

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

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

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

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

^d Unidad 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 macroscópica 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

ABSTRACT

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 shrank. 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 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^{1,2} y clínicos^{3,4} intentaron la mucoclasis y posterior esclerosis empleando químicos¹⁻⁴, 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 musculoaponeurótico 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 puncionó 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 Orlight 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 (Tissucol® 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 poliglactina (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 mucoclasis



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 anatomo-patológico: 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).

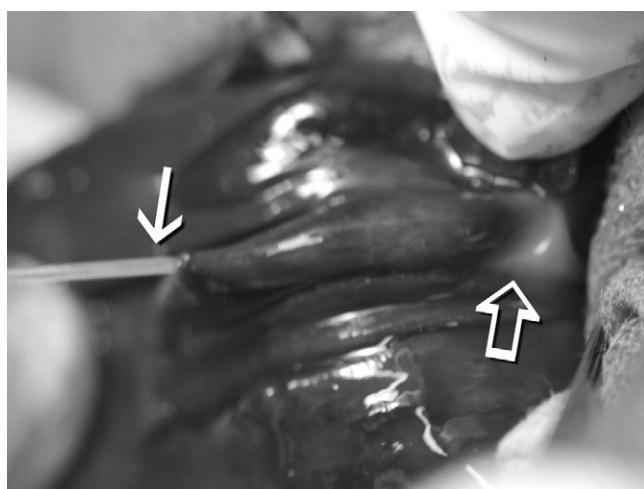


Figura 2 – La fibra del láser (flecha blanca delgada) introducida en la vesícula biliar. La flecha gruesa indica el punto donde se comienza la aplicación del láser, con la luz guía roja visible.

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

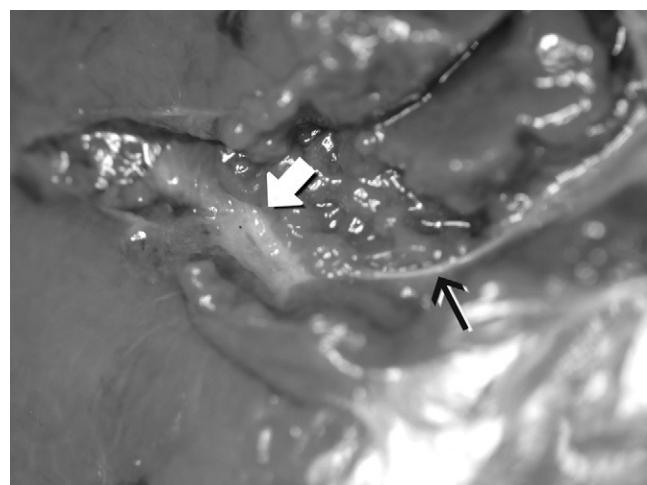


Figura 3 – La flecha blanca muestra la cicatriz en donde se hallaba la vesícula biliar, y la flecha negra delgada la vía biliar principal.

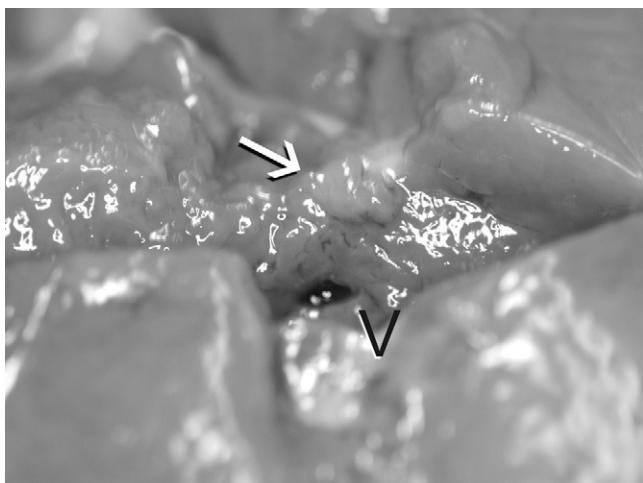


Figura 4 – En un corte transversal de la cicatriz y del hígado, se aprecia la falta de luz (flecha blanca). La letra V indica una vena suprahepática constante cercana al lecho vesicular.

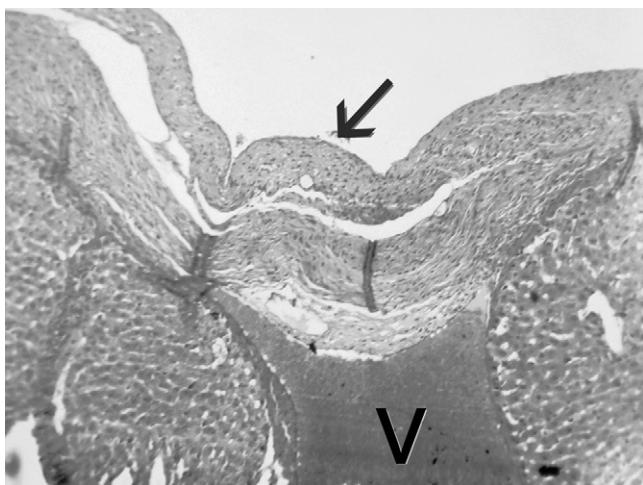


Figura 5 – Corte histológico (hematoxilina eosina, 40x). La flecha indica el tejido fibroso, sin células epiteliales (la luz es un artefacto de técnica). La V marca una vena suprahepática.

quistes de contenido mucoide. 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 obturar 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 obturar rápida 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 colecistoesclerosis 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 «termocolocistectomía»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 completaobliteración 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 oblitrante 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 mucoclásico. 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

subsanar 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 tomado 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.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. Getrajdman GI, O'Toole K, Longerfo P, Laffey KJ, Martin EC. Transcatheter sclerosis of the gallbladder in rabbits. A preliminary study. *Invest Radiol.* 1985;20:393-8.
3. Mazzariello R, Novas OL, Montes de Oca I. Tratamiento esclerosante de la vesícula biliar posterior a colecistostomía. *Rev Argent Cirug.* 1987;73:215-20.
4. 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.
5. Yedlicka Jr JW, Coleman CC, Peterson C, Bjarnason H, Hunter DW, Castaneda-Zuniga WR, et al. Thermal ablation of the gallbladder. *J Vasc Interv Radiol.* 1993;4:367-70.
6. Kleiman AS, Panzeri C. Láser-esclerosis experimental de vesícula biliar. *Rev Argent Cirug.* 1991;61:253-4.
7. Kleiman AS, Harraca J, Gallegos J, Cancela M, Diez 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.
8. 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.
9. Girard MJ, Saini S, Mueller PR, Flotte TJ, Staritz M, Domankevitz Y, et al. Percutaneous obliteration of the cystic duct with a holmium:yttrium-aluminium-garnet laser: Results of in vitro and animal experiments. *Am J Roentgenol.* 1992;159:991-5.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Marescaux J, Dallermagne 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.
14. Becker CD, Fache JS, Malone DE, Stoller JL, Burhenne HJ. Ablation of the cystic duct and gallbladder: Clinical observations. *Radiology.* 1990;176:687-90.
15. Hall RC, Inman BC, Chen TB, Sobat WS. Gallbladder ablation: need for a better model. *Radiology.* 1989;173:578-80.
16. Majeed AW, Reed MW, Stephenson TJ, Johnson AG. Chemical ablation of the gallbladder. *Br J Surg.* 1997;84:638-41.
17. Johnson CM, McLafferty RB. Endovenous laser ablation of varicose veins: Review of current technologies and clinical outcome. *Vascular.* 2007;15:250-4.
18. 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.
19. 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.
20. Paumgartner G, Pauletzki J, Sackmann M. Ursodeoxycholic acid treatment of cholesterol gallstone disease. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1994;204:27-31.
21. 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.* 1986;146:865-7.
22. Hofmann AF, Amelsberg A, Esch O, Schteingart CD, Lyche K, Jinich H, et al. Successful topical dissolution of cholesterol gallbladder stones using ethyl propionate. *Dig Dis Sci.* 1997;42:1274-82.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. Takayama S. Percutaneous laser lithotripsy for gallbladder and common bile duct stones. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2009;19:135-7.
27. Kannegieter LS, Brandon JC, Espinoza FP, Vanson DT, Deutsch LS, Miller 3rd DP, et al. Gallbladder ablation with gallstones in situ in an animal model. *Invest Radiol.* 1993;28:420-6.
28. 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.
29. 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.