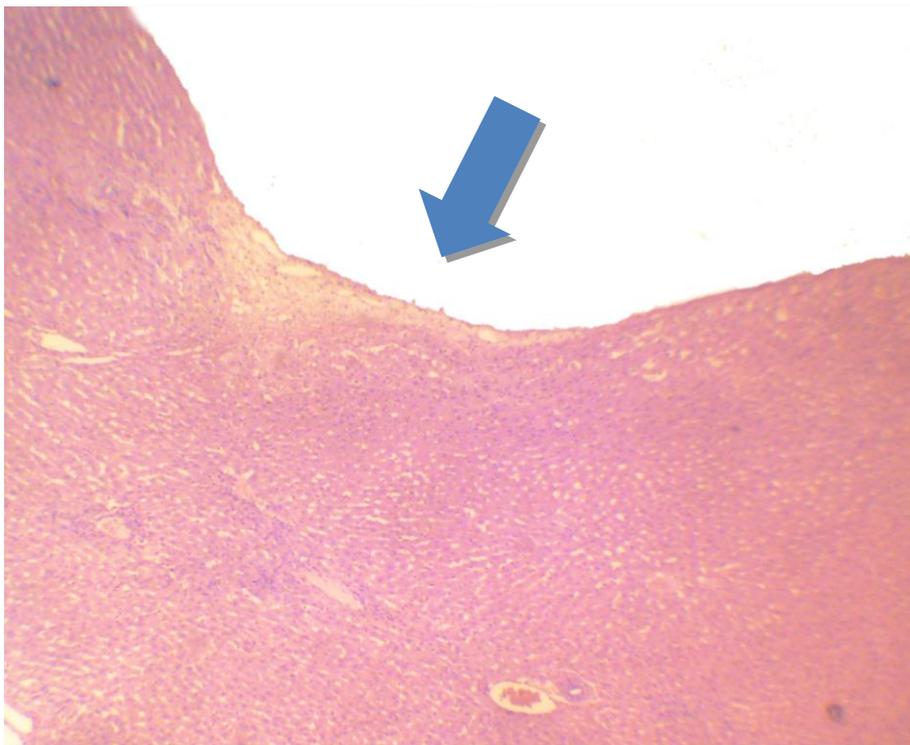


Figura 29: Microscopia de la pieza anterior, con reemplazo de la VB por una zona plana de fibrosis (flecha). Hematoxilina eosina, 40X.

Grupo C: Ocho de las VB tratadas con láser se presentaron como una cicatriz subhepática (Figuras 30 y 31). En estos casos el estudio histológico halló la VB reemplazada en su totalidad por tejido fibroso, leve infiltrado linfocitario, sin vestigios de células epiteliales. Resultado tipo I (éxito) (Figura 32). En algunos casos se hallaron algunas células gigantes de cuerpo extraño (quizás reactiva a restos de la punta de la fibra óptica)

En los 2 casos restantes el infundíbulo siguió reconocible a lo largo de 2 a 3 mm (Figura 33 y 34), con epitelio viable y contenido biliar, resultando esclerosado solo el fondo y cuerpo. Resultado tipo IIb (fracaso).

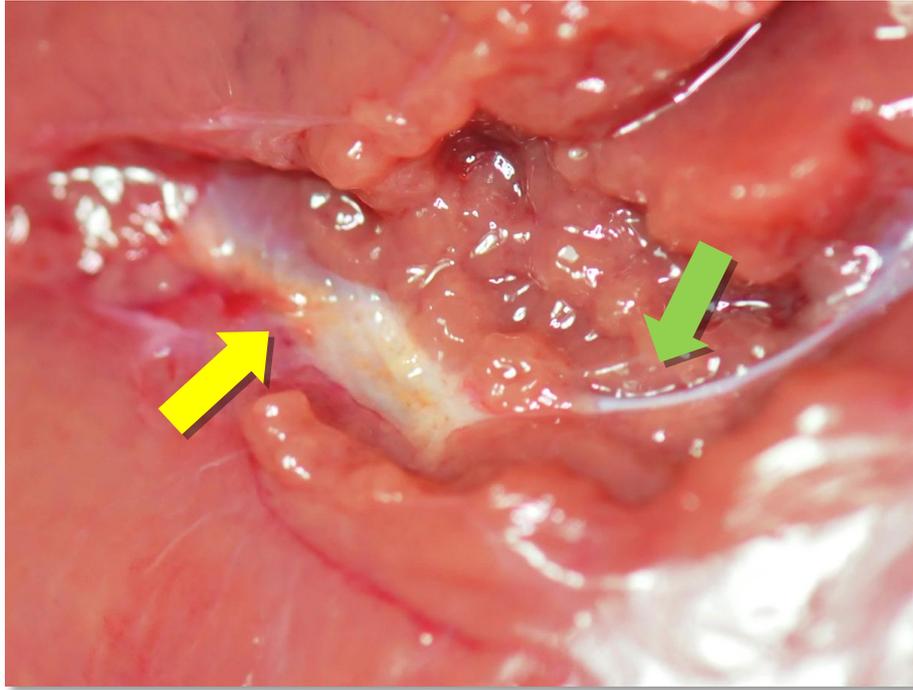


Figura 30: Resto fibrótico (flecha amarilla) de una de las vesículas tratadas con láser (resultado tipo I, éxito). La flecha verde indica el conducto cístico.

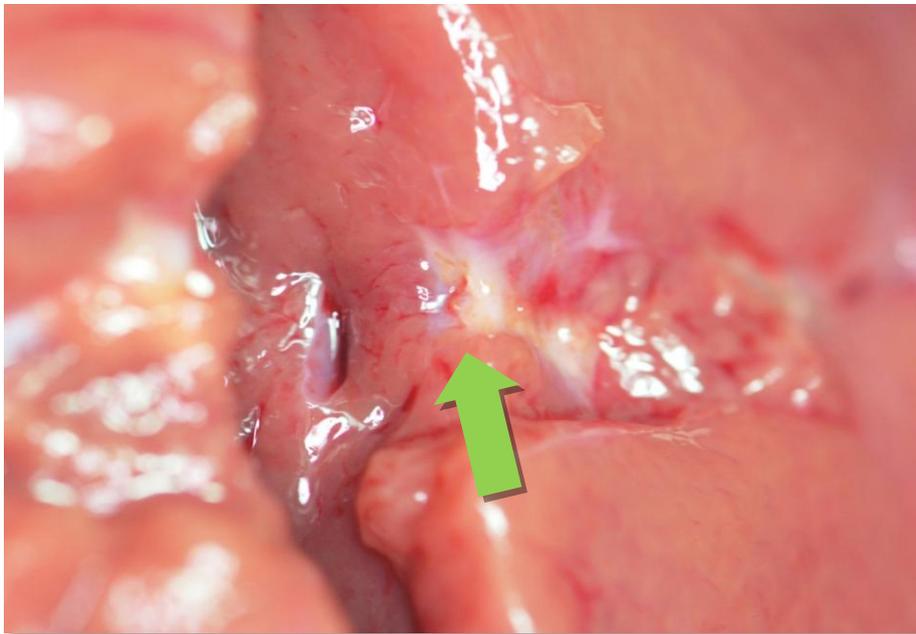


Figura 31: Corte transversal del resto fibrótico de una de las vesículas tratadas con láser (resultado tipo I, éxito). La flecha marca el de fibrosis seccionada.

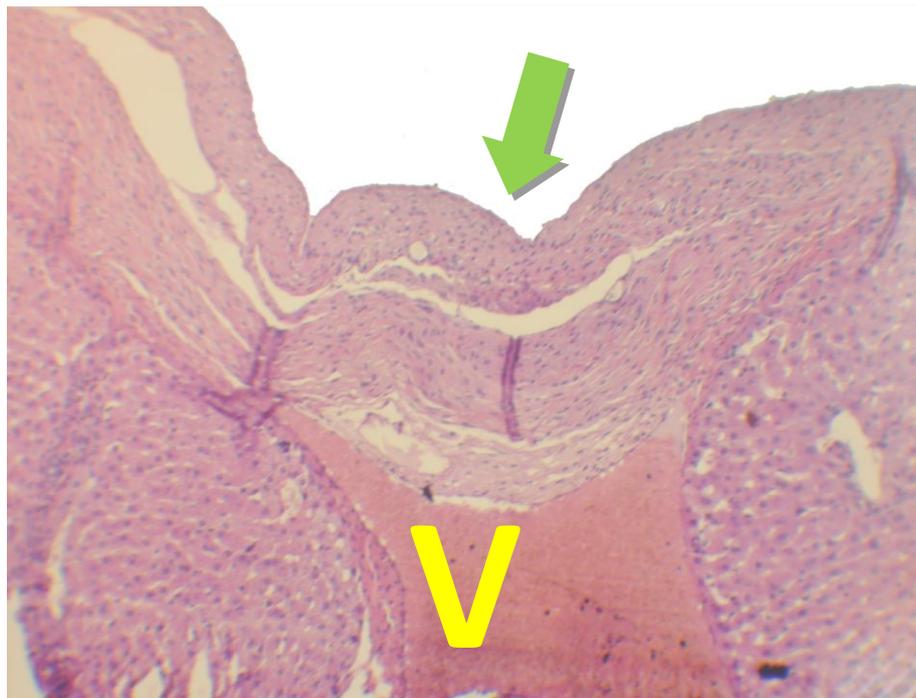


Figura 32: Corte histológico de la pieza del resto fibrótico de una de las vesículas tratadas con láser (resultado tipo I, éxito) (hematoxilina eosina, 40X). La flecha indica el tejido fibroso, sin células epiteliales (La luz es un artefacto de técnica). La V marca una vena suprahepática.

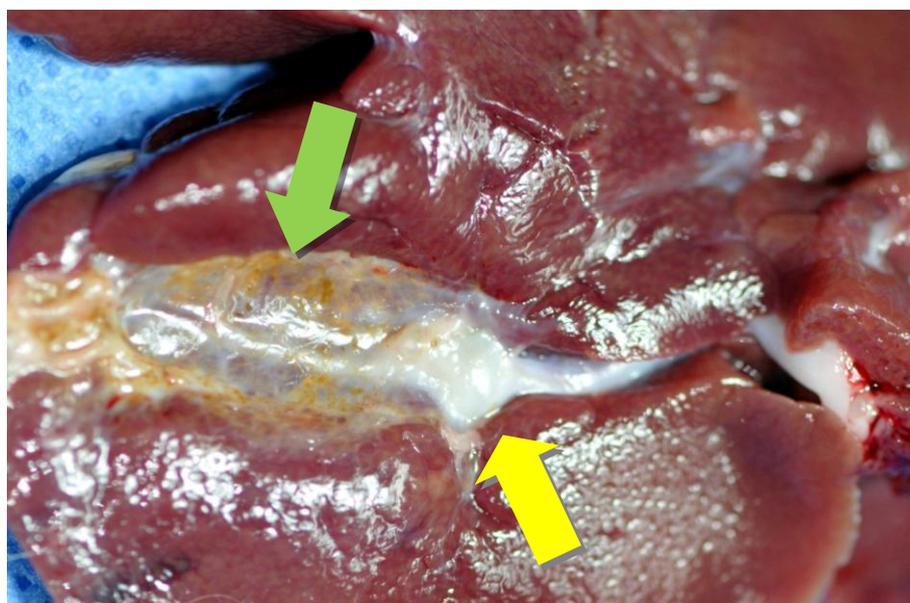


Figura 33: Vesícula esclerosada en su cuerpo y fondo (flecha izquierda), pero con presencia de infundíbulo con bilis (flecha derecha), en caso del grupo C (láser). Resultado tipo IIb.

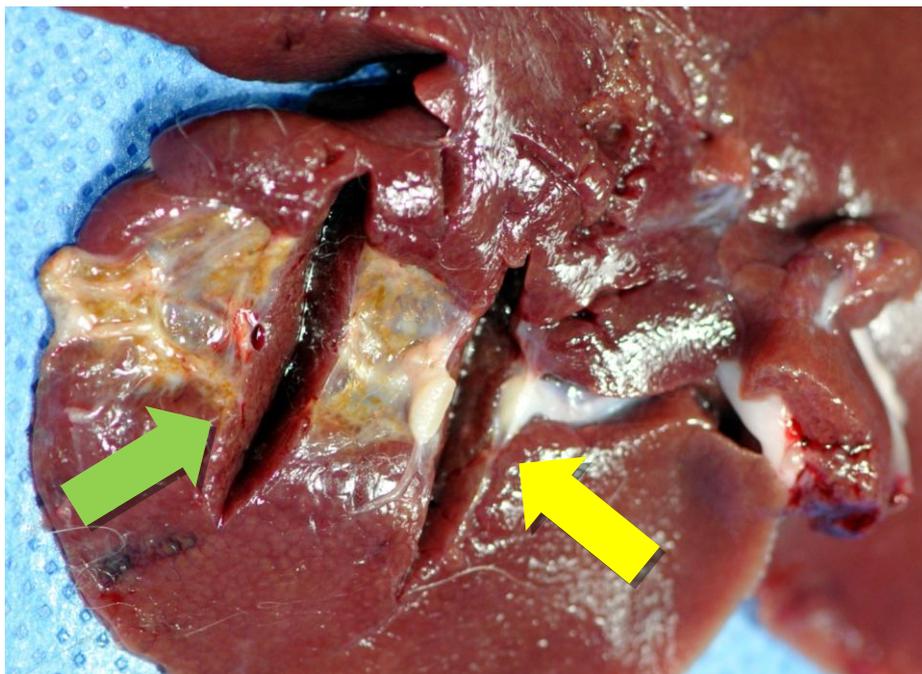


Figura 34: La misma pieza anterior, seccionada en zona esclerosada (flecha izquierda) y en el infundíbulo con luz (flecha derecha).

Grupo D: El procedimiento fue exitoso (resultado tipo I) en un solo caso. En 5 se hallaron quistes (resultado tipo IIa) y en los 4 restantes quedó un remanente vesicular con conexión biliar (resultado tipo IIb).

Grupo E: El grupo con solución fisiológica mostró sólo adherencias en la zona de la punción y cierre, con vesículas normales macroscópica e histológicamente (Figura 35). Resultado tipo III (fracaso).

Los resultados están resumidos en la Tabla 1:

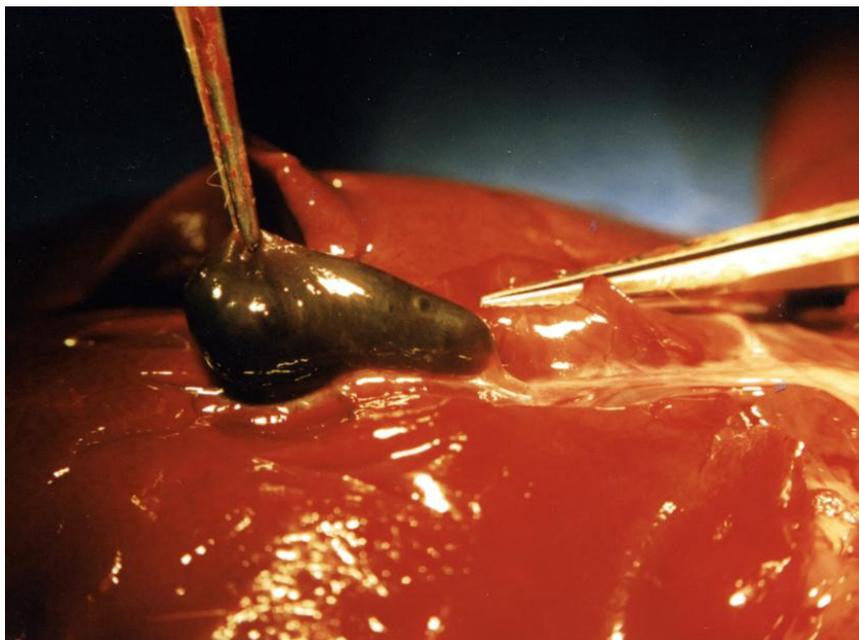


Figura 35: Vesícula biliar tratada con solución salina isotónica del grupo E. Vesícula normal, sin cambios.

Tabla 1: Resultado obtenido en los distintos grupos problema y testigos.

Grupos/Resultado	Número de casos	I	IIa	IIb	III
A) Hipoclorito + cola de fibrina	10	8	1	1	-
B) GRF*	10	8	-	2	-
C) Láser	10	8	-	2	-
D) Etanol + cola de fibrina	10	1	5	4	-
E) Solución fisiológica	10	-	-	-	10

*GRF: Gelatina, resorcinol, formol.

La comparación de los resultados demostró una diferencia significativa favorable a los grupos tratados con hipoclorito más cola de fibrina, al de GRF y al de láser en comparación con los testigos: solución fisiológica ($p < 0,0007$) y etanol más cola de fibrina ($p < 0,0055$).

CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro trabajo experimental en relación a la ablación no quirúrgica de la VB serán puestos en contexto con los antecedentes hallados en la literatura.

Los trabajos experimentales referidos a la ablación química de la VB se resumen, ordenados cronológicamente, en la tabla 2.

El primer trabajo publicado que encontramos sobre el tema fue el de Salomonowitz y cols. ⁽¹³⁾, realizado 1984 usando conejos como modelo animal. Abordaron la VB por una incisión abdominal mediana. Obturaron el CC con una mezcla de cianoacrilato y nitrocelulosa y usaron como esclerosantes diatrizolato de meglumina (un contraste radiológico) a 100°C, etanol, morruato de sodio, y el mismo cianoacrilato. Solo los dos primeros necrosaron el epitelio y generaron fibrosis. En cinco casos el tapón se fragmentó, pero fue efectivo para evitar el paso de los químicos a la vía biliar principal. A la segunda semana se sacrificaron los animales y se obtuvo material para el examen histológico. La destrucción total de la mucosa se observó con el contraste caliente y el etanol (en 4 de 6 conejos de cada grupo). Nosotros utilizamos el mismo modelo animal y el etanol como agente mucoclásico de referencia, y ya está presente el principio del uso de un adhesivo para obturar el CC.

Getrajdman y cols. ⁽¹⁴⁾ en 1985 publicaron un trabajo usando 56 conejos, divididos en 6 grupos en los que usó diferentes esclerosantes (medio de contraste caliente, tetradecil sulfato de sodio (TDSS) al 3%, tetraciclina, metilcianoacrilato con ácido tricloroacético (ATCA), etanol al 95% y etanol con ATCA, con un grupo control con solución salina isotónica, abordando la VB por laparotomía y ocluyendo el CC con un hemoclip. Un grupo de animales fue sacrificado a las 2 semanas y los restantes a las 6 semanas. La solución salina, el TDSS y el contraste caliente no necrosaron la mucosa. El resto de las sustancias fueron efectivas en la mucoclasia (11 de 12 especímenes), pero a las 6 semanas en todos los grupos el 40% presentó regeneración epitelial, que se interpretó como originado a partir del CC. En una segunda publicación ⁽⁵¹⁾ ligó el CC de 24 conejos e inyectó etanol al 95% más ácido trifluoroacético (ATFA) (2 M % y 5 M %), con un éxito en el 92% de los casos, que atribuyó a la obturación más contundente del CC. Nosotros presentamos un trabajo en que corroboramos que la permeabilidad del CC favorece la reepitelización vesicular, aunque interpretamos que eso es debido también al ingreso de bilis que inhibe la adhesión de la pared colapsada de la VB por su efecto contrario a la fibrosis ⁽⁸⁵⁾ y no solo a la simple continuidad del epitelio del CC que permite la invasión de la superficie de la pared interna de la VB.

Tabla 2: Resumen de los trabajos experimentales referidos a la ablación química de la VB.

Autor	año	animal	acceso	esclerosante	obturbación del CC ¹	resultados	observaciones
Salomonowitz E ⁽¹³⁾	1984	36 conejos	quirúrgico	meglumina diatrizolato a 100°C, Etanol, morruato de Na, cianoacrilato y nitrocelulosa	cianoacrilato y nitrocelulosa	Éxito en 4 de 6 conejos de grupo con calor y etanol	Se fragmentó el tapón. Solo 2 semanas para el sacrificio
Getrajman GI ⁽¹⁴⁾	1985	56 conejos	quirúrgico	etanol, tetraciclina, ATFA ² , TSS ³	clamp	Regeneración a las 6 semanas en el 60%	Necesaria la espera de al menos 6 semanas
Getrajman GI ⁽⁵¹⁾	1986	24 conejos	quirúrgico	etanol, ATFA	ligadura	92% éxito	Imprescindible ocluir el CC
Remley KB ⁽⁵⁵⁾	1986	16 conejos	quirúrgico	etanol, tetraciclina	ligadura	Más efecto la tetraciclina	Determinación de niveles en sangre no tóxicos
Becker CD ⁽⁴⁸⁾	1988	15 cerdos	percutáneo	-	RF ⁴	Obliteración de CC a las 11 semanas	
Becker CD ⁽¹⁶⁾	1989	20 cerdos	percutáneo	etanol, TSS. Distintas concentraciones	RF	Erradicación completa de la mucosa en 6 de 8 y 2 de 8 animales. Más efecto a mayor concentración	
Uchiyama N ⁽⁶⁵⁾	1989	33 cerdos	quirúrgico	etanol y polidocanol	coils	Más efectivo el etanol	Lavado con acetilcisteína
Becker CD ⁽⁷¹⁾	1990	cerdos		etanol + TSS	RF	-	Compilación de trabajos previos
Cuschieri A ⁽¹⁵⁾	1989	11 cerdos	laparoscópico y colecistoscópico	carbonato de Na	sonda balón	5 de 11 éxitos. Mortalidad y complicaciones	Colocó cálculos humanos e hizo litotripsia
Mahon TG ⁽⁶⁹⁾	1991	6 conejos	quirúrgico	prepolímero de silicona	-	-	
Leahy AL ⁽⁵⁶⁾	1991	29 perros	quirúrgico	tetraciclina	bipolar	Una sola instilación falla	
Lindberg CG ⁽⁵⁸⁾	1991	12 cerdos	quirúrgico	etanol	ligadura	Falló	Introducción de cálculos y rotolitolriptor
Brakel K ⁽⁸⁶⁾	1991	20 cerdos	quirúrgico	etanol al 96% y TDSS al 3%	Sonda balón	Sin éxito	
Girard MJ ⁽⁵²⁾	1992	cerdos	quirúrgico, in vitro e in vivo	láser	láser	Efectivo para oclusión del CC	
Girard MJ ⁽⁵³⁾	1992	13 cerdos	percutáneo	etanol, TSS	láser	Una sesión es insuficiente.	Mejor etanol+ TSS que etanol solo
Kannegieter LS ⁽⁴⁶⁾	1993	20 cerdos	quirúrgico	etanol, ATFA	ligadura	87% éxito	Coloca cálculos. Deja drenaje
Bell RCW ⁽⁴⁹⁾	1993	8 cerdos	quirúrgico	etanol, TSS	Tornillo reabsorbible	75% éxito	
Lindberg CG ⁽⁵⁷⁾	1993	32 cerdos	quirúrgico	ácido acético, Etanol + TSS, sol. de Carnoy, metrizoato caliente	ligadura	Más del 50% persistió mucosa a las 8 semanas	Introducción de cálculos y rotolitolriptor
Soulen MC ⁽⁶¹⁾	1994	cerdos	in vitro	12 sustancias probadas	-	El hidróxido de Na y el peróxido de hidrógeno, los más eficaces	
Soulen MC ⁽⁶²⁾	1995	14 cerdos	quirúrgico	etanol, hidróxido de Na y peróxido de O ₂	ligadura	Falló	Complicaciones
Majeed AW ⁽⁶⁷⁾	1997	conejos	quirúrgico	etanol + TSS, ATFA, tetraciclina, fenol, solución de Stern	ligadura	Mejores resultados con sol. de Stern seguida de etanol o TDSS	
Lee JH ⁽⁶⁸⁾	2009	5 perros	percutáneo	ácido acético	cianoacrilato y coils	Efectiva (salvo CC)	

Abreviaturas: 1: CC: Conducto cístico. 2: Ácido trifluoroacético. 3: Tetradecilsulfato de sodio. 4: Radiofrecuencia.

Remley y cols. ⁽⁵⁵⁾ estudiaron la absorción sistémica de etanol y tetraciclina utilizados como esclerosantes en 16 conejos, concluyendo que los valores en sangre luego de la exposición no serían tóxicos en humanos. Éste y otros trabajos similares descriptos más abajo nos permitieron extrapolar sus resultados referidos al paso de sustancias químicas tóxicas de la luz vesicular a la circulación sistémica, aunque si se pretende progresar con el uso del hipoclorito y formol, la comprobación deberá llevarse a cabo.

El uso del conejo como modelo animal no es quizás el más adecuado ⁽⁷⁹⁾. En el ser humano, la VB posee senos de Rokitansky-Aschoff cubiertos por epitelio que se introducen en las capas más externas, que pueden ser focos de reepitelización. El cerdo es un animal con más afinidad anatómica e histológica, y permite maniobras técnicas trasladables al humano. Pero como se demuestra en estos trabajos y en otro que mencionaremos más adelante, el conejo puede servir como primer modelo animal para demostrar que un órgano hueco con mucosa resistente puede ser eliminado, tal como en la práctica clínica ocurre exitosamente con las venas varicosas, poseedoras de un endotelio delicado.

Becker y cols. utilizaron como modelo animal al cerdo ^(16,48,63) culminando en la aplicación clínica del método ^(71,72). Introdujeron la oclusión definitiva del CC utilizando un catéter para coagulación endoluminal con radiofrecuencia. Inicialmente hicieron una colecistostomía quirúrgica en 10 animales y percutánea en 5 y aplicaron la radiofrecuencia al CC, generando su obliteración definitiva (con un seguimiento de 11 semanas) ⁽⁴⁸⁾. En un trabajo posterior, luego de tratar el CC con radiofrecuencia, en 10 animales utilizaron etanol al 95% más TDSS al 3%, en otros 10 etanol al 70% más TDSS al 1%, dejando 10 animales como control. Los animales sacrificados a las 8 semanas tenían una desaparición completa de la luz de la VB en 7 y 6 de 8 animales de los grupos problema, con erradicación completa de la mucosa en 6 y 2 animales respectivamente, demostrando un efecto mayor de la solución más concentrada. Las mediciones simultáneas de laboratorio realizadas para determinar los valores en sangre de etanol demostraron no ser tóxicas, con una leve elevación transitoria de las enzimas hepáticas ⁽¹⁶⁾. Posteriormente modificaron las características del catéter utilizado ⁽⁶³⁾. El concepto de obturar con alguna forma de energía capaz de colapsar y obstruir inmediatamente el CC es el que rescatamos cuando aplicamos láser con la misma finalidad en el grupo problema C.

Uchiyama y cols. ⁽⁶⁵⁾ en 1989 trabajaron con cerdos. Como novedad utilizaron coils en algunos de ellos para ocluir el CC, y recurrieron al lavado con acetilcisteína para eliminar el moco vesicular, para luego inyectar alcohol absoluto o polidocanol. Este último fue incapaz

de erradicar por completo la mucosa, mientras que en los casos con alcohol hubo algunos éxitos. Es interesante buscar alguna forma de aumentar la vulnerabilidad de la mucosa de la VB. Nosotros trabajamos aplicando *in vitro* en VB EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), agente quelante que debilita las uniones intercelulares, sin lograr los resultados esperados (trabajo inédito).

Cuschieri y cols. ⁽¹⁵⁾ abordaron por vía laparoscópica la VB de 11 cerdos y le colocaron un catéter, que se extrajo a las dos semanas. Transfistularmente se insertaron cálculos humanos, que fueron destruidos con pulsos electrohidráulicos. El CC se ocluyó con un catéter balón bajo guía colecistoscópica y se inyectó carbonato de sodio en una concentración de 0,33 g/ml. Dos animales murieron en el postoperatorio por posible filtración del esclerosante a la vía biliar principal y un tercero por peritonitis. La necropsia realizada a las 12-14 semanas en los cerdos sobrevivientes demostró ausencia de luz y esclerosis de la VB en 5 especímenes, concluyendo que la “colecistectomía química” percutánea es posible. En este estudio comienza a considerarse el problema de los cálculos presentes en la VB, que nosotros hemos dejado de lado para concentrarnos en el problema de la destrucción segura de la mucosa. Es de resaltar que, quizás por la excesiva causticidad del carbonato de sodio, o por la defectuosa oclusión del CC con la sonda usada, se hayan reportado muertes de los animales a causa del procedimiento.

Mahon y cols ⁽⁶⁹⁾ en 1991 desarrollaron un prepolímero de silicona para ser inyectado en la VB para envolver los cálculos y rellenarla permanentemente con la finalidad de evitar la formación de nuevos cálculos. Para probar este original y extraño concepto, experimentaron *in vitro* y en 6 conejos. A las 12 semanas la autopsia demostró una VB con la silicona sin fragmentación y mucosa normal. Es un trabajo interesante y original que no creemos que tenga aplicación clínica.

Leahy y cols. Trabajaron ⁽⁵⁶⁾ con 29 perros, accediendo a la VB por laparotomía y guiado por colecistoscopia les aplicó coagulación bipolar en el CC, y usó tetraciclina como esclerosante. Produjo la destrucción completa de la mucosa solo en los 3 animales en los que la tetraciclina se aplicó a través del catéter de la colecistostomía 15 días después de la obturación del CC, concluyendo que hay que aplicar más de una vez el esclerosante. Un tratamiento alternativo a la colecistectomía realizado en varias etapas pierde gran parte de sus hipotéticas ventajas. La intención de los autores que abordaron el tema, y por extensión la nuestra, es reducir el procedimiento a una sola sesión.

Lindberg y cols. ⁽⁵⁸⁾ intervinieron quirúrgicamente 12 cerdos. Luego de ligar el CC e introducir cálculos humanos en la VB, fueron destruidos con un litotriptor (Rotolith) y en 10 de ellos instiló alcohol absoluto, sin conseguir un solo caso exitoso de ablación. Posteriormente estudiaron el efecto de otros esclerosantes (ácido acético al 6%, solución de Carnoy, etanol más TDSS y metrizoato caliente) sobre una mucosa edematosa por la litotripsia en 32 cerdos, sin conseguir éxito completos ⁽⁵⁷⁾, lo que le llevó a la conclusión pesimista de que “la escleroterapia no puede ser considerada como un método efectivo para la “colecistectomía no quirúrgica”” ⁽³⁸⁾. Creemos que es una afirmación realista de acuerdo a sus resultados, especialmente si consideramos el contexto en que fue realizada (en los años noventa, cuando la colecistectomía laparoscópica se consolidó), pero es demasiado contundente para ser aplicable en un tema científico con muchas variables que deben ser consideradas.

Brakel y cols. ⁽⁸⁶⁾, en 1991 desarrollaron un catéter balón de triple vía para poder realizar el procedimiento de escleroterapia en un solo tiempo. El catéter balón fue colocado quirúrgicamente en 20 cerdos, y se aplicó etanol al 96% y TDSS al 3% durante 20 minutos. Concluyeron que la sonda balón es efectiva y segura para la obturación del cístico, pero la ablación vesicular no fue exitosa. Inicialmente nuestro proyecto incluía una etapa con cerdos, donde utilizaríamos este método de oclusión del CC. Pero actualmente la sonda está descatalogada y no nos resultó posible conseguirla.

Girard y cols. en 1992 utilizaron láser en dos estudios consecutivos, con la finalidad de obturar el CC ⁽⁵²⁾. Recurrió al YAG láser, cuya longitud de onda es de 2,1 micrómetros, y es absorbido por el agua intracelular, con una penetración tisular de 0,5 mm. Lograron termocoagular el conducto cístico e intentaron la escleroterapia con etanol y TDSS ⁽⁵³⁾. El procedimiento fue efectivo para obturar rápida y definitivamente el CC, pero no obtuvo buenos resultados con las sustancias esclerosantes usadas (un solo éxito sobre 10 cerdos). Éste es el primer trabajo publicado que utiliza láser, aunque solamente para obturar el CC. Nosotros aplicamos otro tipo de láser con la intención no solo de ocluir el CC, sino de destruir la mucosa de la VB.

Kannegieter y cols. ⁽⁴⁶⁾ a diferencia de otros autores evaluaron escleroterapia de la VB en presencia de litiasis que no intentaron eliminar. Para este estudio ligaron el CC de 20 cerdos, en 16 colocaron cálculos humanos. Usó etanol al 95% más ATFA al 2 M %, dejando un catéter en la VB durante el postoperatorio hasta que cesó el drenaje. Evaluaron el efecto a las 8 semanas y a los 6 meses. En el 87% de los animales sacrificados a los 6 meses se logró

la esclerosis completa, encontrándose los cálculos envueltos dentro de la VB esclerosada y fibrótica. En este interesante trabajo se consigue una VB escleroatrófica no funcionante, algo similar a lo que ocurre naturalmente en muchos pacientes que sufren de litiasis con cuadros de inflamación repetidos. Queda por conocer la historia natural alejada luego del procedimiento, determinar el destino de esos cálculos envueltos en tejido fibroso.

Bell y cols. ⁽⁴⁹⁾ probaron la oclusión endoluminal del CC con un tornillo de ácido poliglicólico reabsorbible, que colocaron quirúrgicamente en 8 cerdos, e inyectaron alcohol absoluto y TDSS. Al momento de realizar el procedimiento y en las necropsias se apreció la efectividad del tornillo para obstruir el CC, pero la solución usada permitió el crecimiento de focos de reepitelización. Un método original para ocluir el CC, y un mal resultado del tratamiento esclerosante.

Soulen y cols. ⁽⁶¹⁾ en 1994 evaluaron el efecto de 12 sustancias distintas en la vesícula biliar del cerdo *in vitro*. Llegaron a la conclusión de que el hidróxido de sodio y el peróxido de hidrógeno fueron los químicos más eficaces en la eliminación de la mucosa vesicular. Al año siguiente publicaron un trabajo en el que aplicaron hidróxido de sodio y el peróxido de hidrógeno en distintas concentraciones y secuencias en 14 cerdos, previa colocación de un tubo de colecistostomía y ligadura del CC. Aunque la luz vesicular desapareció, la mucosa no fue eliminada completamente en ningún animal. Tuvieron complicaciones: una hemorragia vesicular, una disección mural y una perforación ⁽⁶²⁾. Creemos que las sustancias usadas son bastante cáusticas y el peróxido de hidrógeno, al liberar O₂ gaseoso en un espacio cerrado puede haber contribuido las complicaciones.

En 1997, Majeed y cols. ⁽⁶⁷⁾ probaron en 55 conejos múltiples esclerosantes: Etanol + TDSS, ATFA, tetraciclina, fenol, solución de Stern (exfoliante). Observaron que el fenol al 50% destruía todas las capas de la VB durante el procedimiento. Nosotros lo utilizamos, pero en una concentración menor y como parte constitutiva del GRF. La solución de Stern seguida de la inyección de TDSS o etanol produjo mejores resultados.

En el año 2009, luego de años sin publicaciones relacionadas a la ablación no quirúrgica experimental de la VB, Lee y cols. ⁽⁶⁸⁾ retomaron el tema. Realizaron en 5 perros una colecistostomía percutánea, para obstruir el CC usaron n-butil cianoacrilato y coils. Posteriormente instilaron ácido acético al 50%, que actuó por 20 minutos, retirando el catéter a continuación. A las 8 semanas observaron una completa ablación de la mucosa, salvo en el infundíbulo, donde hallaron áreas de regeneración cercanas al sitio de taponamiento del CC.

Este primer trabajo publicado en el siglo XXI demuestra el renacimiento del interés por un método alternativo a la colecistectomía quirúrgica.

Como se ha detallado en la enumeración cronológica de estos trabajos, a pesar de la insistencia en la búsqueda de una sustancia química efectiva y confiable que produzca una mucoclasia total y definitiva la gran dispersión de los resultados demuestra que queda mucho por hacer para descartar definitivamente el concepto o hacerlo viable.

Una de nuestras propuestas es el uso de hipoclorito, que no ha sido descrito con anterioridad. Es un álcali y un oxidante indirecto, tiene una mayor penetración cáustica en los tejidos al no formar escara. Es una sustancia barata, estéril, que en casos de accidentes podría ser neutralizada con ácidos débiles. Al ser poco estable debe ser protegida de la luz y titulada antes de ser usada. En el humano se conoce su efecto sobre la mucosa esofágica (esofagitis por cáusticos) ^(82,83). La cola de fibrina ha sido usada para la oclusión de la luz vesicular y del CC con éxito ⁽⁷⁰⁾, y favorece la cicatrización de las paredes colapsadas y denudadas de la VB al impedir el retorno de la bilis desde la vía biliar principal. La ablación completa se obtuvo en 8 de 10 animales del grupo con hipoclorito, pero hubo persistencia parcial de la mucosa vesicular en 2 animales. Creemos que una variación en la concentración y tiempo de exposición podría mejorar el resultado.

La otra opción química estudiada en el presente trabajo es el GRF, por primera vez utilizada con la finalidad de eliminar la mucosa vesicular. Está compuesto por tres sustancias: colágeno (gelatina), un prepolímero con capacidad de insolubilizarse formando un gel, formaldehído (formol), un agente que genera uniones cruzadas entre el colágeno y con los tejidos, y resorcina o fenol, una sustancia resistente al agua que reacciona con las proteínas para producir un polímero insoluble ⁽⁸⁷⁾. Fue creado por Braunwald en el año 1965 como agente hemostático para operaciones hepáticas y renales, denominándolo GRF (gelatina-resorcina-formol). Es usado principalmente en cirugía cardiovascular ^(88,89). Posee gran adhesividad, resistencia a la tensión, actúa como barrera mecánica y es de lenta absorción ⁽⁹⁰⁾. Ha sido aplicado en otros procedimientos sobre humanos ^(90,91).

El GRF puede cumplir la función de necrosar la mucosa y obstruir el CC para impedir el llenado con bilis de la luz vesicular, dando tiempo a la consolidación la de fibrosis y a la desaparición del órgano. Como adhesivo es más firme y mucho más económico que la cola de fibrina. En el presente estudio, el éxito completo se obtuvo en 8 de 10 animales del grupo con GRF, pero hubo persistencia parcial de la mucosa de la VB en 2. Quizás una variación en la

concentración de formol y el tiempo de exposición podría aumentar su capacidad ablativa. El GRF fue significativamente más efectivo que la combinación de alcohol y cola de fibrina.

El tercer método de ablación que aplicamos es el láser. Hallamos 6 trabajos en la literatura en los que se empleó láser sobre la mucosa vesicular.

Girard y cols. ⁽⁵²⁾ utilizaron láser en dos estudios consecutivos, pero como vimos anteriormente solo con la finalidad de obturar el CC. Recurrió al YAG láser, cuya longitud de onda es de 2,1 micrómetros, y es absorbido por el agua intracelular, con una penetración tisular de 0,5 mm. Logró termocoagular el CC e intentó la escleroterapia de la VB con etanol y TDSS ⁽⁵³⁾. El procedimiento fue efectivo para obturar rápida y definitivamente el CC, pero no obtuvo buenos resultados con las sustancias esclerosantes usadas (un éxito sobre 10 cerdos).

Visuri y cols. ⁽⁶⁶⁾ aplicaron Er:YAG láser al epitelio de VB de perros de la pradera (animales que, como el ser humano, pueden generar litiasis vesicular) con la intención de disminuir la formación de cálculos vesiculares pero no para eliminar el órgano. Concluyen que la irradiación con láser de la mucosa vesicular reduce el índice de formación de cálculos, aunque el resultado puede ser temporal.

Los trabajos de Kleiman y cols. en animales y humanos con CO₂ láser de 50 Watts son los comparables a nuestro trabajo. En 4 cerdos simplemente ligó el cístico y aplicó posteriormente el láser para vaporizar la mucosa ⁽⁵⁴⁾. Más tarde desarrolló un procedimiento original con un acceso quirúrgico mínimo a través de la pared abdominal para abordar la VB endoluminalmente, que bautizó como “láser colecistoesclerosis colecistoscópica”. Luego de la aplicación del láser obturaron la luz vesicular con cola de fibrina, maniobra que rescatamos en el presente trabajo ^(70,77). Tuvo éxito en cuatro cerdos y en dos humanos, con resultados muy buenos, lamentablemente no presentaron grupos control y el número de casos fue escaso.

Nosotros recurrimos a un tipo de láser distinto, utilizado en flebología para producir destrucción endotelial y esclerosis de trayectos varicosos, fundamentalmente en venas safenas insuficientes, con muy buenos resultados ⁽⁹²⁾. Este láser es luz coherente a una frecuencia que es absorbida fundamentalmente por la hemoglobina (980 nm), generando calor que produce lesión tisular (fototermólisis) ⁽⁹³⁾. Durante la aplicación comprobamos una elevación de la temperatura en la superficie de la VB, pero como el procedimiento se realizó a cielo abierto, el calor no se transmitió a otros órganos abdominales, como el duodeno o colon. Si no se toman los recaudos adecuados para evitar lesiones térmicas puede haber una perforación de

los mismos, riesgo similar al observados en los intentos de “termocolecistectomía” (47,50,59,60,73,74). El uso de frecuencias absorbidas por el contenido celular de agua (1470 nm), con menor penetración tisular podría ofrecer mayor seguridad (94). No obstante no comprobamos en ningún caso perforación intraoperatoria ni postoperatoria de la VB, destacando que en 8 casos de 10 se logró la ablación completa del órgano. En los 2 restantes, es posible que por el pequeño diámetro del CC del conejo no se haya podido lograr una completa obliteración al no poder introducir la fibra óptica, si esto ocurrió es lógico pensar que hubo un reflujo temprano de bilis que sumado a la continuidad con el epitelio biliar pudo llevar a la reepitelización de una pequeña porción de la VB cercana al CC. A diferencia del grupo testigo con alcohol, no se usó cola de fibrina para colapsar la luz vesicular, confiando en la acción obliterante del láser sobre el CC.

La aplicación clínica del concepto de mucoclasia y escleroterapia de la VB se ve reflejada en varios trabajos (71-78).

Becker, Burhenne y cols (71,72) luego de los estudios experimentales arriba mencionados, en 1990 ocluyeron el CC con radiofrecuencia en 8 pacientes a los que se les había realizado una colecistostomía. Luego aplicaron alcohol 95% y TDSS al 3%, sin complicaciones, logrando la oclusión del CC y la reducción de la luz y del tamaño vesicular. Cuando la secreción de moco fue menor a 20 ml/día se retiró el drenaje de la VB. Cinco pacientes requirieron múltiples sesiones de escleroterapia. En el seguimiento hasta un promedio de 5 meses con ecografía, no hubo evidencia de formación de mucocele. En tres pacientes que tuvieron una fístula persistente con pérdida de moco, realizaron biopsias que mostraron regeneración mucosa. Los pacientes no fueron colecistectomizados por sus comorbilidades, la mayoría de las colecistostomías se indicaron por colecistitis aguda, y los cálculos fueron eliminados quirúrgica o percutáneamente antes de la escleroterapia. Los procedimientos se realizaron sin anestesia y la mayoría de ellos ambulatoriamente.

Yedlicka y cols. (73) reportaron en 1993 un caso de ablación térmica de la VB en un hombre al que previamente se le había realizado una colecistostomía percutánea por colecistitis aguda, con un tumor biliar al que se colocó un stent por considerarlo inoperable. El CC fue ocluido con electrobisturí. A la semana inyectaron lidocaína y posteriormente contraste radiológico a 100 °C dejándolo actuar 2 minutos, repitiendo el procedimiento en 4 oportunidades. El paciente no demostró dolor. A las dos semanas se repitió la técnica. El catéter se extrajo al mes, no observándose después de 2 meses luz vesicular demostrable. El paciente murió por su enfermedad de base 12 semanas después, mostrando la autopsia

destrucción mucosa completa y fibrosis. Fuse y cols. ⁽⁷⁴⁾ repitieron en 1997 el mismo procedimiento en 3 pacientes, obteniendo resultados similares.

Mazzariello y cols. en 1995 ⁽⁷⁵⁾ efectuaron el tratamiento esclerosante en 25 pacientes colecistostomizados. Previa obstrucción del CC con una sonda balón o con la punta de una sonda tipo Marion o con electrocoagulación, inyectaron alcohol puro dejándolo actuar entre 10 y 20 minutos. Las sesiones fueron repetidas 5 veces con intervalos de 48 a 72 horas. No hubo molestias, accidentes ni complicaciones. De los 20 casos seguidos ecográficamente se comprobaron 8 reducciones del tamaño de la VB, 11 muñones vesiculares y una VB normal. Asimismo, los 16 pacientes que pudieron seguir de 1 a 4 años no tuvieron problemas biliares en ese período de observación. En el año 2009 ⁽⁷⁶⁾ el mismo grupo presentó un caso de una paciente colecistostomizada por colecistitis aguda a quien se aplicó el mismo tratamiento que en los casos anteriores, pero se agregó la instilación de adhesivo quirúrgico (Tissucol) para acelerar la obliteración. El tratamiento duró dos meses, fue ambulatorio y exitoso.

En 1997 Kleiman y cols. ⁽⁷⁷⁾ aplicaron la denominada “láser-esclerosis colecistoscópica de VB” en 2 pacientes. Bajo anestesia local introdujeron en la cavidad abdominal una cánula especialmente diseñada de succión periférica para atrapar el fondo vesicular, incidirlo e introducir un endoscopio con canal de trabajo. Previa aspiración de la bilis, realizaron una colangiografía. Infiltraron el mesocisto con lidocaína por punción desde la luz vesicular, ocluyeron el CC con electrocoagulación bipolar, realizaron litotripsia mecánica y vaporizaron la mucosa con láser CO₂. Posteriormente inyectaron Tissucol en la luz de la VB, creando vacío para la adhesión de sus paredes. El primer caso debió ser convertido por problemas con la electrocoagulación, el segundo fue exitoso, con una ecografía a los 4 meses que demostró ausencia de líquido y desaparición completa de la VB.

Xu y cols. ⁽⁷⁸⁾ aplicaron el siguiente método en 34 pacientes colecistostomizados: Oclusión del CC con microondas, inyección de etanol al 95% por 30 minutos, repetido 8 veces, cada 4 horas, extracción del drenaje a las 2 semanas. El seguimiento ecográfico se realizó por 9 años, demostrando un éxito del 85,3%, desarrollando un mucocele solo 5 pacientes.

Ji y cols. ⁽⁴⁵⁾ reportaron en 1994 la ablación química de la VB por vía endoscópica en 8 pacientes. Colocaron transparietalmente un colecistoscopio a través del fondo de la VB, removiendo los cálculos y coagulando endoluminalmente el CC con microondas. Corroboraron la oclusión del mismo con una colangiografía e inyectaron etanol al 99% y

ATFA al 5%, dejándolos actuar 40 minutos. Dejaron un catéter que fue retirado a los 14 días. El tratamiento eliminó funcionalmente la VB en 6 de los 8 pacientes.

Se puede extraer como conclusión de estos trabajos clínicos que la intención de ablación no quirúrgica de la VB es factible y segura en humanos, que estaría indicada en pacientes que por comorbilidades no pueden ser colecistectomizados, que la mucosa es más resistente que la de los modelos animales de los trabajos experimentales, y que en todos los trabajos, salvo el de Kleiman y el de Ji, es un procedimiento que requiere varias sesiones para lograr su objetivo.

En el presente trabajo experimental hemos procurado retomar el concepto de ablación no quirúrgica de la VB, comenzando a transitar el camino desde lo más básico, que es obtener una sustancia con efecto mucoclásico y esclerosante realmente efectiva en combinación con un adhesivo que oblitere inicialmente la luz vesicular, en un modelo animal modesto pero accesible, incluyendo también el uso del diodo láser.

La aplicación clínica de la ablación no quirúrgica de la VB deberá tener en cuenta la resolución de la litiasis, hecho no considerado en el presente estudio. Un problema potencial de la escleroterapia vesicular es que un porcentaje no despreciable de pacientes puede albergar un cáncer de vesícula no advertido en los estudios preoperatorios (carcinoma vesicular incidental) ⁽⁸⁰⁾, y es criticable dejar una posible lesión neoplásica sin extirpar. Una manera de subsanar esta situación podría ser realizar un análisis citológico de la bilis ⁽⁸¹⁾ antes de completar el procedimiento.

Autores como Becker ⁽⁹⁵⁾, Burhenne ⁽⁹⁶⁾ y Martin ⁽⁹⁷⁾, todos ellos radiólogos que investigaron la posibilidad de realizar una ablación percutánea de la VB, a fines de la década del ochenta llegaron a expresar que la colecistectomía podría ser desplazada por este nuevo tratamiento. Pero la aparición del abordaje laparoscópico yuguló su progreso. Con espíritu crítico y con una visión de cirujanos retomamos esa inquietud, pero sin la pretensión de hacer extrapolaciones apresuradas en su aplicación clínica.

CONCLUSIONES

- En este modelo experimental, el *hipoclorito de sodio*, el *GRF* y el *diodo láser* fueron significativamente más efectivos que el etanol para eliminar la mucosa vesicular y esclerosar la VB.
- La *cola de fibrina* y el adhesivo *GRF* permiten colapsar la luz vesicular y contribuyen a evitar la reepitelización de la superficie luminal de la VB.
- Se deberá avanzar realizando trabajos con un modelo animal con una VB más cercana a la del ser humano, como el cerdo. Su tamaño permitirá ejecutar el procedimiento completo en forma percutánea.
- Será necesario estudiar los productos aquí usados en otras proporciones, cuantificar su toxicidad inmediata y alejada y eventualmente investigar otras opciones.
- Luego de más de veinte años de la introducción de la videolaparoscopia en el tratamiento de la litiasis vesicular, y a pesar de sus excelentes resultados, la inquietud por desarrollar técnicas aún menos invasivas ha tomando nuevo impulso. Existe un grupo de pacientes que por su compromiso general, comorbilidades o alguna otra razón justifican retomar el desarrollo de un intento de ablación no quirúrgica de la VB y el desarrollo de un método poco invasivo que en un solo paso elimine endoluminalmente el órgano enfermo, sin tener que recurrir a la anestesia general, ni abrir cavidades, sin disecar estructuras usando técnicas quirúrgicas complejas como el NOTES.
- No obstante el camino para llegar a ese objetivo, comenzado en los años ochenta y posteriormente discontinuado, aún no ha avanzado más allá de su fase inicial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Harris HW. Biliary System. En: Surgery. Basic Science and Clinical Evidence. Segunda Edición. Nueva York. Editores: Norton JA, Barie PS, Bollinger RR, Chang AE, Lowry SF, Mulvihill SJ, Pass HI and Thompson RW. Ed. Springer Science + Business Media. Pág. 911; 2008.
2. Fornaciari G. The Aragonese mummies of the Basilica of Saint Domenico Maggiore in Naples. *Med Secoli.* 18:843-64; 2006.
3. Munizaga J, Allison MJ, Paredes C. Cholelithiasis and cholecystitis in pre-Columbian Chileans. *Can J Biochem.* 56:1141-8; 1978.
4. Mulvihill SJ, Debas HT. History of Surgery of the Gastrointestinal Tract. En: Surgery. Basic Science and Clinical Evidence. Segunda Edición. Nueva York. Editores: Norton JA, Barie PS, Bollinger RR, Chang AE, Lowry SF, Mulvihill SJ, Pass HI and Thompson RW. Ed. Springer Science + Business Media. Pág. 747-748; 2008.
5. Beal JM. Historical perspective of gallstone disease. *Surg Gynecol Obstet.* 158:181-189; 1984.
6. De U. Evolution of cholecystectomy: A tribute to Carl August Langenbuch. *Indian J Surg.* 66:97-10; 2004.
7. Langenbuch C. Ein Fall von Exstirpation der Gallenblase wegen chronischer Cholelithiasis: Heilung. *Berliner Klin Wochenschr.* 19:725-7; 1882.
8. Reich A. Accidental injection of bile ducts with petrolatum and bismuth paste. *J Am Med Assoc.* 71:1555; 1918.
9. Mirizzi PL. La colangiografía durante las operaciones de las vías biliares. *Bol Soc Cir Buenos Aires.* 16:1133-61; 1932.
10. Mazzariello RM. A fourteen year experience with non operative extraction of retained duct stones. *World. J. Surg.* 2:447; 1978.
11. Ginat D, Saad WEA. Cholecystostomy and Transcholecystic Biliary Access. *Tech Vasc Interv Radiol.* 11:2-13; 2008.
12. Yamao K, Nakazawa S, Yoshino J, Inui K, Kanemaki N, Fujimoto M. Peroral cholecystoscopy with a shape-memorizing alloy catheter. *Endoscopy.* 27:407; 1995.
13. Salomonowitz E, Frick MP, Simons RL et al. Obliteration of the gallbladder without formal cholecystectomy: a feasibility study. *Arch Surg.* 190:725-29; 1984.
14. Getrajdman GI, O'Toole K, Longerfo P, Laffey KJ, Martin EC. Transcatheter sclerosis of the gallbladder in rabbits. A preliminary study. *Invest Radiol* 20:393-8, 1985.
15. Cuschieri A, Abd el Ghany AB, Holley MP. Successful chemical cholecistectomy a laparoscopic guided technique. *Gut.* 30:1786-94; 1989.
16. Becker CD, Quenville NF, Burhenne HJ. Gallbladder ablation through radiologic intervention: an experimental alternative to cholecystectomy. *Radiology* 171:235-40; 1989.
17. Litynski GS. Erich Muhe and the rejection of laparoscopic cholecystectomy (1985): A surgeon ahead of his time. *JLS.* 2:341-6; 1998.

18. Mouret P. Celioscopic surgery. Evolution or revolution. *Chirurgie*. 116:829-32; 1990.
19. Kleiman AS, García Poitevin OE. Colecistectomía laparoscópica en ovejas. *Rev argent cir*. 52:317-20; 1987.
20. Sain AH. Laparoscopic cholecystectomy is the current “gold standard” for the treatment of gallstone disease. *Ann Surg*. 224:689-90; 1996.
21. Paumgartner G, Pauletzki J, Sackmann M. Ursodeoxycholic acid treatment of cholesterol gallstone disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 204:27-31; 1994.
22. Carrilho-Ribeiro L, Carneiro de Moura M. Extracorporeal Shock Wave Treatment of Gallbladder Stones. En: *Basic Science, Current Diagnosis and Management*. Editores: Borzellino G, Cordiano C. Biliary Lithiasis. Primera edición. Milán. Ed. Springer-Verlag Italia. Pág. 480-485; 2008.
23. Sajid MS, Khan MA, Ray K, Cheek E, Baig MK. Needleoscopic versus laparoscopic cholecystectomy: a meta-analysis. *ANZ J Surg*. 79:437-42; 2009.
24. Langwieler TE, Nimmesgern T, Back M. Single-port access in laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc*. 23:1138-41; 2009.
25. Gurusamy KS, Samraj K, Fusai G, Davidson BR. Robot assistant for laparoscopic cholecystectomy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2009, Issue 1. Art. No.: CD006578.
26. Marescaux J, Dallemagne B, Perretta S, Wattiez A, Mutter D, Coumaros D. Surgery without scars: report of transluminal cholecystectomy in a human being. *Arch Surg*. 142:823-6; 2007.
27. Flora ED, Wilson TG, Martin IJ, O'Rourke NA, Maddern GJ. A review of natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) for intra-abdominal surgery: Experimental models, techniques, and applicability to the clinical setting. *Ann Surg*. 247:583-602, 2008.
28. Galman C, Miquel JF, Perez RM et al. Bile acid synthesis is increased in Chilean Hispanics with gallstones and in gallstone high-risk Mapuche Indians. *Gastroenterology*. 126:741-748; 2004.
29. Brasca AP, Pezzotto SM, Berli D, Villavicencio R, Fay O, Gianguzzo MP, Poletto L. Epidemiology of gallstone disease in Argentina: prevalences in the general population and European descendants. *Dig Dis Sci*. 45:2392-8; 2000.
30. Serra, CA, Martellotto G, Galli SB. Frecuencia de litiasis en 1500 autopsias. *Rev argent cir*. 61:85-8; 1991.
31. Lambou-Gianoukos S, Heller SJ. Lithogenesis and Bile Metabolism. *Surg Clin N Am*. 88:1175-94; 2008.
32. Attili AF, Carulli N, Roda E et al. Epidemiology of gallstone disease in Italy: prevalence data of the Multicenter Italian Study on Cholelithiasis (M.I.C.O.L.). *Am J Epidemiol*. 141:158-165; 1995.
33. Thijs C, Knipschild P, Leffers P. Is gallstone disease caused by obesity or by dieting? *Am J Epidemiol*. 135:274-80; 1992.
34. Volzke H, Baumeister SE, Alte D et al. Independent risk factors for gallstone formation in a region with high cholelithiasis prevalence. *Digestion*. 71:97-105; 2005.

35. Sauerland S. Epidemiology of Biliary Lithiasis. En: Basic Science, Current Diagnosis and Management. Editores: Borzellino G, Cordiano C. Biliary Lithiasis. Primera edición. Milán. Ed. Springer-Verlag Italia. Pág. 16; 2008.
36. van Sonnenberg E, Hofmann AF, Neoptolemus J, Witich GR, Princenthal RA, Wilson SW. Gallstone dissolution with Methyl-tert-butyl ether via percutaneous Cholecystostomy: Success and caveats. *AJR* 146:865-67, 1986.
37. Hofmann AF, Amelsberg A, Esch O, Schteingart CD, Lyche K, Jinich H, Vansonnenberg E, D'Agostino HB. Successful topical dissolution of cholesterol gallbladder stones using ethyl propionate. *Dig Dis Sci*. 42:1274-82; 1997.
38. Lindberg CG. Percutaneous gallbladder and urinary bladder rotational lithotripsy and a model for gallbladder sclerotherapy after lithotripsy. Clinical and experimental studies. *Acta Radiol Suppl* 383:1-20, 1993.
39. Chen YK, Nichols MT, Antillon MR. Peroral cholecystoscopy with electrohydraulic lithotripsy for treatment of symptomatic cholelithiasis in end-stage liver disease. *Gastrointest Endosc*. 67:132-5, 2008.
40. Takayama S. Percutaneous laser lithotripsy for gallbladder and common bile duct stones. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 19:135-72; 2009.
41. Zou YP, Du JD, Li WM, Xiao YQ, Xu HB, Zheng F, Huang H, Liu HR, Li HC. Gallstone recurrence after successful percutaneous cholecystolithotomy: a 10-year follow-up of 439 cases. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 6:199-203; 2007.
42. Keus F, de Jong JAF, Gooszen HG et al. Laparoscopic versus open cholecystectomy, laparoscopic versus small-incision cholecystectomy, small-incision versus open cholecystectomy for patients with symptomatic cholecystolithiasis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Issue4. Art. No.: CD006231, CD006231, CD006229, CD006229, CD004788, CD00478814. 2006.
43. Picus D, Hicks ME, Darcy MD, Vesely TM, Kleinhoffer MA, Aliperti G, Edmundowicz SA. Percutaneous cholecystolithotomy: analysis of results and complications in 58 consecutive patients. *Radiology*. 183:779-84; 1992.
44. Klimberg S, Hawkins I, Vogel SB. Percutaneous Cholecystostomy for acute cholecystitis in high-risk patients. *Am J Surg*. 153:125-9; 1987.
45. Ji ZL, Li H, Chen HR, Wang FC, Yang DT, Wang EH, Gao NR, Yang JZ. Endoscopic chemical ablation of the gallbladder. *Br J Surg*. 81:1193-94; 1994.
46. Kannegieter LS, Brandon JC, Espinoza FP, Vanson DT, Deutsch LS, Miller DP 3rd, Teplick SK. Gallbladder ablation with gallstones in situ in an animal model. *Invest Radiol*. 28:420-6; 1993.
47. Aagaard BD, Wetter LA, Montgomery CK, Gordon RL. Heat ablation of the normal gallbladder in pigs. *J Vasc Interv Radiol*. 5:331-39; 1994.
48. Becker CD, Quenville NF, Burhenne HJ. Long-term occlusion of the porcine cystic duct by means of endoluminal radio-frequency electrocoagulation. *Radiology*. 167:63-8; 1988.

49. Bell RC, Stiegmann GV, Sun J, Kim J, Durham J, Lucia Ms. Immediate cystic duct occlusion using an endoluminal absorbable polyglycolic acid screw. *Surg Endosc.* 7:173-76; 1993.
50. Coleman CC, Vennes JA, Posalaky IP, Amplatz K. Thermal ablation of the gallbladder. *Radiology.* 182:363-66; 1991.
51. Getrajdman GI, O'Toole K, Laffey KJ, Martin EC. Cystic duct occlusion and transcatheter sclerosis of the gallbladder in the rabbit. *Invest Radiol.* 21:400-3; 1986.
52. Girard MJ, Saini S, Mueller PR, Flotte TJ, Staritz M, Domankevitz Y, Ferrucci JT, Nishioka N. Percutaneous obliteration of the cystic duct with a holmium:yttrium-aluminium-garnet laser: Results of in vitro and animal experiments. *AJR.* 159:991-95; 1992.
53. Girard MJ, Saini S, Mueller PR, Lee MJ, Ribeiro RE, Ferrucci JT, Flotte TJ. Percutaneous chemical gallbladder sclerosis after laser-induced cystic duct obliteration: Results in an experimental model. *AJR.* 159:997-9; 1992.
54. Kleiman AS, Panzeri C. Láser-esclerosis experimental de vesícula biliar. *Rev argent cirug.* 61:253-54; 1991.
55. Remley KB, Cubberley DA, Watanabe AS, Nelson JA, Colby TV. Systemic absorption of gallbladder sclerosing agents in the rabbit. A preliminary study. *Invest Radiol.* 21:396-9; 1986.
56. Leahy AL, Mc Collum PT, O'Gorman S, Darzi A, Marks P, Kay E, Tanner WA, Keane FB. Cystic duct obliteration and gallbladder mucosal destruction: a feasible alternative to cholecystectomy. *Br J Surg.* 78:1321-24; 1991.
57. Lindberg CG, Lundstedt C, Jeppsson B, Stenram U, Stridbeck H. Sclerotherapy of edematous gallbladders with different agents. An experimental study in pigs. *Acta Radiol.* 34:143-7; 1993.
58. Lindberg CG, Lundstedt C, Jeppsson B, Stenram U, Stridbeck H. Sclero-therapy for ablation of the gallbladder after gallstone lithotripsy with a mechanical lithotripter. An experimental study in pigs on the effect of absolute ethanol on edematous gallbladder wall. *Acta Radiol.* 32:521-3; 1991.
59. McGahan JP, Brock JM, Griffey SM, Browning P. A new method for thermocholecystectomy. Initial experience and comparison with other techniques. *Invest Radiol.* 11:947-53; 1992.
60. McGahan JP, Wisner E, Griffey SM, Brock JM, Browning P. Refinement of a technique for thermocholecystectomy in an animal model. *Invest Radiol.* 29:355-60; 1994.
61. Soulen MC, Sokol MC, Sullivan KL. Chemical ablation of the gallbladder: Evaluation of multiple agents in vitro. *J Vasc Interv Radiol.* 5:765-69; 1994.
62. Soulen MC, Sullivan KL. Chemical ablation of the gallbladder: Is it feasible?. *J Vasc Interv Radiol.* 6:553-58; 1995.
63. Becker CD, Jameson M, Fache JS, Burhenne HJ. Catheter for endoluminal bipolar electrocoagulation. *Radiology.* 170:561-2; 1989.
64. Ji ZL, Chen HR, Lei RQ, Yang JZ, Huang MH. Cystic duct occlusion by microwave tissue coagulator in rabbits. *J R Coll Surg Edinb.* 36:395-8; 1991.

65. Uchiyama N, Stridbeck H, Stenram U. Chemical sclerosis of the gallbladder. An experimental study in pigs of the effect of absolute ethanol and polidocanol on gallbladder epithelium. *Acta Radiol.* 30:427-31; 1989.
66. Visuri SR, Prystowsky JB, Walsh JT Jr. Er:YAG laser ablation of prairie dog gallbladder epithelium for the prevention of gallstones. *Lasers Surg Med.* 15:358-63; 1994.
67. Majeed AW, Reed MW, Stephenson TJ, Johnson AG. Chemical ablation of the gallbladder. *Br J Surg.* 84: 638-41; 1997.
68. Lee JH, Won JH, Bae JI, Kim JH, Lee HS, Jung SM. Chemical ablation of the gallbladder with acetic acid. *J Vasc Interv Radiol.* 20:1471-6; 2009.
69. Mahon TG, Wright KC, Armeniades CD. Injection of a silicone prepolymer system into the gallbladder of rabbits. *Invest Radiol.* 26:902-5; 1991.
70. Kleiman AS et al. Láser colecistoesclerosis colecistoscópica: Estudio de factibilidad, efectividad y seguridad en un modelo experimental vivo. *Rev argent cir.* 80:214-17; 2001.
71. Becker CD, Burhenne HJ. Ablation of the cystic duct and the gallbladder. Experimental basis and initial clinical observations. *Radiol Clin North Am.* 28:1277-87; 1990.
72. Becker CD, Fache JS, Malone DE, Stoller JL, Burhenne HJ. Ablation of the cystic duct and gallbladder: Clinical observations. *Radiology.* 176:687-90; 1990.
73. Yedlicka JW Jr, Coleman CC, Peterson C, Bjarnason H, Hunter DW, Castaneda-Zuniga WR, Amplatz K. Thermal ablation of the gallbladder. *J Vasc Interv Radiol.* 4:367-70; 1993.
74. Fuse A, Hirai I, Kuzu H, Ishiyama S, Urayama M, Igarashi Y, Tsukamoto M. Three cases of thermal ablation of the gallbladder. *The Japanese journal of gastroenterological surgery.* 30:2327-31; 1997.
75. Mazzariello R, Novas OL, Montes de Oca I. Tratamiento esclerosante de la vesícula biliar posterior a colecistostomía. *Rev argent de cirug.* 73:215-20; 1997.
76. Mazzariello R, Novas OL, Costanzo H. Colecisto quimio esclerosis. *Rev arg cirug.* 96:177-79; 2009.
77. Kleiman AS, Cancel M, Plasenzotti N, Postiglioni L, Panzeri C, Sdrigotti C, Marottoli E, Ferrari S. Láser-esclerosis colecistoscópica de vesícula biliar. Informe preliminar. *Rev argent cirug.* 73:131-32; 1997.
78. Xu Z, Wang L, Zhang N, Ling X, Hou C, Zhou X. Chemical ablation of the gallbladder: clinical application and long-term observations. *Surg Endosc.* 19:693-6; 2005.
79. Hall RC, Inman BC, Chen TB, Sobat WS. Gallbladder ablation: Need for a better model. *Radiology.* 173:578-80; 1989.
80. Kim JH, Kim WH, Kim JH, Yoo BM, Kim MW. Unsuspected gallbladder cancer diagnosed after laparoscopic cholecystectomy: Focus on acute cholecystitis. *World J Surg.* 34:114-20; 2010.
81. Ishikawa O et al. The usefulness of saline-irrigated bile for the intraoperative cytology diagnosis of tumors and tumorlike lesions of the gallbladder. *Acta Cytol.* 32:475-81; 1988.

82. Arévalo-Silva C, Eliashar R, Wohlgelernter J, Elidan J, Gross M. Ingestion of caustic substances: A 15-year experience. *Laryngoscope*. 116:1422-6; 2006.
83. Riffat F, Cheng A. Pediatric caustic ingestion: 50 consecutive cases and a review of the literature. *Dis Esophagus*. 22:89-94; 2009.
84. Picus D. Percutaneous gallbladder intervention. *Radiology*. 176:5-6; 1990.
85. Sandblom P, Mirkovitch V, Gardiol D. The healing of liver wounds. *Ann of Surg*. 184:679; 1976.
86. Brakel K, Laméris JS, Vergunst H, Ten Kate FJ, Nijs HG, Terpstra OT. Sclerotherapy of the gallbladder in pigs. Development of a balloon catheter for a single-step procedure. *Invest Radiol*. 26:804-9, 1991.
87. Witter K, Tonar Z, Matejka VM, Martinca T, Jonák M, Rokosný S, Pirk J. Tissue reaction to three different types of tissue glues in an experimental aorta dissection model: A quantitative approach. *Histochem Cell Biol*. 133:241-59; 2010
88. Kuniyama T, Iizuka K, Sasaki S, Shiiya N, Sata F, Matsui Y. Optimal proportions of gelatin-resorcin-formalin components in aortic surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*. 36:962-6; 2009.
89. Shiono M, Hata M, Sezai A, Niino T, Yagi S, Negishi N. Late results of gelatin-resorcin-formalin glue-aided repair in acute type A aortic dissection. *Artif Organs*. 30:962-5; 2006.
90. Jain SK, Vindal A. Gelatin-resorcin-formalin (GRF) tissue glue as a novel technique for fixing prosthetic mesh in open hernia repair. *Hernia*. 13:299-304; 2009.
91. Rivoire HC, Fagundes DJ. Surgical adhesives and tubal sterilization: An experimental study. *J Obstet Gynaecol Res*. 34:218-27; 2008.
92. Johnson CM, McLafferty RB. Endovenous laser ablation of varicose veins: Review of current technologies and clinical outcome. *Vascular*. 15:250-4; 2007.
93. Heger M, Bezemer R, Huertas-Pérez JF, Dekker H, Beek JF. Endovascular laser-tissue interactions redefined: Shining light on novel windows of therapeutic opportunity beyond selective photothermolysis. *Photomed Laser Surg*. 28:569-72; 2010.
94. Pannier F, Rabe E, Maurins U. First results with a new 1470-nm diode laser for endovenous ablation of incompetent saphenous veins. *Phlebology*. 24:26-30; 2009.
95. Becker GJ, Kopecky KK. Can the newer interventional procedures replace cholecystectomy for cholecystolithiasis? The potential role of percutaneous cystic duct ablation. *Radiology*. 167:275-9; 1988.
96. Burhenne HJ. Can the newer interventional procedures replace cholecystectomy for cholecystolithiasis? *Radiology*. 170:574-5; 1989.
97. Martin EC. Radiologic ablation of the gallbladder: An alternative to cholecystectomy in the twenty-first century. *Hepatology*. 11:1084-6; 1990.

ANEXOS



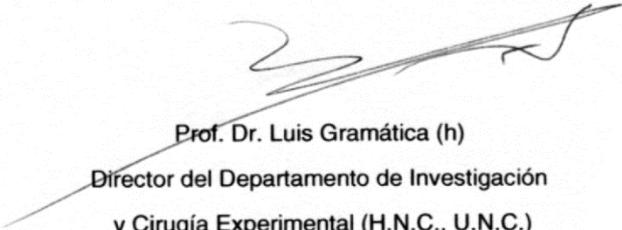
Unidad Hospitalaria de Cirugía N° 1
Hospital Nacional de Clínicas
Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Nacional de Córdoba



La autoridad que suscribe, Director del **Departamento de Investigación y Cirugía Experimental** del **Hospital Nacional de Clínicas** de la **Facultad de Ciencias Médicas** de la **Universidad Nacional de Córdoba**,

Certifica: Que el Sr. Méd. **Rafael José Jover Clos** ha realizado en esta Institución el trabajo de investigación correspondiente a su **Tesis Doctoral** "MUCOCLASIA Y ESCLEROSIS DE LA VESÍCULA BILIAR. ESTUDIO EXPERIMENTAL DE FACTIBILIDAD".

A solicitud del interesado y para ser presentado ante la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba, se extiende el presente certificado en la Ciudad de Córdoba el día 24 de enero de 2012.



Prof. Dr. Luis Gramática (h)

Director del Departamento de Investigación
y Cirugía Experimental (H.N.C., U.N.C.)



Original

Ablación con láser de la vesícula biliar en un modelo animal

Rafael José Jover Clos^{a,*}, Germán Oscar Javurek^a, Juan Pablo Álamo^a,
María Elisa Dionisio de Cabalier^b, Héctor Faustino Bustos^c y Luis Gramática^d

^aUnidad Hospitalaria de Cirugía n.º 1, Hospital Nacional de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, República Argentina

^bCátedra de Patología n.º 1, Hospital Nacional de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, República Argentina

^cCátedra de Radiología n.º 1, Hospital Nacional de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, República Argentina

^dUnidad Hospitalaria de Cirugía n.º 2, Hospital Nacional de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, República Argentina

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 15 de junio de 2011

Aceptado el 3 de octubre de 2011

On-line el 14 de diciembre de 2011

Palabras clave:

Vesícula biliar

Láser

Ablación

RESUMEN

Introducción: En los años ochenta comenzaron los intentos para eliminar la vesícula biliar de manera no quirúrgica, aplicando químicos, calor o láser para eliminar su mucosa y reducirla a una cicatriz inocua. El objetivo de este trabajo es determinar si con la aplicación de láser de diodo se puede realizar una ablación completa de este órgano.

Material y métodos: Se dividieron 30 conejos en tres grupos de 10 animales. Se accedió quirúrgicamente a la vesícula biliar, y se aplicó láser diodo de 980 nm endoluminalmente a través de una fibra óptica hasta lograr su retracción. En uno de los grupos controles se usó etanol como esclerosante más cola de fibrina para obturar la luz vesicular y en el restante solución fisiológica. A los 65 días se sacrificaron los animales y se observó el resultado del procedimiento macroscópicamente e histológicamente evaluando la presencia de luz vesicular remanente, la fibrosis, y áreas de reepitelización. **Análisis estadístico:** test de Fisher.

Resultados: Ocho de las vesículas tratadas con láser desaparecieron dejando una pequeña cicatriz subhepática. No hubo complicaciones intra- ni postoperatorias. En el grupo del etanol el resultado fue exitoso solo en un caso, con solución fisiológica no hubo ablación. La comparación de los resultados demostró una diferencia significativa favorable al grupo tratado con láser en comparación con el de etanol más cola de fibrina ($p < 0,0055$) y el de solución fisiológica ($p < 0,0007$).

Conclusiones: En este modelo experimental fue posible la ablación de la vesícula biliar usando láser de diodo.

© 2011 AEC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: joverclos@hotmail.com (R.J. Jover Clos).

0009-739X/\$ - see front matter © 2011 AEC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

doi:10.1016/j.ciresp.2011.10.001

Gallbladder ablation with a laser in an animal model

A B S T R A C T

Keywords:
Gallbladder
Laser
Ablation

Introduction: Attempts to remove the gallbladder by non-surgical means began in the 1980's, by applying chemicals, heat or laser to remove its mucosa and reduce it to an innocuous scar. The aim of this work is to determine whether complete ablation of this organ is possible using total ablation by applying a diode laser.

Material and methods: Thirty rabbits were divided into 3 groups of 10 animals. The gallbladder was surgically accessed and a 980 nm diode laser was applied endoluminally using fibre optics until it shrunk. Ethanol was used as a sclerosing agent plus a fibrin tail to seal the gallbladder lumen in one of the control groups, and a physiological solution was used in the rest. The animals were slaughtered at 65 days and the results of the procedure were observed macroscopically and histologically, evaluating the remains of the gallbladder lumen, fibrosis, and areas of re-epithelialisation. Statistical analysis was made using the Fisher test. **Results:** Eight of the gallbladders treated by laser disappeared leaving a small sub-hepatic scar. There were no complications during or after surgery. The results were successful in only one case in the ethanol group, and there was no ablation with physiological solution. The comparison of the results showed a significant positive difference in the group treated with laser compared to those with ethanol plus fibrin tail ($P < .0055$) and the physiological solution ($P < .0007$).

Conclusions: Ablation of the gallbladder using a diode laser was possible in this experimental model.

© 2011 AEC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La ablación no quirúrgica de la vesícula biliar (VB) comenzó a ensayarse en la década de los ochenta del siglo pasado¹. Trabajos experimentales^{2,3} y clínicos⁴ intentaron la mucoclasia y posterior esclerosis empleando químicos^{3,4}, calor⁵ y láser⁶⁻¹¹.

Kleiman usó un láser de CO₂ para vaporizar la mucosa vesicular⁶ desarrollando posteriormente un procedimiento que denominó «láser colecistoesclerosis colecistoscópica»^{7,8}. Girard empleó YAG láser para obturar el conducto cístico^{9,10}. Visuri aplicó Er:YAG láser al epitelio de VB de perros de la pradera¹¹.

El intento de la ablación no quirúrgica de la VB quedó relegado con la aparición de la colecistectomía videolaparoscópica, que se transformó en el gold standard del manejo de la litiasis vesicular¹². En años recientes se ha retomado la búsqueda de procedimientos aún menos invasivos, por ejemplo el NOTES¹³. El concepto técnico ideal implica un método que no necesite recurrir a la anestesia general, que se pueda realizar ambulatoriamente, que no dañe el manto musculoesquelético abdominal y por ende no genere dolor, alteraciones estéticas ni restricciones físicas postoperatorias¹⁴.

En el presente trabajo estudiamos la acción del diodo láser de 980 nanómetros sobre la VB del conejo, que es el empleado para el tratamiento endoluminal de las venas varicosas.

Material y métodos

Treinta conejos neozelandeses macho de 3 a 4 kg, de 4 meses de edad fueron utilizados en el presente trabajo, distribuidos

en tres grupos de diez animales cada uno. El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética del Hospital Nacional de Clínicas.

Todos los animales fueron anestesiados con ketamina (30 mg/kg) y diazepam (3 mg/kg) intramuscular más infiltración de la pared con lidocaína al 2%. Se usó cefalotina IM en dosis de 20 mg/kg como profilaxis antibiótica. Se accedió a la cavidad abdominal por una incisión subcostal. El conducto cístico fue disecado y ocluido con un clamp vascular delicada. La VB se punccionó con Abbocath N° 18 y se aspiró la bilis.

En el grupo tratado con láser se introdujo la fibra óptica de 600 micrones. El láser usado fue el de diodo In Ga As P de 980 nm (Novadiode 980 Synus Laser de Orilight Laser, Argentina) (fig. 1). El mismo se aplicó en la desembocadura del cístico y posteriormente a lo largo de la vesícula con pulsos de un segundo a una potencia de 7 Watts. Se repitieron los pulsos hasta lograr el colapso de la VB (fig. 2).

A un segundo grupo se le inyectó etanol al 95% hasta llenar la vesícula, aspirando el contenido a los 10 minutos y se lavó con solución fisiológica. Posteriormente se inyectó cola de fibrina (Tissuco[®] 0,5) y se aspiró para colapsar la vesícula. Se extrajo el clamp. Se usó este grupo como control debido a que en la mayor parte de los trabajos de escleroterapia de la VB se utiliza alcohol como esclerosante.

Al tercer grupo control se le inyectó en la VB solución fisiológica, que luego se aspiró. Se cerró el orificio con una jareta de polipropileno 7/0.

El cierre de la pared abdominal se realizó con surget de poligactina (Vicryl 2/0) y la piel con surget del mismo tipo de hilo. El procedimiento duró en todos los grupos un promedio de 35 minutos. Se controló la evolución postoperatoria. A los 65 días se sacrificaron los animales (tiempo estimado como suficiente para comprobar si se produjo la mucoclasia



Figura 1 - Aparato utilizado: láser diodo In Ga As P de 980 nm (Novadiode 980 Synus Laser de Orlight Laser, Argentina).

completa con posterior fibrosis y desaparición de la luz vesicular), usando diazepam (5 mg/kg) IM para sedación y posterior inyección EV de pentobarbital sódico (200 mg/kg). Se extrajo la VB, el tejido hepático adyacente y la vía biliar principal para su estudio histológico.

Estudio anatomopatológico: macroscopia de la pieza operatoria. Estudio microscópico con coloración de hematoxilina eosina. Evaluación de la fibrosis producida, búsqueda de quistes mucinosos, áreas de reepitelización y de lesiones en la mucosa de la vía biliar principal.

Análisis estadístico: test de Fisher comparando el grupo problema con los dos testigos. Se consideró significativo un $p < 0,05$. Software utilizado: GraphPad Prism 5.0.3 (GraphPad Software, Inc., California, USA).

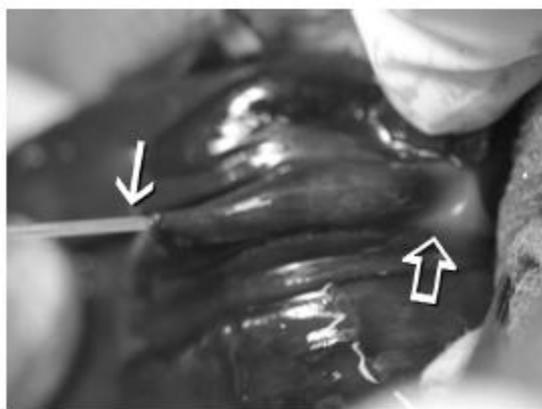


Figura 2 - La fibra del láser (flecha blanca delgada) introducida en la vesícula biliar. La flecha gruesa indica el punto donde se comienza la aplicación del láser, con la luz guía roja visible.

Resultados

No hubo muertes por anestesia o en el postoperatorio. Los animales evolucionaron bien, perdiendo peso los dos primeros días, y a lo largo del mes siguiente se registró una actividad normal y aumento constante de peso, hallándose todos los animales en óptimo estado al momento de ser sacrificados. La cavidad presentó en algunos casos de los tres grupos adherencias laxas. No se apreció lesión macroscópica ni microscópica en el hígado que rodea la VB ni en la vía biliar principal. Hubo una eventración en el grupo en el que se usó alcohol.

Ocho de las vesículas tratadas con láser desaparecieron dejando una pequeña cicatriz subhepática (figs. 3-5). En estos casos el estudio histológico halló la VB reemplazada por tejido fibroso, sin vestigios de células epiteliales. En los 2 casos restantes el infundíbulo siguió patente a lo largo de 2 a 3 mm, con epitelio viable y contenido biliar, resultando esclerosado solo el fondo y cuerpo.

En el grupo tratado con etanol el procedimiento fue exitoso en un animal, en 5 casos quedaron quistes de retención debido a mucosa remanente vital con capacidad secretora y en 4 la ablación fue incompleta quedando un resto vesicular con bilis. El grupo con solución fisiológica mostró solo adherencias en la zona de la punción y cierre, con vesículas de paredes normales.

El análisis estadístico de los resultados demostró una diferencia significativa favorable al grupo tratado con láser en comparación con los testigos: solución fisiológica ($p < 0,0007$) y etanol más cola de fibrina ($p < 0,0055$).

Discusión

Destruir la mucosa vesicular es difícil, ya que es muy resistente y tiene gran capacidad de regeneración a partir de epitelio vital remanente o por la continuidad con la mucosa del cístico². Cuando la mucoclasia es incompleta, las células epiteliales se reproducen y terminan con la restitución de la mucosa, o con la formación de nidos de epitelio que generan

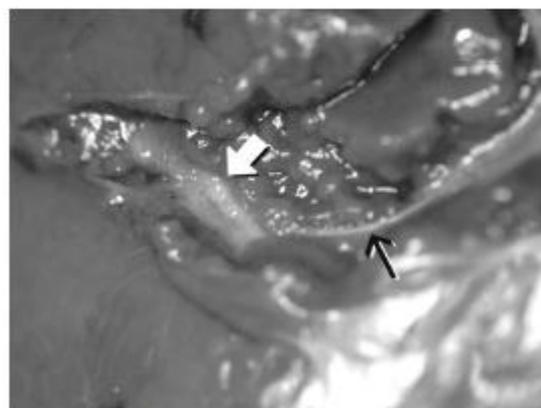


Figura 3 - La flecha blanca muestra la cicatriz en donde se hallaba la vesícula biliar, y la flecha negra delgada la vía biliar principal.

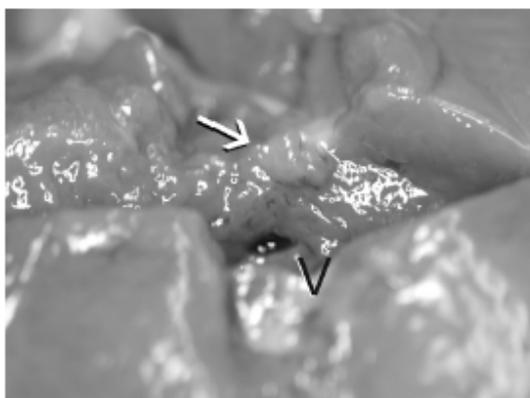


Figura 4 - En un corte transversal de la cicatriz y del hígado, se aprecia la falta de luz (flecha blanca). La letra V indica una vena suprahepática constante cercana al lecho vesicular.

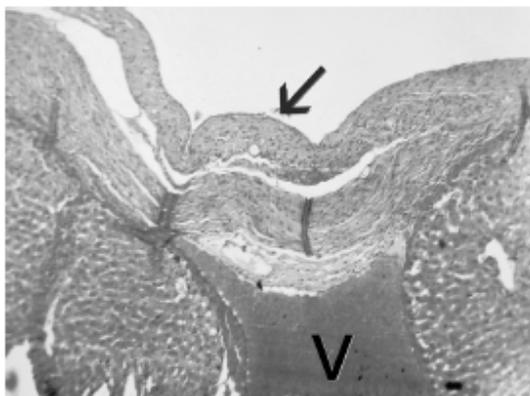


Figura 5 - Corte histológico (hematoxilina eosina, 40x). La flecha indica el tejido fibroso, sin células epiteliales (la luz es un artefacto de técnica). La V marca una vena suprahepática.

quistes de contenido mucoso. En la VB del ser humano, con senos de Aschoff-Rokitansky que se introducen en las capas más externas, la posibilidad de dejar células viables es mayor¹⁵. A pesar de que la VB del conejo no es igual a la vesícula humana, este animal ha sido usado como modelo en varias publicaciones^{1,2,16}.

Hallamos 6 trabajos en la literatura en los que se empleó láser sobre la mucosa vesicular⁶⁻¹¹.

Girard utilizó láser en dos estudios consecutivos, pero solo con la finalidad de obtener el conducto cístico⁹. Recurrió al YAG láser, cuya longitud de onda es de 2,1 micrómetros, y es absorbido por el agua intracelular, con una penetración tisular de 0,5 mm. Logró termocoagular el conducto cístico e intentó la escleroterapia con etanol y tetradecilsulfato de sodio¹⁰. El procedimiento fue efectivo para obtener rípida y definitivamente el conducto cístico, pero no obtuvo buenos resultados con las sustancias esclerosantes usadas (solo un éxito sobre 10 cerdos).

Visuri aplicó Er:YAG láser al epitelio de VB de perros de la pradera (animales que, como el ser humano, pueden generar litiasis vesicular) con la intención de disminuir la formación de cálculos vesiculares¹¹, no para eliminar el órgano.

Los trabajos de Kleiman en animales y humanos con CO₂ láser de 50 Watts son los únicos comparables al presente. En 4 cerdos primero ligó el cístico y aplicó posteriormente láser para vaporizar la mucosa⁶. Más tarde desarrolló un procedimiento original con un acceso quirúrgico mínimo a través de la pared abdominal para abordar la VB endoluminalmente («láser colecisto-esclerosis colecistoscópica»). Luego de la aplicación del láser obturó la luz vesicular con cola de fibrina, maniobra que rescatamos en el presente trabajo^{7,8}. Tuvo éxito en cuatro cerdos y en dos humanos, con resultados muy buenos, pero no presentó grupos control y el número de casos fue exiguo.

Nosotros recurrimos a un tipo de láser distinto, utilizado con buenos resultados en flebología para generar destrucción endotelial y esclerosis de trayectos varicosos, fundamentalmente en venas safenas insuficientes¹⁷. Este láser es luz coherente a una frecuencia que es absorbida fundamentalmente por la hemoglobina (980 nm), generando calor que produce lesión tisular (fototermólisis)¹⁸. Durante la aplicación comprobamos una elevación de la temperatura en la superficie de la VB, pero como el procedimiento se realizó a cielo abierto, el calor no se transmitió a otros órganos abdominales, como el duodeno o colon, donde quizás podría producir lesiones térmicas que llevaran a una perforación de los mismos, riesgo similar al observado en los intentos de «termocolecistectomía»⁵. El uso de frecuencias absorbidas por el contenido celular de agua (1.470 nm), con menor penetración tisular podría ofrecer mayor seguridad¹⁹. No comprobamos en ningún caso perforación intraoperatoria ni postoperatoria de la VB, destacando que en 8 casos de 10 se logró la ablación completa del órgano. En los 2 restantes, es posible que por el pequeño diámetro del cístico del conejo no se haya podido lograr una completa obliteración al no poder introducir la fibra óptica, lo que permitió un reflujo temprano de bilis y continuidad con el epitelio biliar, que llevó a la reepitelización de una pequeña porción de la VB cercana al cístico. A diferencia del grupo testigo con alcohol, no se usó cola de fibrina para colapsar la luz vesicular, confiando en la acción obliterante del láser sobre el conducto cístico.

La aplicación clínica de la ablación no quirúrgica de la VB deberá tener en cuenta la resolución de la litiasis. Los cálculos presentes en la VB se pueden disolver usando fármacos por vía oral (ácido ursodesoxicólico)²⁰ o recurriendo a solventes de contacto muy eficientes, como el metil tert-butil éter (MTBE)²¹ o el etil propionato²². También pueden fragmentarse o destruirse mecánicamente por ondas de choque externas (litotripsia extracorpórea)²³, con litotriptores mecánicos²⁴, por ondas electrohidráulicas transmitidas por contacto directo con los cálculos²⁵ o con láser²⁶. Incluso hay un estudio que deja los cálculos *in situ*²⁷ durante el tratamiento mucocástico. La eliminación de los cálculos no ha sido tenida en cuenta en el presente trabajo.

Un problema potencial de la escleroterapia vesicular es que un porcentaje no despreciable de pacientes puede albergar un cáncer de vesícula no advertido en los estudios preoperatorios (carcinoma vesicular incidental)²⁸, y es criticable dejar una posible lesión neoplásica sin extirpar. Una manera de

subsancar esta situación podría ser el análisis citológico de la bilis²⁹ antes de completar el procedimiento.

En este modelo experimental, el uso de diodo láser para eliminar la mucosa vesicular y lograr la esclerosis fue efectivo y seguro. No obstante se deberá avanzar realizando trabajos con un modelo animal con una VB más cercana a la del ser humano, como el cerdo, que por su tamaño permitirá ejecutar el procedimiento percutáneo completo. El presente estudio solo pretende, como paso previo, observar el efecto de un tipo de láser sobre la mucosa vesicular sana de un animal pequeño.

Luego de más de veinte años de la introducción de la videolaparoscopia en el tratamiento de la litiasis vesicular, y a pesar de sus excelentes resultados, la inquietud por desarrollar técnicas aún menos invasivas ha tomando nuevo impulso. Puede ser la oportunidad de retomar el intento de ablación no quirúrgica de la VB e intentar desarrollar un método poco invasivo que en un solo paso elimine endoluminalmente el órgano enfermo, sin tener que recurrir a la anestesia general, ni abrir cavidades, sin disecar estructuras usando técnicas quirúrgicas complejas como el NOTES. No obstante el camino para llegar a este objetivo, comenzado en los años ochenta e interrumpido, aún no ha avanzado más allá de su fase inicial

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Salomonowitz E, Frick MP, Simons RL, O'Leary JF, Lund G, Cragg AH, et al. Obliteration of the gallbladder without formal cholecystectomy: a feasibility study. *Arch Surg*. 1984;119:725-9.
- Getrajdman GI, O'Toole K, Longfero P, Laffey KJ, Martin EC. Transcatheter sclerosis of the gallbladder in rabbits. A preliminary study. *Invest Radiol*. 1985;20:393-8.
- Mazzariello R, Novas OL, Montes de Oca I. Tratamiento esclerosante de la vesícula biliar posterior a colecistostomía. *Rev Argent Cirug*. 1987;73:215-20.
- Xu Z, Wang L, Zhang N, Ling X, Hou C, Zhou X. Chemical ablation of the gallbladder: clinical application and long-term observations. *Surg Endosc*. 2005;19:693-6.
- Yedlicka Jr JW, Coleman CC, Peterson C, Bjamason H, Hunter DW, Castaneda-Zuniga WR, et al. Thermal ablation of the gallbladder. *J Vasc Interv Radiol*. 1993;4:367-70.
- Kleiman AS, Panzeri C. Láser-esclerosis experimental de vesícula biliar. *Rev Argent Cirug*. 1991;61:253-4.
- Kleiman AS, Harraca J, Gallegos J, Cancela M, Díez G, Sdrigotti C, et al. Láser-colecistoesclerosis colecistoscópica: estudio de factibilidad, efectividad y seguridad en un modelo experimental vivo. *Rev Argent Cir*. 2001;80:214-7.
- Kleiman AS, Cancel M, Plasenzotti N, Postiglioni L, Panzeri C, Sdrigotti C, et al. Láser-esclerosis colecistoscópica de vesícula biliar. Informe preliminar. *Rev Argent Cirug*. 1997;73:131-2.
- Girard MJ, Saini S, Mueller PR, Flotte TJ, Staritz M, Domankovitz Y, et al. Percutaneous obliteration of the cystic duct with a holmium:yttrium-aluminum-garnet laser: Results of in vitro and animal experiments. *Am J Roentgenol*. 1992;159:991-5.
- Girard MJ, Saini S, Mueller PR, Lee MJ, Ribeiro RE, Ferrucci JT, et al. Percutaneous chemical gallbladder sclerosis after laser-induced cystic duct obliteration: Results in an experimental model. *Am J Roentgenol*. 1992;159:997-9.
- Visuri SR, Prystowsky JB, Walsh Jr JT. Er:YAG laser ablation of prairie dog gallbladder epithelium for the prevention of gallstones. *Lasers Surg Med*. 1994;15:358-63.
- Brandon JC, Velez MA, Teplick SK, Mueller PR, Rattner DW, Broadwater Jr JR, et al. Laparoscopic cholecystectomy: evolution, early results, and impact on nonsurgical gallstone therapies. *Am J Roentgenol*. 1991;157:235-9.
- Marescaux J, Dallemagne B, Ferretta S, Wattiez A, Mutter D, Coumaros D. Surgery without scars: report of transluminal cholecystectomy in a human being. *Arch Surg*. 2007;142:823-6.
- Becker CD, Fache JS, Malone DE, Stoller JL, Burhenne HJ. Ablation of the cystic duct and gallbladder: Clinical observations. *Radiology*. 1990;176:687-90.
- Hall RC, Inman BC, Chen TB, Sobat WS. Gallbladder ablation: need for a better model. *Radiology*. 1989;173:578-80.
- Majeed AW, Reed MW, Stephenson TJ, Johnson AG. Chemical ablation of the gallbladder. *Br J Surg*. 1997;84:638-41.
- Johnson CM, McLafferty RB. Endovenous laser ablation of varicose veins: Review of current technologies and clinical outcome. *Vascular*. 2007;15:250-4.
- Heger M, Bezemer R, Huertas-Pérez JF, Dekker H, Beek JF. Endovascular laser-tissue interactions redefined: Shining light on novel windows of therapeutic opportunity beyond selective photothermolysis. *Photomed Laser Surg*. 2010;28:569-72.
- Pannier F, Rabe E, Maurins U. First results with a new 1470-nm diode laser for endovenous ablation of incompetent saphenous veins. *Phlebology*. 2009;24:26-30.
- Baumgartner G, Pauletzki J, Sackmann M. Ursodeoxycholic acid treatment of cholesterol gallstone disease. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1994;204:27-31.
- van Sonnenberg E, Hofmann AF, Neoptolemas J, Witich GR, Princenthal RA, Wilson SW. Gallstone dissolution with Methyl-tert-butyl ether via percutaneous cholecystostomy: Success and caveats. *AJR*. 1986;146:865-7.
- Hofmann AF, Amelsberg A, Esch O, Schteingart CD, Lyche K, Jirich H, et al. Successful topical dissolution of cholesterol gallbladder stones using ethyl propionate. *Dig Dis Sci*. 1997;42:1274-82.
- Fromm H. ESWL: a method on retreat? I. Extracorporeal shock-wave lithotripsy (ESWL) plays an important role in the treatment of gallbladder stones. *Endoscopy*. 1992;24:271-2.
- Lindberg CG. Percutaneous gallbladder and urinary bladder rotational lithotripsy and a model for gallbladder sclerotherapy after lithotripsy. *Clinical and experimental studies. Acta Radiol Suppl*. 1993;383:1-20.
- Chen YK, Nichols MT, Antillon MR. Percutaneous cholecystoscopy with electrohydraulic lithotripsy for treatment of symptomatic cholelithiasis in end-stage liver disease. *Gastrointest Endosc*. 2008;67:132-5.
- Takayama S. Percutaneous laser lithotripsy for gallbladder and common bile duct stones. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2009;19:135-7.
- Kannegleiter LS, Brandon JC, Espinoza FF, Vanson DT, Deutsch LS, Müller 3rd DP, et al. Gallbladder ablation with gallstones in situ in an animal model. *Invest Radiol*. 1993;28:420-6.
- Kim JH, Kim WH, Kim JH, Yoo BM, Kim MW. Unsuspected gallbladder cancer diagnosed after laparoscopic cholecystectomy: focus on acute cholecystitis. *World J Surg*. 2010;34:114-20.
- Ishikawa O, Ohhigashi H, Sasaki Y, Imaoka S, Iwanaga T, Wada A, et al. The usefulness of saline-irrigated bile for the intraoperative cytology diagnosis of tumors and tumorlike lesions of the gallbladder. *Acta Cytol*. 1988;32:475-81.

ABLACIÓN QUÍMICA DE LA VESÍCULA BILIAR CON HIPOCLORITO DE SODIO EN UN MODELO ANIMAL.

CHEMICAL ABLATION OF THE GALLBLADDER WITH SODIUM HYPOCHLORITE IN AN ANIMAL MODEL

Rafael J. Jover Clos*, Juan P. Álamo*, Mónica Matsuzaki**, M E. Dionisio de Cabalier**, Héctor F. Bustos***, Luis Gramatica****

Resumen

Antecedentes: El tratamiento actual de la litiasis vesicular es la colecistectomía. Pero han habido intentos de eliminar la vesícula biliar sin recurrir a la cirugía. Para ello se han usado sustancias químicas, calor y láser para destruir la mucosa y generar la esclerosis del órgano.

Objetivos: Se propone el uso de hipoclorito de sodio para lograr la mucoclasia vesicular y posterior esclerosis, y la cola de fibrina para obliteración de la luz vesicular.

Materiales y métodos: Se dividieron 30 conejos neozelandeses en tres grupos de 10. Se accedió quirúrgicamente a la vesícula biliar y se inyectó hipoclorito de sodio, y posteriormente cola de fibrina para tapar la comunicación con el cístico y colapsar las paredes vesiculares. En los grupos controles se usó etanol más cola de fibrina y solución fisiológica. A los 65 días se sacrificaron los animales y se observó el resultado del procedimiento macroscópica e histológicamente.

Resultados: Ocho de las vesículas tratadas con hipoclorito se esclerosaron completamente. No hubo complicaciones intra ni post operatorias. En el grupo del etanol el resultado fue exitoso solo en un caso, con solución fisiológica no hubo ablación. La comparación de los resultados demostró una diferencia significativa favorable al grupo tratado con hipoclorito en comparación con el de etanol más cola de fibrina ($p < 0,0055$) y el de solución fisiológica ($p < 0,0007$).

Conclusiones: En este modelo experimental, fue posible la ablación completa de la vesícula biliar usando hipoclorito de sodio como esclerosante y cola de fibrina para obturar el cístico y la luz vesicular.

Palabras Clave: Vesícula biliar, ablación química, escleroterapia, colecistectomía

Summary

Introduction: The cholecystectomy is the current treatment of the biliary lithiasis. Nevertheless there have been attempts in order to eliminate the gallbladder epithelium and to generate the sclerosis of the organ using chemical substances, heat and laser.

Objective: Sodium hypochlorite and fibrin glue is proposed to achieve the ablation of the gallbladder mucosa and sclerosis.

Materials and methods: Thirty rabbits were divided into three groups of 10. Accessing surgically to the gallbladder, sodium hypochlorite was injected, afterward the same was done with fibrin glue to occlude the cystic duct and collapse the organ lumen, avoiding the bile

*Unidad Hospitalaria de Cirugía Nº 1

**Cátedra de Patología Nº 1

***Cátedra de Radiología Nº 1

****Unidad Hospitalaria de Cirugía Nº 2

Unidad Hospitalaria de Cirugía Nº 1. Hospital Nacional de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba. Santa Rosa 1564, (5000) Córdoba, Argentina. TE: 54 351 4337013. Email: joverclos@hotmail.com

reflux. In the control groups ethanol plus fibrin adhesive and physiological solution was used. In day 65 the animals were sacrificed and the result of the procedure was observed macroscopic and histologically.

Results: Eight of the gallbladders treated with sodium hypochlorite disappeared leaving a small subhepatic scar. There were no intra nor postoperative complications. In the group of the ethanol the result was successful only in one case, and with saline solution there was no ablation. A significant difference exists for the group treated with sodium hypochlorite plus fibrin glue compared to the ethanol plus fibrin adhesive group ($p < 0,0055$) and the saline solution group ($p < 0,0007$).

Conclusion: In this experimental model there was possible the ablation of the gallbladder using sodium hypochlorite as sclerosing agent and fibrin glue to collapse the lumen and to occlude the cystic duct.

Key words: Gallbladder, chemical ablation, sclerotherapy, cholecystectomy

Introducción

Desde mediados de la década del ochenta⁽¹⁾ comenzaron a aparecer trabajos que intentaron lograr una ablación no quirúrgica de la vesícula biliar (VB). Se han utilizado distintas sustancias químicas⁽¹⁻⁶⁾, calor⁽⁷⁾ y láser⁽⁸⁾.

Estos intentos quedaron relegados con la aparición de la colecistectomía videolaparoscópica, que se transformó en el gold standard en el manejo de la litiasis vesicular⁽⁹⁾. En esta última década se ha retomado la búsqueda de procedimientos aún menos invasivos, dando lugar a la aparición, por ejemplo, del NOTES⁽¹⁰⁾ y SILS⁽¹¹⁾.

Una técnica que se pueda realizar ambulatoriamente con anestesia local, que no dañe la pared abdominal (y por lo tanto no genere dolor, alteraciones estéticas ni restricciones físicas postoperatorias) es el que podrá competir con la colecistectomía⁽¹²⁾. A la VB, un órgano hueco, se puede acceder por vía percutánea⁽¹³⁾ e incluso endoscópica⁽¹⁴⁾, y eliminar endoluminalmente la mucosa de la VB. Éste podría ser un tratamiento alternativo a su resección quirúrgica.

Se propone el uso de hipoclorito de sodio, un álcali con buena penetración tisular, y la obliteración de la luz vesicular con cola de fibrina.

Material y métodos

Se trabajó con 30 conejos neozelandeses

macho de 3 a 4 kg, de 4 meses de edad. Se distribuyeron en tres grupos de 10 animales cada uno.

Procedimiento en todos los conejos: Anestesia: Ketamina (30 mg/kg) y diazepam (3 mg/kg) intramuscular. Cefalotina 20 mg/kg IM como quimioprofilaxis. Infiltración de la pared con lidocaína al 2%. Incisión subcostal. Oclusión del conducto cístico con clamp vascular delicado. Punción de la VB con Abbocath N° 18. Aspiración de la bilis.

Grupo A: Se inyectó hipoclorito de reciente titulación a 20 g Cl/l a temperatura ambiente hasta llenar la vesícula. Luego de 5 minutos, aspiración y reinyección de la solución (la repetición de la infusión se explica porque el hipoclorito es inactivado con el contacto prolongado con sustancias orgánicas). Aspiración luego de otros 5 minutos. Lavado de la luz vesicular con solución fisiológica. Aspiración e inyección de cola de fibrina (Tissucol® 0,5) (Figura 1).

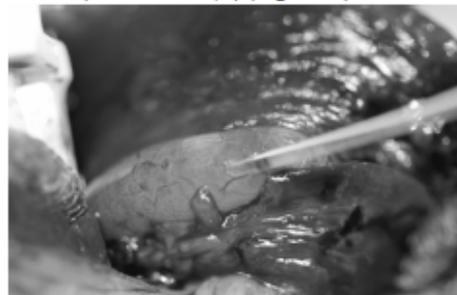


Figura 1: Vesícula con el Abbocath colocado. A la izquierda, el clamp que obtura el cístico.

Aspiración para colapsar la vesícula y extracción del clamp.

Grupo B: Inyección de etanol al 95% hasta llenar la vesícula. Aspiración luego de 10 minutos. Lavado de la luz vesicular con solución fisiológica. Aspiración e inyección de cola de fibrina (Tissucol® 0,5). Aspiración para colapsar la vesícula y extracción del clamp. Se seleccionó el etanol en este grupo control porque es el esclerosante más difundido en los trabajos consultados.

Grupo C: Inyección de solución fisiológica. Aspiración y cierre con jareta de polipropileno 7/0.

En todos los animales, cierre de la pared abdominal con surget de poliglactina (Vicryl 2/0). Piel: con surget de Vicryl 2/0. La duración del procedimiento en todos los animales fue de 35 minutos aproximadamente. Control de la evolución postoperatoria. A los 65 días sacrificio del animal (tiempo suficiente para comprobar si se produjo la mucoclasia completa y la fibrosis y desaparición de la luz vesicular), mediante el uso de diazepam (5 mg/kg) IM para sedación y posterior inyección EV de pentobarbital sódico (200 mg/kg). Laparotomía mediana, remoción de la vesícula, tejido hepático adyacente y vía biliar principal para estudio histológico.

Estudio anatomopatológico: Macroscopia de la pieza operatoria. Estudio microscópico con coloración de hematoxilina-eosina. Evaluación de la fibrosis producida, búsqueda de quistes mucinosos, áreas de reepitelización y de lesiones en la mucosa de la vía biliar principal.

Análisis estadístico: Test de Fisher comparando el grupo problema con los dos testigos. Se consideró significativo un $p < 0,05$. Software utilizado: GraphPad Prism 5.0.3 (GraphPad Software, Inc., California, USA). El trabajo fue aprobado por el comité de Bioética del Hospital Nacional de Clínicas.

Resultados

Un animal murió durante el procedimiento anestésico, fue reemplazado. No hubo muertes postoperatorias. Los animales evolucionaron bien, perdiendo peso los dos

primeros días, y a lo largo del mes siguiente se registró una actividad normal y aumento constante de peso, hallando todos los animales en óptimo estado al momento del sacrificio. La cavidad presentó en algunos casos de todos los grupos adherencias laxas. No se apreció lesión microscópica en el hígado que rodea a la VB ni en la vía biliar principal. Se hallaron dos eventraciones, en el grupo B y en el A.

El 80% de las vesículas tratadas con hipoclorito desaparecieron dejando una pequeña cicatriz subhepática (Figuras 2, 3 y 4), en un caso hubo un pequeño remanente vesicular, con engrosamiento parietal, pero con contenido biliar y en otros quedó un quiste de retención debido a mucosa remanente vital con capacidad secretora.

El procedimiento no fue exitoso en un solo caso del grupo tratado con alcohol, en 5 casos se hallaron quistes y en los 4 restantes quedó un remanente vesicular con conexión biliar.

El grupo con solución fisiológica, como era de esperar, mostró sólo adherencias en la zona de la punción y cierre, con vesículas normales.

La comparación de los resultados demostró una diferencia significativa favorable al grupo tratado con hipoclorito y cola de fibrina en comparación con los testigos: solución fisiológica ($p < 0,0007$) y etanol más cola de fibrina ($p < 0,0055$).

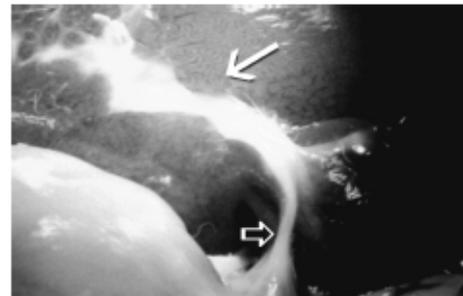


Figura 2: Cicatriz subhepática donde se hallaba la vesícula biliar (flecha delgada). La flecha gruesa indica la continuidad con la vía biliar principal.

Discusión

Los cálculos vesiculares se pueden eliminar disolviéndolos (15), destruyéndolos mecá-

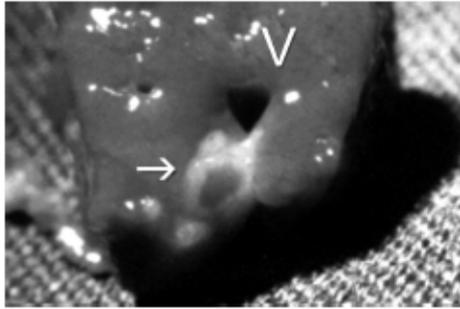


Figura 3: Corte transversal del hígado. La flecha indica el tejido fibroso que reemplaza a la vesícula. La V marca una vena suprahepática constante en el lecho vesicular



Figura 4: Microfotografía (hematoxilina eosina, 40X) que muestra tejido fibroso y ausencia de luz y células epiteliales.

nicamente (4), con ondas electrohidráulicas (16) o con láser (17). Incluso hay un trabajo que no se preocupa por los mismos, realizando la ablación con ellos presentes (18). Pero es necesario eliminar el órgano que produce y alberga la litiasis para evitar la formación de nuevos cálculos (19).

El principal problema de la mucoclasia es la resistencia y gran capacidad de regeneración de la mucosa vesicular a partir de epitelio vital remanente o por la continuidad con la mucosa del cístico (2). Cuando queda epitelio sin destruir, se convierte en un foco de células epiteliales viables que se reproducen y terminan con la restitución total de la mucosa, o con la formación de nidos de epitelio que deviene en un mucocelo. En el ser humano, cuya VB posee senos de Aschoff-Rokitansky cubiertos por epitelio que se introducen en las capas más externas, el problema es potencialmente mayor (20). A pesar de que la VB del conejo no es igual a la vesícula humana, este animal ha sido usado como modelo en varios trabajos (1, 21, 22, 23).

Los resultados de diferentes autores son muy variables de acuerdo a la sustancia utilizada y a los métodos de obturación del cístico. Salomonowitz, en 36 conejos obtuvo el cístico con cianoacrilato y nitrocelulosa, y a cada grupo problema de 6 animales le inyectó contraste radiológico a 100 °C, alcohol absoluto, morruato de sodio y la misma mezcla usada para tapar el cístico. Solo los

dos primeros necrosaron el epitelio y generaron fibrosis. En cinco casos el tapón se fragmentó, pero fue efectivo (1). Lindberg, en sus trabajos con vesículas de cerdo tratadas previamente con litotripsia mecánica de cálculos implantados, usó ácido acético, etanol, etanol más tetradecilsulfato de sodio, solución de Carnoy y contraste caliente. El cístico fue obturado con ligadura. En la mayor parte de los casos hubo persistencia de la mucosa (4, 5). Lee usó 5 perros, percutáneamente obtuvo el cístico con cianoacrilato y coils e inyectó ácido acético. El tratamiento fue efectivo, aunque en el infundíbulo, en relación al tapón, quedaron células epiteliales viables (6). Getrajdman trabajó con 24 conejos a los que se ligó el cístico e instiló una mezcla de etanol y ácido trifluoroacético, logrando un éxito en 22 casos, atribuyéndole a la completa oclusión del cístico el mayor mérito por los resultados (2).

En el presente estudio, la ablación completa se obtuvo en 8 de 10 animales del grupo con hipoclorito, pero hubo persistencia parcial de la vesícula en 2. El hecho de que quede mucosa viable puede favorecer la recurrencia de litiasis (si hay conexión biliar) y eventualmente el desarrollo de cáncer de VB (24). Una variación en la concentración y tiempo de exposición al hipoclorito podría mejorar el resultado. La combinación de alcohol y cola de fibrina no fue suficientemente efectiva.

El uso de hipoclorito para la mucoclasia no ha sido descrito con anterioridad. Es un álcali y un oxidante indirecto, tiene una mayor penetración cáustica en los tejidos al no formar escara. Es una sustancia barata, estéril, que en casos de accidentes podría ser neutralizada con ácidos débiles. Al ser poco estable debe ser protegida de la luz y titulada antes de ser usada. En el humano se conoce su efecto tisular sobre la mucosa esofágica (esofagitis por cáusticos) (25, 26). La cola de fibrina ha sido usada para la oclusión de la luz vesicular y del cístico con éxito (27).

Conclusiones

En este modelo experimental, hipoclorito de sodio para eliminar la mucosa vesicular esclerosar la VB fue seguro y significativamente más efectivo que el alcohol y la cola de fibrina.

Tras dos décadas de la videolaparoscopia como método de elección el tratamiento de la litiasis vesicular, hay un renovado interés por diseñar tratamientos quirúrgicos aún menos invasivos, llegando incluso al desarrollo de procedimientos como el NOTES, que requiere anestesia general, neomoperitoneo, disección de estructuras vulnerables, apertura del estómago o fondo vaginal, la adquisición de nuevas destrezas y el desarrollo de costoso instrumental y aparatología. Puede ser la oportunidad de retomar el intento de ablación no quirúrgica endoluminal de la VB.

Referencias

1. Salomonowitz E, Frick MP, Simons RL et al. Obliteration of the gallbladder without formal cholecystectomy: a feasibility study. *Arch Surg*; 1984,119:725-29
2. Getrajdman GI, O'Toole K, Laffey KJ, Martin EC. Cystic duct occlusion and transcatheter sclerosis of the gallbladder in the rabbit. *Invest Radiol*; 1986, 21:400-3
3. Girard MJ, Saini S, Mueller PR, Lee MJ, Ribeiro RE, Ferrucci JT, Flotte TJ. Percutaneous chemical gallbladder sclerosis after laser-induced cystic duct obliteration: Results in an experimental model. *Am J Roentgenol*; 1992,159: 997-9
4. Lindberg CG, Lundstedt C, Jeppsson B, Stenram U, Stridbeck H. Sclerotherapy for ablation of the gallbladder after gallstone lithotripsy with a mechanical lithotriptor. An experimental study in pigs on the effect of absolute ethanol on edematous gallbladder wall. *Acta Radiol*; 1991,32:521-3
5. Lindberg CG, Lundstedt C, Jeppsson B, Stenram U, Stridbeck H. Sclerotherapy of edematous gallbladders with different agents. An experimental study in pigs. *Acta Radiol*; 1993,34:147-3
6. Lee JH, Won JH, Bae JI, Kim JH, Lee HS, Jung SM. Chemical ablation of the gallbladder with acetic acid. *J Vasc Interv Radiol*; 2009,20:1471-6
7. McGahan JP, Brock JM, Griffey SM, Browning P. A new method for thermocholecystectomy. Initial experience and comparison with other techniques. *Invest Radiol*; 1992,27:947-53
8. Kleiman AS, Panzeri C. Láser-esclerosis experimental de vesícula biliar. *Rev Argent Cirug*; 1991,61:253-54
9. Brandon JC, Velez MA, Teplick SK, Mueller PR, Rattner DW, Broadwater JR Jr, Lang NP, Eidt JF. Laparoscopic cholecystectomy: evolution, early results, and impact on nonsurgical gallstone therapies. *Am J Roentgenol*; 1991,157:235-9
10. Marescaux J, Dallemagne B, Perretta S, Wattiez A, Mutter D, Coumaros D. Surgery without scars: report of transluminal cholecystectomy in a human being. *Arch Surg*; 2007,142:823-6
11. Edwards C, Bradshaw A, Ahearn P, Dematos P, Humble T, Johnson R, Maurterer D, Soosaar P. Single-incision laparoscopic cholecystectomy is feasible: initial experience with 80 cases. *Surg Endosc*; 2010,24:2241-7
12. Becker CD, Fache JS, Malone DE, Stoller JL, Burhenne HJ. Ablation of the cystic duct and gallbladder: Clinical observations. *Radiology*; 1990,176:687-90
13. Picus D. Percutaneous gallbladder intervention. *Radiology*; 1990,176:5-6
14. Yamao K, Nakazawa S, Yoshino J, Inui K, Kanemaki N, Fujimoto M. Peroral

- cholecystoscopy with a shape-memorizing alloy catheter. *Endoscopy*; 1995,27:407
15. Hofmann AF, Amelsberg A, Esch O, Schteingart CD, Lyche K, Jinich H, Vansonnenberg E, D'Agostino HB. Successful topical dissolution of cholesterol gallbladder stones using ethyl propionate. *Dig Dis Sci*; 1997,42:1274-82
16. Chen YK, Nichols MT, Antillon MR. Peroral cholecystoscopy with electrohydraulic lithotripsy for treatment of symptomatic cholelithiasis in end-stage liver disease. *Gastrointest Endosc*; 2008,67:132-5
17. Takayama S. Percutaneous laser lithotripsy for gallbladder and common bile duct stones. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*; 2009,19:135-7
18. Kannegieter LS, Brandon JC, Espinoza FP, Vanson DT, Deutsch LS, Miller DP 3rd, Teplick SK. Gallbladder ablation with gallstones in situ in an animal model. *Invest Radiol*; 1993,28:420-6
19. Zou YP, Du JD, Li WM, Xiao YQ, Xu HB, Zheng F, Huang H, Liu HR, Li HC. Gallstone recurrence after successful percutaneous cholecystolithotomy: a 10-year follow-up of 439 cases. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*; 2007,6:199-203
20. Hall RC, Inman BC, Chen TB, Sobat WS. Gallbladder ablation: need for a better model. *Radiology*; 1989,173:578-80
21. Getrajdman GI, O'Toole K, Laffey KJ, Martin EC. Cystic duct occlusion and transcatheter sclerosis of the gallbladder in the rabbit. *Invest Radiol*; 1986,21:400-3
22. Mahon TG, Wright KC, Armeniades CD. Injection of a silicone prepolymer system into the gallbladder of rabbits. *Invest Radiol*; 1991,26:902-5
23. Majeed AW, Reed MW, Stephenson TJ, Johnson AG. Chemical ablation of the gallbladder. *Br J Surg*; 1997,84:638-41
24. So CB, Gibney RG, Scudamore CH. Carcinoma of the gallbladder: a risk associated with gallbladder-preserving treatments for cholelithiasis. *Radiology*; 1990,174:127-30
25. Arévalo-Silva C, Eliashar R, Wohlgelernter J, Elidan J, Gross M. Ingestion of caustic substances: a 15-year experience. *Laryngoscope*; 2006,116:1422-6
26. Riffat F, Cheng A. Pediatric caustic ingestion: 50 consecutive cases and a review of the literature. *Dis Esophagus*; 2009,22:89-94
27. Kleiman AS et al. Láser colecistoesclerosis colecistoscópica: estudio de factibilidad, efectividad y seguridad en un modelo experimental vivo. *Rev argent cir*; 2001,80:214-17

REEPITELIZACIÓN EXPERIMENTAL DE LA VESÍCULA BILIAR POST TRATAMIENTO MUCOCLÁSTICO ESCLEROSANTE. INFLUENCIA DE LA OBTURACIÓN DEFINITIVA DEL CONDUCTO CÍSTICO.

Jover Clos RJ, Hernández NA, Oulton C, Martellotto G, Amuchastegui R. UHCN° N° 1, Hosp. Nac. Clínicas, Fac. Ciencias Médicas, UNC. E-mail: joverclos@arnet.com.ar

Introducción: Se han propuesto distintas técnicas para destruir la mucosa vesicular (calor, láser, químicos) pero todas con resultados desalentadores. Su epitelio resistente con gran capacidad de regeneración forma senos de Rokitansky-Aschoff a donde es difícil llegar con el mucolítico. La continuidad con el epitelio de la vía biliar permite su regeneración a través del conducto cístico (CC). Aquí se discute la acción de la obturación temporaria o definitiva del CC en la regeneración del epitelio vesicular destruido.

Material y método: 30 conejos de ~2500 gr c/u, celiotomizados bajo anestesia general y expuesta su vesícula biliar, fueron divididos en 2 grupos en razón del tratamiento dado a su CC, previo a inyección intravesicular de hipoclorito de sodio: Grupo A (n=15), obturación momentánea del CC con clamp delicado; Grupo B (n=15), ligadura definitiva del CC con prolene 7/0. A los 65 días se sacrificaron los animales bajo anestesia obteniéndose material para estudio anatomopatológico. Análisis Estadístico: chi2.

Resultados: Todos los animales del grupo A tuvieron paredes vesiculares engrosadas, cavidad con epitelio conservado y litiasis vesicular. En 11 animales del grupo B la vesícula se transformó en un cordón fibroso sin luz ni remanentes epiteliales. En los 4 restantes se identificaron formaciones quísticas conteniendo líquido claro, 2 con y 2 sin epitelio (A vs. B = p<0,01).

Conclusión. En este modelo experimental la obstrucción definitiva del CC disminuye significativamente la regeneración epitelial.