



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

“COMPARACIÓN DEL TIEMPO DE
SANGRADO POSQUIRÚRGICO DE
INCISIONES BUCALES CON BISTURÍ
MÁS ADHESIVO TISULAR Y LÁSER
DE ALTA INTENSIDAD EN RATAS CON
Y SIN ANTICOAGULACIÓN”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRO EN ESTOMATOLOGÍA CON
MENCIÓN EN ESTOMATOLOGÍA DE
PACIENTES ESPECIALES

LEONID JULIO ADOLFO CARRIZALES
POMA

LIMA - PERÚ

2022

ASESOR

Dra. Sonia Julia Sacsquispe Contreras

CO ASESOR

Mg. Helard Ricardo Ventura Ponce

JURADO DE TESIS

MG. VÍCTOR MANUEL ARRASCUE DULANTO

PRESIDENTE

MG. TANIA ARIZA FRITAS

VOCAL

MG. JAIME ALEJANDRO HIDALGO CHÁVEZ

SECRETARIO

DEDICATORIA

A mi Padre Delfín Adolfo, por inspirarme admirar la naturaleza, apreciar el arte, valorar la educación, y enseñarme a sonreír en la adversidad luchando hasta el final. A pesar de su ausencia física, su amor y energía sigue intacto.

A mi Madre Julia Delia, por ser la prueba que el amor infinito existe. Doy gracias a Dios y la vida por gozar aún de su presencia, para poder seguir enorgulleciéndola, como ella lo hace conmigo.

A mis Hermanos David Delfín y Katherine Miluska, son la imagen rejuvenecida de mis Padres. Gracias por su ejemplar e incansable apoyo que me motivan a ser mejor cada día.

A mis Abuelos María, Julio, David y Asunción, que gozan de la gloria eterna y los tengo presentes; a mis Tíos por sus innumerables muestras de cariño; y a mis

Sobrinos Liam, Darla y Dalia.

Muchas gracias familia.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores de tesis Dra. Sonia y Dr. Helard por su tiempo y enseñanzas.

Al Dr. Roberto León por su apoyo y valiosos consejos.

A mis Docentes del Posgrado, en especial a la Dra. Carmen Rosa García.

Al Blgo. Julio Hidalgo por compartir sus conocimientos y experiencias sobre
investigación en animales.

Y para las personas involucrados en el avance del estudio, en especial a mis
Colegas Lila León, Alexandra Camarena y José García, muchas gracias.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

Tesis Autofinanciada

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	
ABSTRACT	
	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	11
III. OBJETIVOS	12
III.1. Objetivo general	12
III.2. Objetivos específicos	12
IV. METODOLOGÍA	13
IV.1. Diseño del estudio	13
IV.2. Muestra	13
IV.3. Criterios de selección	13
IV.3.1. Criterios de inclusión	13
IV.3.2. Criterios de exclusión	13
IV.4. Operacionalización de variables	14
IV.5. Procedimientos y técnicas	15
IV.6. Consideraciones éticas	28
IV.7. Plan de análisis	29
V. RESULTADOS	30
VI. DISCUSIÓN	34
VII. CONCLUSIONES	42
VIII. RECOMENDACIONES	43
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
X. ANEXOS	

RESUMEN

Objetivo: Comparar el tiempo de sangrado posquirúrgico de incisiones con bisturí aplicando adhesivo tisular de cianoacrilato (ACA), versus incisiones con láser diodo en bordes laterales de lengua de 24 ratas holtzman con y sin anticoagulación. **Materiales y Métodos:** Las ratas se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos control (bisturí y láser diodo) y un grupo experimental (bisturí más adhesivo tisular), divididas equitativamente en anticoaguladas y no anticoaguladas. **Resultados:** Se utilizó la Prueba de Kruskal Wallis para comparar todos los grupos, y la U de Mann Whitney para comparación de dos grupos. Los grupos bisturí más adhesivo tisular registraron un tiempo de sangrado posquirúrgico de 48.38 (D.S±22.69) y 30.25 segundos (D.S±10.79) en ratas anticoaguladas y no anticoaguladas respectivamente, considerablemente menor que los grupos de bisturí solamente ($p<0.05$). Las ratas de los grupos láser diodo no evidenciaron sangrado. **Conclusiones:** Las incisiones con bisturí aplicando adhesivo tisular presentan menor tiempo de sangrado posquirúrgico, y las incisiones con láser diodo ausencia de sangrado.

PALABRAS CLAVES

Enbucrilato, Coagulación con láser, Láseres de Semiconductores, Ratas, Tiempo de sangrado, Anticoagulantes.

ABSTRACT

Objective: To compare the postoperative bleeding time of scalpel incisions applying cyanoacrylate tissue adhesive (CTA), versus diode laser incisions on the lateral edges of the tongue of 24 Holtzman rats with and without anticoagulation.

Materials and Methods: The rats were randomly distributed into two control groups (scalpel and diode laser) and one experimental group (scalpel plus tissue adhesive), equally divided into anticoagulated and non-anticoagulated. **Results:**

The Kruskal Wallis test was used to compare all groups, and the Mann Whitney U test to compare two groups. The scalpel plus tissue adhesive groups recorded a postsurgical bleeding time of 48.38 (S.D.±22.69) and 30.25 seconds (S.D.±10.79) in anticoagulated and non-anticoagulated rats, respectively, considerably less than the scalpel only groups ($p<0.05$). The rats in the diode laser groups did not show bleeding. **Conclusions:** Scalpel incisions applying tissue adhesive present shorter post-surgical bleeding time, and diode laser incisions have no bleeding.

KEY WORDS

Enbucrilate, Laser coagulation, Lasers Semiconductor, Rats, Bleeding time, Anticoagulants.

I. INTRODUCCIÓN

La terapia anticoagulante oral (TAO) es común en la población por la alta prevalencia de enfermedades cardiovasculares y desarrollo de tromboembolismos.¹ Se reporta graves incidentes debido a su suspensión días antes de la cirugía bucal,^{1,2} por tanto, es recomendable continuar el anticoagulante en exodoncias y procedimientos de cirugía oral menor, y controlar el sangrado con hemostáticos locales.^{1,3}

La hemostasia es una respuesta fisiológica ante una lesión, cuyo objetivo es controlar el sangrado con la formación del coagulo, manteniendo la integridad de la pared vascular, y restableciendo la circulación cuando se obstruye un vaso sanguíneo. Involucra cuatro mecanismos: respuesta vascular, actividad plaquetaria, vías de coagulación y fibrinólisis.⁴ El equilibrio fisiológico de estos cuatro mecanismos se altera por enfermedades congénitas, adquiridas y el consumo de antitrombóticos. Los antitrombóticos disminuyen significativamente el riesgo tromboembólico y están indicados a pacientes con fibrilación auricular crónica, tromboembolismo venoso, accidente cerebrovascular, cardiopatía isquémica, infarto de miocardio recurrente, embolia pulmonar, y portadores de válvula cardíaca.¹⁻³ La cardiopatía isquémica y el accidente cerebrovascular, son la primera y segunda causa de defunción en el año 2019, lo que representa aproximadamente el 16 y 11% del total de muertes en el mundo respectivamente.⁵

Los anticoagulantes orales constituyen los antitrombóticos de mayor interés, junto

con los antiagregantes plaquetarios y las heparinas de bajo peso molecular. La Warfarina fue desarrollada en 1940 y sigue siendo el fármaco de elección en la TAO a pesar de la existencia de los Anticoagulantes orales directos (DOAC).^{6,7} La warfarina es un derivado de la cumarina y su mecanismo de acción es inhibir la síntesis de los factores dependientes de la vitamina K (factores de la coagulación II, VII, IX, X, proteínas C y S) que componen la cascada de la coagulación. Debido al estrecho margen terapéutico y la variabilidad del efecto en los pacientes, se sugiere un monitoreo regular mediante el Rango normalizado internacional (INR). El INR es un indicador que evalúa el estado de coagulación/anticoagulación, comparando el tiempo de protrombina (TP) del paciente, con un TP control elevado a la potencia del valor “Índice Internacional de Sensibilidad” (ISI).⁷ Niveles de INR superiores a 1.1 se considera anticoagulación, como el caso de pacientes con trombosis venosa profunda y embolia pulmonar con valores de 2.0-3.0 del INR.⁸

La suspensión de la TAO dos o tres días antes de la cirugía bucal es una indicación médica común para prevenir una hemorragia,⁹ sin embargo, esto no asegura la disminución del sangrado, por el contrario, podría aumentar el riesgo de eventos tromboembólicos^{9,10} entre un 0.02% y 1%.¹¹ La cirugía bucal involucra sangrado, en su mayoría autolimitado cediendo en minutos, caso contrario, podría deberse a la complejidad del procedimiento, mayor traumatismo, la omisión del paciente a las indicaciones postoperatorias,^{11,12} problemas médicos coexistentes que afectan la hemostasia o la medicación antitrombótica.^{1,12} Existe un 0.2% de riesgo hemorrágico posquirúrgico en pacientes con INR<4, no obstante, un 1% de

riesgo tromboembólico grave, incluida la muerte, si se interrumpe los anticoagulantes orales.¹³ Está evidenciado que procedimientos quirúrgicos en la cavidad bucal se pueden realizar con seguridad en pacientes anticoagulados con un INR<4 utilizando agentes hemostáticos locales,¹⁴ por tanto, es recomendable mantener la terapia anticoagulante oral y controlar el sangrado con adecuadas medidas de hemostasia local.^{3,9-14} Los agentes hemostáticos locales son biomateriales que contribuyen a disminuir el sangrado, conservando el coágulo y coadyuvando en la reparación del tejido. Se menciona en la literatura la gasa, el hilo de sutura, la esponja de gelatina, la esponja de colágeno, el ácido tranexámico, la celulosa oxidada,^{3,14} el adhesivo de fibrina, el pegamento de fibrina autóloga,¹⁵ y el adhesivo tisular de cianoacrilato.¹⁶

En los últimos años, el láser se ha posicionado como una herramienta muy útil en cirugía mínimamente invasiva. El primer láser de rubí se desarrolló en 1960, y en adelante se crearon muchos otros láseres, aunque el fundamento para su desarrollo se estableció en el año 1917, con Albert Einstein. La palabra LASER es un acrónimo del inglés Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Luz amplificada por emisión estimulada de radiación).¹⁷ El láser en la odontología se introdujo hace cuatro décadas, y desde entonces, se han utilizado distintos medios activos, longitudes de onda (λ), e intensidades. De acuerdo a la intensidad (potencia) aplicada se clasifica en: Laserterapia de baja intensidad (LLLT) que funciona a menos de 500mW, usado principalmente para la fotobiomodulación, y promover la cicatrización postoperatoria de la herida. La laserterapia de alta intensidad (HILT) actúa a más de 500mW, también

denominado láser quirúrgico, por su capacidad de incisión, fotoablación o desbridamiento del tejido.¹⁸ Dentro de los más destacados están el láser de Dióxido de Carbono (CO₂) λ :10 600nm, de Neodimio dopado con Itrio Aluminio Granate (Nd:YAG) λ :1064nm, de Erbio dopado con Itrio Aluminio Granate (Er:YAG) λ :2940nm, y el láser Diodo λ :810-980nm.¹⁹ En estas dos últimas décadas, el equipo láser más común en la práctica clínica es el láser diodo, debido a su accesibilidad en el mercado, menor costo en relación a los otros tipos de láser, pequeño tamaño y comodidad en su manipulación. Tiene un dispositivo semiconductor sólido como medio activo que utiliza aluminio, galio, arseniuro y, ocasionalmente, indio.²⁰ El calor es mal disipado por los tejidos vivos, por lo que, la interacción de la luz láser y el tejido puede generar hipertermia transitoria, desnaturalización proteica, coagulación, fusión tisular, vaporización y carbonización (efecto fototérmico acumulativo) si no se usa correctamente el equipo. Una de sus principales ventajas es la hemostasia inmediata, primordial en pacientes con alto riesgo de sangrado, además de lograr una incisión limpia,²¹ menor dolor postoperatorio,^{18,21} disminución de edema, menor riesgo de infección, y promover la cicatrización.²¹

El adhesivo tisular de cianoacrilato (ACA) es un agente hemostático que está en permanente estudio, y es considerado como el método idóneo para el cierre de heridas, superando las desventajas de la sutura convencional.^{22,23} Fue descubierto y sintetizado por Ardis en 1949, pero se usó por primera vez en seres humanos en 1959, cuando Coover informó sobre sus propiedades adhesivas y sugirió su posible aplicación quirúrgica. Desde entonces, ha sido ampliamente estudiado

como método de adhesión en tejidos duros y blandos.²⁴ Hay evidencia de su utilidad en el cierre de incisiones quirúrgicas, reparación de vasos sanguíneos, órganos, piel, nervios, injertos, fracturas.²²⁻²⁵ En odontología se reporta su utilidad para el cierre de heridas intraorales, fijación de injertos gingivales, cicatrización de colgajos periodontales, sellado de comunicación oroantral, y control del sangrado de heridas posexodoncia.^{22,23,25} El adhesivo de tipo N-butil-2-cianoacrilato (NBCA) es el más representativo, aprobado para su uso clínico en 1996 por la Food and Drug Administration (FDA) por no ser mutagénico, cancerígeno, ni tóxico en organismos vivos. Tiene muchas ventajas como: provocar una rápida hemostasia, baja respuesta inflamatoria, menor dolor postoperatorio, efecto bacteriostático, rápida polimerización (10 segundos), barrera física entre la herida y el medio bucal, menor tiempo operatorio, mínimamente invasivo, fácil manipulación, aplicación sencilla, comodidad para el paciente, y reduce la ansiedad por remoción de suturas.²² Es un biomaterial no reabsorbible y tarda entre 7 a 10 días en desprenderse del tejido. Su principal desventaja es la dehiscencia de la herida, por tanto, no está indicado en el cierre de lesiones por segunda intención.^{22,24} Actualmente, los estudios que evalúan los beneficios de este producto, se enfocan en lograr un adhesivo tisular más resistente a la tensión, aplicable en el cierre de heridas por segunda intención,²² y capaz de liberar lentamente medicamentos.²³

El láser diodo y el adhesivo tisular de cianoacrilato comparten ventajas en común, principalmente: el rápido efecto hemostático, la actividad bacteriostática, son mínimamente invasivos, el confort del paciente, y menor dolor postoperatorio.¹⁹⁻²²

Son pocos los estudios que evalúan el tiempo del cese de sangrado en cirugías con láser quirúrgico y utilizando adhesivo tisular. Recientes investigaciones orientan su aplicación clínica en pacientes con alto riesgo de sangrado.

Makarova et al.²⁶ evaluaron la reparación tisular posquirúrgica y el tiempo de cese del sangrado entre el láser Er:YAG, versus el método convencional de hemostasia en pacientes con trastornos plaquetarios. Se consideraron 86 pacientes para cirugía bucal (exodoncias, osteotomías, curetaje de bolsas periodontales y biopsias excisionales), que se dividieron aleatoriamente en dos grupos iguales. Emplearon el equipo láser Er:YAG (λ :2940nm, irradiación con contacto, modo de operación pulsado). El grupo de cirugía con láser consiguió una hemostasia en un tiempo promedio de 65 ± 5 segundos, a diferencia del otro grupo (185 ± 5 segundos). Los autores concluyen que la cirugía asistida con láser Er:YAG es una alternativa moderna y efectiva en el tratamiento quirúrgico de pacientes con trastornos plaquetarios.

Campos et al.²⁷ compararon el tiempo de sangrado en ratas con y sin anticoagulación después de realizarles frenectomías labiales con bisturí y láser diodo. Utilizaron 24 ratas albinas divididas aleatoriamente en dos grupos iguales: Un grupo de cirugía con láser (λ :810nm, fibra óptica de 400 μ m, irradiación con contacto, modo de operación pulsado, y potencia de 1.5W) y otro grupo de cirugía con bisturí. Ambos grupos se subdividieron en dos subgrupos (6 anticoagulados y 6 no anticoagulados). Del grupo de cirugía con bisturí, las ratas anticoaguladas obtuvieron un tiempo de sangrado promedio de 614.2 (D.S. $\pm$ 314.3) segundos,

comparado con 231.7 (D.S.±85) segundos de las ratas no anticoaguladas; sin embargo, la cirugía con láser diodo no registró sangrado. Evidenciaron que la frenectomía labial asistida con láser diodo provocó una hemostasia completa e inmediata en ratas durante y después de la cirugía.

En otro estudio, Oladega et al.²⁸ evaluaron las secuelas postoperatorias tras el cierre de la herida quirúrgica con ACA y sutura de seda trenzada. Se incluyeron 120 sujetos con tercer molar mandibular impactada mesioangularmente. Se asignaron aleatoriamente dos grupos iguales: Un grupo tratado con sutura y otro grupo con cianoacrilato. Los sujetos fueron seguidos durante 7 días postoperatorios. Se evaluó el dolor postoperatorio, el edema, el trismo, el sangrado, la dehiscencia de la herida y la infección de la herida. En el primer día postoperatorio el 43.4% de sujetos del grupo cianoacrilato no notaron sangrado en comparación con el 70% de sujetos del grupo sutura, encontrándose diferencia significativa ($p<0.05$). Concluyen que el ACA tiene un efecto hemostático beneficioso, más eficaz que el hilo de sutura.

Asimismo, Suthar et al.²⁹ evaluaron parámetros postoperatorios tras el cierre de heridas con hilo de sutura y ACA. Se incluyeron 20 pacientes que requirieron alveoloplastia bilateral en el mismo arco (superior o inferior) cerrando la herida con sutura de seda trenzada 3-0 en un lado y ACA en el otro. Se evaluaron los siguientes parámetros: Tiempo de cierre de herida, sangrado intra y postoperatorio, tiempo de inicio de la medicación de rescate, lado mandibular de inicio del dolor, y lado donde inicia la cicatrización. El tiempo medio en minutos

para lograr la hemostasia fue 2.71 (D.S $\pm$ 1.11) en el grupo sutura y 0.44 (D.S $\pm$ 0.23) en el grupo cianoacrilato, presentando diferencia estadísticamente significativa ($p<0.001$). Evidenciaron que el ACA tiene mejores propiedades hemostáticas, corto tiempo operatorio, menor dolor y mejor cicatrización tras la alveoloplastia, que la sutura.

Dell'Olio et al.³⁰ evaluaron la fotocoagulación de malformaciones vasculares con láser diodo en tres pacientes con tratamiento antitrombótico sin suspensión de la warfarina. Fotocoagularon con láser diodo (λ :800 $\pm$ 10nm, modo de onda continua, potencia de 3 a 5W) a tres personas con alteraciones vasculares ubicadas en labio (dos personas) y mucosa yugal (una persona) con tamaños entre 5 a 10mm. No evidenciaron sangrado durante y después del procedimiento. Los autores mencionan que el láser diodo tiene buenos resultados clínicos en el tratamiento de alteraciones vasculares con menor tamaño en la cavidad bucal, y simplifica enormemente la labor del médico, evitando la modificación preoperatoria de la terapia anticoagulante.

También Capodiferro et al.³¹ describieron el curso clínico de la reparación tisular, así como el sangrado intra y postoperatorio de la fotocoagulación de várices sublinguales con láser diodo en pacientes con tratamiento antiagregante plaquetario y antitrombótico sin suspensión del fármaco. Participaron 706 pacientes con diagnóstico clínico de várices sublinguales (<5mm), alteraciones vasculares con aspecto nodular, consistencia suave y color azul violáceo. Durante el procedimiento se realizó una sola exposición de luz a cada lesión con láser

diodo (λ :800 $\pm$ 10nm, fibra óptica de 320 μ m, irradiación sin contacto, modalidad de operación pulsado, y 12W de potencia). No observaron sangrado durante y después del procedimiento. La curación se completó entre 2 a 3 semanas y ningún paciente presentó complicaciones. Concluyeron que el láser diodo es útil para el tratamiento exitoso de las várices sublinguales de pacientes con tratamiento antitrombótico, sin suspensión preoperatoria del fármaco.

Existen múltiples investigaciones que comparan diversos equipos de láser quirúrgicos con agentes hemostáticos locales, en su gran mayoría, evalúan la reacción tisular, el proceso inflamatorio y la cicatrización del tejido ante estos agentes (estudios histológicos),³²⁻³⁵ además de los hallazgos clínicos del adhesivo tisular, como la reparación de la mucosa, el dolor postoperatorio,^{28,29} la dehiscencia de la herida,²⁸ etc. Sin embargo, es limitada la evidencia que evalúe el tiempo de cese del sangrado posquirúrgico, y más escaso es el estudio de esta variable en pacientes con tratamiento antitrombótico.^{26,30,31} Obtener un rápido control del sangrado durante y después de la cirugía bucal es un aspecto importante del agente hemostático. Las propiedades del agente hemostático ideal son: rápida hemostasia, biodegradabilidad y bioabsorbibilidad adecuada, seguridad clínica, facilidad de uso, y bajo costo.^{36,37} En cirugía de tejidos blandos, la hemostasia inmediata asistido con láser diodo es una realidad,^{27,30,31} no obstante, el costo elevado del equipo es su principal limitación para el uso cotidiano. Además, es necesario tener conocimiento sobre su manejo, medidas de seguridad en su empleo, llevar una capacitación previa, calibración para investigación y considerar los potenciales daños de la luz sobre el tejido del

paciente (efecto térmico acumulativo) y del operador (lesiones oculares, piel, etc).^{38,39}

Es conocido que el adhesivo tisular de cianoacrilato aplicado en la herida de la cavidad bucal también obtiene un rápido cese del sangrado, fácil manipulación, acorta el tiempo operatorio,^{28,29,40} y es una opción más económica que el láser diodo. Actualmente, no hay un estudio experimental que compare el tiempo de sangrado posquirúrgico entre el adhesivo tisular, técnica convencional y láser diodo en roedores con anticoagulación inducida. Por tanto, el propósito del presente estudio es comparar el tiempo de sangrado posquirúrgico de incisiones bucales con bisturí más adhesivo tisular de cianoacrilato y láser diodo de alta intensidad en ratas con y sin tratamiento anticoagulante oral.

II. HIPÓTESIS

Hipótesis nula

“El tiempo de sangrado posquirúrgico por incisión con bisturí más adhesivo tisular de cianoacrilato en bordes laterales de lengua es diferente (mayor) al tiempo de sangrado por incisión con láser diodo de alta intensidad, en ratas anticoaguladas y no anticoaguladas”.

Hipótesis alternativa

“El tiempo de sangrado posquirúrgico por incisión con bisturí más adhesivo tisular de cianoacrilato en bordes laterales de lengua es igual al tiempo de sangrado por incisión con láser diodo de alta intensidad, en ratas anticoaguladas y no anticoaguladas”.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general

Comparar el tiempo de sangrado posquirúrgico de incisiones en bordes laterales de la lengua con bisturí más adhesivo tisular de cianoacrilato y láser diodo de alta intensidad en ratas Holtzman con y sin anticoagulación.

III.2. Objetivos específicos

1. Evaluar los valores del Rango Normalizado Internacional (INR) de las ratas con y sin tratamiento anticoagulante oral.
2. Determinar el tiempo de sangrado posquirúrgico de incisiones en bordes laterales de la lengua con bisturí en ratas con y sin anticoagulación.
3. Determinar el tiempo de sangrado posquirúrgico de incisiones en bordes laterales de la lengua con bisturí más aplicación de adhesivo de cianoacrilato en ratas con y sin anticoagulación.
4. Determinar el tiempo de sangrado posquirúrgico de incisiones en bordes laterales de la lengua con láser diodo en ratas con y sin anticoagulación.

IV. METODOLOGÍA

IV.1. Diseño del estudio

El presente estudio es de tipo experimental, de corte transversal, y comparativo.

IV.2. Muestra

Para la selección de la muestra se utilizó como referencia el estudio de Campos et al.,²⁷ que empleo 24 ratas machos albinas, por lo que, en el presente estudio el número de especímenes fue igual (muestra basada en referencia). Se seleccionaron como modelo de estudio las ratas Holtzman, porque son ideales para cirugía experimental,⁴¹ para la evaluación de técnicas quirúrgicas en cavidad oral,³³ por las similitudes entre el sistema vascular de los roedores y humanos, además de ser dóciles, fáciles de manipular y tener un bajo costo en el mantenimiento.⁴¹

IV.3. Criterios de selección

IV.3.1. Criterios de inclusión:

- Ratas Holtzman machos albinas
- Con buen estado de salud, sin alteraciones físicas al examen clínico.
- Entre 8-10 semanas de edad.
- Ratas de 260-300 gramos de peso vivo.
- Certificado Sanitario avalando los criterios de selección de los roedores.

IV.3.2. Criterios de exclusión:

- Enfermedades presentes
- Antecedentes en modelos experimentales
- Alteraciones en su comportamiento, alimentación, aspecto físico.

IV.4. Operacionalización de variables

Variable Independiente: Técnica de Incisión

Definición Conceptual: Corte que se realiza en algún tejido o mucosa con un instrumento. Definición operacional: Incisión recta de 1cm en bordes laterales de la lengua de rata. Tipo Cualitativo, Politómica. Indicador: Diferencia del instrumento que realiza la incisión y el control del sangrado. Medida en escala nominal. Categorías: Con bisturí, con bisturí más adhesivo de cianoacrilato, y con láser diodo.

Variable Dependiente: Tiempo de sangrado

Definición Conceptual: Cálculo del tiempo de sangrado después de un corte, lesión o trauma de un tejido o mucosa. Definición operacional: Estimación del tiempo transcurrido entre la finalización de la incisión, hasta el cese del sangrado. Tipo Cuantitativa, Continuo. Indicador: Cese del sangrado. Medida en escala de razón. Valor: Segundos.

Covariable: Anticoagulación

Definición Conceptual: Inhibición del proceso de interacción de los factores de coagulación sanguínea, que origina un aumento del tiempo y cantidad de sangrado. Definición operacional: Administración por vía oral de agua mezclada con warfarina (800ml/2.5mg), 72 horas antes de la incisión. Tipo Cualitativa, Dicotómica. Indicador: INR (Rango Normalizado Internacional). Medida en escala Nominal. Categorías: Anticoagulado ($INR \geq 1.2$), No anticoagulado ($INR < 1.2$).

IV.5. Procedimientos y técnicas

El estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética para el uso de Animales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (CIEA-UPCH) con fecha 28 de agosto de 2019, código SIDISI N°103948 (Anexos 01 y 02) y la Escuela de Posgrado Víctor Alzamora Castro (EPGVAC) de la misma universidad (Anexo 03).

Capacitación y calibración

Para el uso adecuado y bienestar de los animales de laboratorio utilizados para los fines de la presente investigación, el investigador principal se capacitó en el Curso Internacional “Avances sobre investigación y bienestar de animales” (Anexo 04) organizado por la Asociación para el Empleo y Bienestar de Animales en Investigación y Docencia (ASOPEBAID). Para estimar el INR de la muestra de sangre de los roedores, se empleó el Coagulómetro CoaguChek XS® (Roche). La correcta manipulación del Coagulómetro requirió de orientación para su manejo, por tanto, se realizó una revisión detallada del “Manual del usuario del CoaguChek XS®”, además de utilizar recursos virtuales, que posteriormente se complementaron con la capacitación práctica en el estudio piloto. No se realizó una calibración para la utilización del láser diodo EpicX® (Biolase, España), por la razón que, las incisiones con láser de la mucosa bucal del roedor se consideraron procedimientos diferentes a la incisión con bisturí, y requirieron de un Cirujano bucal y maxilofacial calibrado, capacitado y con experiencia en el empleo del equipo de láser diodo.

Adquisición de los Animales

Los animales utilizados en este estudio fueron obtenidos del Bioterio del Laboratorio de Investigación y Desarrollo (LID) de la UPCH. La calidad sanitaria de la muestra, la cepa, edad, sexo, peso, y ausencia de enfermedades fueron requisitos que se cumplieron, a fin de no alterar los resultados experimentales.⁴²

Aclimatación de los Animales

Los animales estuvieron catorce (14) días en un periodo de aclimatación antes de su manipulación. Los roedores permanecieron en el Ambiente de Ratas y Ratones del Área de Modelos Biológicos y Toxicológicos del Servicio de Control y Calidad del LID-UPCH desde el inicio del periodo de aclimatación hasta la culminación del postoperatorio.⁴² Los diversos factores externos fueron controlados; para lo cual, se les colocaron en jaulas contiguas y ventiladas (para no perder el contacto visual, auditivo y olfativo con el resto de animales), bajo condiciones ambientales de temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), control de luz (12 horas de luz/12 horas de oscuridad),^{27,42,43} humedad estandarizada de 45-65%, control de ruido ($<20\text{ kHz}$), área controlada y purificada (15-18 recambios de aire/hora), controlando los niveles de CO_2 del ambiente.^{42,43} Todos los animales tuvieron una alimentación balanceada específico para ratones y ratas, producido por la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) Este alimento especial está validado para el uso en el Bioterio. El régimen alimenticio estándar fue de 10-20 gr./día.^{42,43} Se les administro agua potable a voluntad (de 15-30ml/día)⁴³ siguiendo el código de ética y bienestar animal,⁴² antes del inicio del experimento. Las jaulas tenían las dimensiones acordes al peso de la rata (300cm^2),^{42,43} según lo

establecido por la Federación de Asociaciones Europeas para la Ciencia en Animales de Laboratorio.⁴³ La desinfección se realizó tres veces por semana con detergente, esponja, agua, y luego se aplicó hipoclorito de sodio al 5% en 10ml en una solución de 100ml de agua.⁴² Para el lecho o cama se utilizó viruta de madera esterilizada obtenida en la UNALM. El cambio de dicho material por jaula fue de tres veces por semana, con el objetivo de evitar la concentración del amoníaco.⁴² Se contó con personal del ambiente de experimentación capacitado para un mayor cuidado de los animales.⁴² El personal evaluó el estado de salud de los roedores de forma rutinaria, para garantizar resultados fiables y repetibles.⁴³ Todas las ratas fueron examinadas (condición general, movimiento y postura, piloerección, piel, peso, apetito, función intestinal y urinaria, respiración, etc.) por el Médico veterinario para determinar su estado de salud antes de participar en el estudio.⁴³ El Bioterio tiene una infraestructura que incluye diferentes áreas que se engloban en dos zonas: zona sucia (área administrativa, vestuario, almacenaje, eliminación de desechos e incineración) y zona limpia (área de recepción de animales, alojamiento, crianza, laboratorio, área quirúrgica y áreas de limpieza, esterilización). En la zona sucia se almacenó las bolsas rojas, negras, amarillas y cajas que guardan el instrumental descartable biocontaminado). Una empresa registrada se encargó del retiro, traslado y eliminación de estos residuos, siguiendo el protocolo del “Manual de bioseguridad en el laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (OMS)”.⁴⁴

Prueba piloto

Se realizó el estudio piloto para evaluar la viabilidad del estudio, estandarizar procesos, capacitación del investigador, instrucción del personal, perfeccionamiento de procedimientos, y respuesta de los animales. Se utilizó seis ratas holtzman machos albinas (número no menor del 10% del artículo de Campos et al.)²⁷ distribuidos aleatoriamente en dos grupos de 03 roedores anticoagulados y 03 no anticoagulados, para posteriormente realizar las técnicas de incisión (bisturí, bisturí más adhesivo tisular y láser diodo) en cada grupo. Por tratarse de un estudio doble ciego, los investigadores y colaboradores en los procedimientos estaban cegados. Otro colaborador se encargó de registrar la información en la ficha de recolección de datos (Anexo 05). Se asignó al azar códigos rotulados con un marcador indeleble en la cola de cada roedor. Tres días antes de la cirugía, se procedió a administrar por vía oral la warfarina diluida sólo al grupo anticoagulado (03 ratas). El día de la cirugía se realizó la inducción anestésica por vía intramuscular de 0.86 ml/kg de Ketamina (Keta-A-100®) y 0.53 ml/kg de Xilazina (Dormi-Xyl 2®) a cargo del Médico veterinario que apoyo en esta etapa del estudio. Para la recolección de la muestra sanguínea y valoración del INR, se planteó dos alternativas de recolección: la primera menos traumática fue la punción de la cola con lanceta, que permitió obtener sangre capilar de forma práctica y sencilla. En caso de deficiente o nulo sangrado, la segunda opción fue el corte perpendicular de la punta de la cola, aproximadamente 1-2 mm con una hoja estéril de bisturí N°15. Recolectada las muestras de sangre, se utilizó el coagulómetro CoaguChek XS® (Roche),²⁷ para determinar fácilmente el valor preciso y fiable del INR.

Está reportado en múltiples investigaciones el empleo de la lengua de rata para la evaluación de los procesos de cicatrización, inflamación, y hemostasia, debido a la similitud morfológica con la lengua del ser humano.³³ Los procedimientos quirúrgicos más reportados en dorso lingual son: incisiones, biopsias excisionales, o glosectomía,³²⁻³⁵ por estas razones, se utilizó como zona anatómica de trabajo la lengua del roedor. A diferencia de otros estudios que realizan una incisión en el dorso lingual, se seleccionó ambos bordes laterales de la lengua porque: Permite una mayor separación entre ambas incisiones, evitando la proximidad e invasión del adhesivo tisular de una incisión hacia la otra adyacente, por la alta fluidez del adhesivo tisular antes de polimerizar. Además, se consideró el principio de “Reducción” de las 3R’s de Russell y Burch (Reducir, Refinar y Reemplazar) de la investigación con animales,⁴⁵ por lo que se realizó en cada lengua del roedor dos incisiones, para minimizar el uso de especímenes. Las incisiones en bordes laterales de la lengua con láser diodo se consideraron procedimientos diferentes a la incisión con bisturí, y requirieron de un Cirujano bucal y maxilofacial calibrado, capacitado y con experiencia en el empleo del equipo de láser diodo, por lo que, las incisiones con láser estuvieron a cargo de un Cirujano bucal y maxilofacial, y las incisiones con bisturí por el investigador principal del presente estudio. El procedimiento quirúrgico se inició con la antisepsia extra e intraoral, la infiltración de anestesia local (lidocaína 0.5% sin epinefrina, 7mg/kg) en ambos bordes laterales de la lengua. En este estudio se cronometra el tiempo de sangrado posquirúrgico desde la finalización de la incisión (con bisturí y fibra óptica) hasta el cese completo del sangrado, y se registró en la ficha de recolección de datos (Anexo 05) por un colaborador cegado. Con una hoja de bisturí (N°15) se

procedió con una incisión lineal de 1cm de largo paralelo al eje longitudinal de la lengua, y profundidad aproximada de 1mm. Se secó el sangrado con papel de filtro cada 30 segundos hasta que ceda, y se registró el tiempo de sangrado posquirúrgico en la ficha de datos. En otro borde lateral de lengua se realizó también una incisión con bisturí, y antes de colocar una capa (1cm de extensión) de adhesivo tisular de cianoacrilato de la marca Histoacryl® (Anexo 07, Figura 01), por indicación del fabricante se secó con papel de filtro la herida. También se registró el tiempo de sangrado posquirúrgico en la ficha de datos. Para la incisión con láser diodo del borde lateral de lengua de otro roedor, se utilizó el EpicX® (Biolase, España) de $940\pm 10\text{nm}$ de longitud de onda (Anexo 07, Figura 02). Se seleccionó este equipo por su disponibilidad en el país, características y especificaciones similares al equipo utilizado por Campos et al.²⁷ Como medio de transmisión de la luz láser se utilizó una punta de fibra óptica de $600\mu\text{m}$ de diámetro, con contacto, modo de operación “pulsado” para la transmisión de la luz láser mediante ondas pulsadas reiteradas, instrucciones detalladas en el “Manual del usuario Epic X” para cirugía de tejidos blandos. La profundidad del corte (fotoablación) de los bordes laterales de lengua de rata con láser diodo se estima entre $260\text{-}330\mu\text{m}$ aproximadamente. Esta información se fundamenta en la investigación de Hanke et al.⁴⁶ quienes demostraron que la profundidad de corte de tejido blando con equipo láser diodo con longitud de onda entre $810\text{ a }980\text{nm}$, potencia de salida 2.5 W , con contacto, modo de operación continuo y velocidad de 2mm/s tiene una profundidad en el rango de $330\text{ a }260\mu\text{m}$, respectivamente. El cirujano asignado para las incisiones con láser, realizó ajustes en la potencia de salida (configuración de la potencia), para evitar posibles daños térmicos en el

tejido circundante durante la cirugía. De acuerdo al “Manual del usuario Epic X” para cirugía de tejidos blandos, menciona que es importante empezar con una menor potencia de salida, y gradualmente ésta se incrementa hasta el efecto biológico deseado. Por ese motivo se inició con 0.8W de potencia media y se fue incrementando gradualmente, hasta la potencia media de 1.6W (que se aproxima a la Potencia media de 1.5W del estudio de Campos et al.)²⁷ que permitió obtener una incisión con efecto hemostático. Seguidamente, el tiempo de sangrado posquirúrgico se registró en la ficha de datos. Las enmiendas del proyecto de investigación se notificaron al CIEA-UPCH, que mediante la emisión de una solicitud se argumentó las modificaciones, que fueron revisadas en sesión del CIEA-UPCH para su aprobación con fecha 30 de octubre de 2019 (Anexo 06).

Aleatorización de los roedores

Culminado el estudio piloto, las 24 ratas Holtzman se dividieron aleatoriamente en seis grupos:

Grupos Control (negativo):

- Cirugía con bisturí (Anticoagulado)
- Cirugía con bisturí (No anticoagulado)

Grupos Control (positivo):

- Cirugía con láser de alta intensidad (Anticoagulado)
- Cirugía con láser de alta intensidad (No anticoagulado)

Grupos Experimental:

- Cirugía con bisturí más adhesivo tisular (Anticoagulado)
- Cirugía con bisturí más adhesivo tisular (No anticoagulado)

Administración de la warfarina (anticoagulante)

Trascurrido el periodo de 14 días de aclimatación de las 24 ratas en el Bioterio, se separó a los roedores en jaulas individuales para asegurar que todos consuman un volumen similar de agua, tres días (72 horas) antes de la cirugía. Como se mencionó anteriormente, las ratas no se alojaron individualmente (aislamiento), ya que esto puede alterar muchos parámetros bioquímicos y del comportamiento, resultando estresante. No obstante, el aislamiento de los animales por 72 horas fue obligatorio para el control de la ingesta de agua de cada rata. Algunas de las características de las viviendas se mitigaron (cercanía entre las jaulas) para garantizar, un contacto auditivo y olfativo con las otras ratas (Anexo 08, Figura 03). El investigador principal procedió a preparar la medicación anticoagulante utilizando 2.5mg de warfarina (Eurofarma®) pulverizada en mortero y pilón. Se diluyó en 800 ml de agua potable, para posteriormente administrar el medicamento en un bebedero de 250ml (cantidad de agua proporcionada 150ml) a cada rata del grupo anticoagulado (Anexo 08, Figura 04). El volumen de agua ingerido por la rata fue evaluado, con el fin de mantener la estandarización. A las ratas del grupo no anticoagulados se les proporciono el mismo volumen de agua (150ml) sin warfarina. El volumen de agua consumida se registró en la ficha de recolección de datos (Anexo 05) de la siguiente manera: Volumen inicial en la botella - Volumen final en la botella = Volumen consumido.²⁷

Manipulación de los animales

El dolor y el estrés tienden a alterar el balance homeostático del animal y provocan cambios fisiológicos (endocrinos, inmunológicos, etc.) disminuyendo el

consumo de agua y alimentos, que pueden causar complicaciones postoperatorias, todo ello, con un impacto negativo en los resultados experimentales. Se consideró como señales de alarma, para que el ejemplar descontinúe la investigación, las alteraciones desencadenadas por el dolor, como: contracciones reflejas de la musculatura esquelética, aumento de la presión arterial y la frecuencia cardíaca, cambios en el patrón respiratorio, aumento de la salivación y sudoración, cambios en el brillo de los ojos, dilatación de las pupilas, cambios en la expresión facial, posición de las orejas y del bigote.⁴³

Pesado

El día de la cirugía se realizó el pesado de las ratas seleccionadas aleatoriamente. Cuidadosamente se retiró al roedor de la jaula para trasladarlo a una balanza digital calibrada (Anexo 09, Figura 05). El procedimiento duró un minuto aproximadamente por cada animal, y se le devolvió a su jaula respectiva.

Manejo farmacológico (Inducción anestésica)

Antes de la recolección de la muestra sanguínea y la cirugía, los roedores fueron anestesiados por el médico veterinario. Con el peso obtenido se calculó la dosis de los fármacos que se administraron (anestésico, analgésico-antiinflamatorio). Se retiró de la jaula a un roedor, y manteniendo su confort y tranquilidad, se inyectó por vía intramuscular (IM) con una jeringa de tuberculina (Anexo 09, Figura 06) 0.86 ml/kg de Ketamina (Keta-A-100®) y 0.53 ml/kg de Xilazina (Dormi-Xyl 2®).²⁷ Posteriormente, se regresó al animal a su jaula, y se vigiló hasta conseguir el efecto anestésico, el cual inicio en un tiempo aproximado de 3-5 minutos.

Recolección de la muestra de sangre - Estimación del INR

Al roedor anestesiado, se le retiró de su jaula para colocarlo en posición decúbito supino en una superficie plana, limpia, y estéril de la mesa de trabajo. Otro ayudante lavó la cola con agua y jabón líquido de cualquier resto de heces u orina. Se aplicó alcohol etílico al 70% dejando evaporar en un tiempo de 2 minutos. Después se calentó la cola sumergiéndola en un vaso descartable con agua caliente por 5 minutos (36-40°C) y se secó. Se realizó la punción con lanceta estéril (CoaguChek® XS Softclix) a 2-3 cm en la base de la cola del roedor (vena ventral). Se presionó suavemente proximal a la punción para estimular el sangrado. En caso de deficiente o nulo sangrado, se realizó el corte perpendicular de 1-2 mm de la cola del roedor con una hoja estéril de bisturí N°15 (vena caudal). Se aplicó una suave presión próximo al corte y se recogió la sangre mediante la tira reactiva (CoaguChek XS®, Roche) en un tiempo menor de 15 segundos, por indicación del fabricante (Anexo 10, Figura 07). La muestra fue procesada por un ayudante cegado utilizando el coagulómetro CoaguChek XS® Roche (Anexo 10, Figura 08) cuyo resultado del INR fue anotado en la ficha de recolección de datos (Anexo 05). Se realizó presión suave con torunda de algodón estéril durante 30-45 segundos. Para cada procedimiento de recolección sanguínea, la lanceta y la hoja de bisturí se cambió por roedor.

Intervención Quirúrgica

A la rata anestesiada en posición decúbito supino se apertura la cavidad bucal mediante sujeción de los incisivos superiores e inferiores con ligas y tachuelas (Anexo 11, Figura 09). El instrumental utilizado en la intervención quirúrgica se

esterilizó previamente en autoclave. Asimismo, la zona quirúrgica se preparó para trabajar en condiciones estériles.²⁷

1. Antisepsia extraoral: Se aplicó solución de Yodopolividona al 10% (ALKOYODO®) con hisopos estériles²⁷ (Anexo 11, Figura 10).

2. Antisepsia intraoral: Se realizó con hisopos embebidos con Digluconato de Clorhexidina 0.12% y Cloruro de Cetilpiridinio 0.05% (Perio·Aid® Tratamiento) en el sitio quirúrgico²⁷ (Anexo 12, Figura 11).

3. Anestesia Local: Se infiltró con una jeringa cárpule el anestésico local lidocaína 0.5% sin epinefrina (7mg/kg)⁴³ en el borde lateral de la lengua donde se realizó la cirugía (Anexo 12, Figura 12). Se utilizó aguja dental corta (NIPRO®).

4. Incisión: Se procedió con las técnicas de incisión en el siguiente orden.

-Incisión con bisturí:

Con una pinza porta aguja se retrajo la lengua, ejerciendo una presión suave en la punta de este órgano. Teniendo una mayor visibilidad del borde lateral de la lengua, se preparó el mango de bisturí N°3 con una hoja de bisturí N°15 de acero desechable (Biolife®) y se realizó una incisión lineal de 1cm de largo paralelo al eje longitudinal de la lengua, con 1mm de profundidad aproximadamente. Estas medidas se replicaron en todas las incisiones con bisturí con el objetivo de garantizar la máxima reproducibilidad posible en los procedimientos (Anexo 13, Figura 13 y 14). Las incisiones se realizaron en el borde lateral de la lengua, izquierda o derecha, según aleatorización (Anexo 14, Figura 15).

-Incisión con bisturí más adhesivo tisular:

En otro borde lateral de la lengua de la rata se realizó el mismo procedimiento de incisión con bisturí (1cm de largo y 1mm de profundidad aproximadamente).

Después de secar la herida con papel de filtro (por indicaciones del fabricante) se colocó una capa de adhesivo tisular de cianoacrilato (Histoacryl®) de igual longitud a la incisión (Anexo 14, Figura 16). El adhesivo tisular polimerizo en 10 segundos aproximadamente.

-Incisión con láser diodo:

También se realizó una incisión lineal de 1cm de largo en otro borde lateral de la lengua con una punta de fibra óptica de 600µm de diámetro como medio de transmisión de la luz láser (Anexo 15, Figura 17 y 18), con contacto, en modo de operación pulsado, y potencia media de 1.6 W. Estos parámetros se basaron en las estimaciones de la prueba piloto, y valores referenciales también están detallados en el “Manual del usuario Epic X” para cirugía de tejidos blandos. El equipo utilizado fue el láser diodo con 940±10nm de longitud de onda (Epic X® Biolase España).

Estimación del tiempo de sangrado

Después de cada incisión, se cronometra con un reloj digital el tiempo de sangrado posquirúrgico desde la finalización de la incisión (con bisturí y fibra óptica) hasta el cese completo del sangrado, información que se registró en la ficha de recolección de datos (Anexo 05) por otro ayudante cegado. La sangre se secó con papel de filtro cada 30 segundos hasta que ceda.²⁷ No hubo sangrado tardío en ningún roedor dentro de los 15 minutos de control posquirúrgico.

Manejo Postoperatorio

Después de la intervención quirúrgica se colocó a las ratas en su jaula respectiva (Anexo 16, Figura 19).

1. Analgesia: La analgesia postoperatoria se realizó con Meloxicam (Genfar®) en dosis de 0.3-1 mg/kg de peso administrado por vía subcutánea (SC) cada 12-24 horas por tres días después de la intervención.⁴³

2. Controles: Durante los dos primeros días se administró dieta blanda que consistió en alimento balanceado específico para ratones y ratas mezclado con agua en una proporción 50/50 suministrado por vía oral, para disminuir la fricción con las mucosas lesionadas. Las observaciones diarias estuvieron a cargo del investigador principal del estudio (Anexo 16, Figura 20) y colaboradores del Bioterio. Los animales permanecieron en el Ambiente de Ratas y Ratones del Área de Modelos Biológicos y Toxicológicos del Servicio de Control y Calidad del LID-UPCH hasta la reparación completa de la herida.

3. Destino final de los animales: Culminada la ejecución del estudio se realizó la donación de las ratas al Bioterio LID-UPCH.

IV.6. Consideraciones éticas

El estudio se ejecutó con la aprobación del Comité Institucional de Ética para el uso de Animales (CIEA-UPCH) que tuvo un período de 12 meses a partir del 28 de agosto de 2019 (Anexos 01), y se aprobó su renovación el 26 de agosto de 2020 en sesión del CIEA antes del vencimiento del plazo anual (Anexo 02). El CIEA es un organismo encargado de supervisar los aspectos éticos en el empleo de los animales en la investigación, para asegurar el cumplimiento de las regulaciones en relación a las condiciones de cuidado y manejo de los especímenes. Como parte de las políticas, regulaciones y procedimientos del CIEA-UPCH, el investigador responsable del presente estudio acreditó capacitación básica de Ética en investigación, con la participación en el curso de Conducta Responsable en Investigación (CRI) del Centro Andino de Investigación y Entrenamiento en Informática para la Salud Global de la UPCH (Anexo 17), y el curso en Conducta Responsable de la Investigación del CITI-Program (Collaborative Institutional Training Initiative) (Anexo 18). Ambos cursos son parte de Programas de educación en Ética de la investigación, para desarrollar una conducta ética y responsable, además de un gran compromiso con la integridad científica en los estudiantes investigadores. Se envió al CIEA “Reportes Periódicos” de los avances del estudio. La presentación de los Reportes Periódicos es un requisito indispensable para la renovación de la aprobación por el CIEA. El estudio siguió las indicaciones, normas y recomendaciones de la Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio.⁴² Se respetaron los principios éticos y la integridad científica de los animales que dictamina la UNESCO en su declaración universal de los derechos del animal.⁴⁷ El proceso de monitoreo por el

CIEA estuvo vigente hasta que se informó del término del proyecto de investigación, solicitud que se aprobó en sesión del 23 de febrero de 2022 (Anexo 19).

IV.7. Plan de análisis

Toda la información obtenida se almaceno en una base de datos en Microsoft Excel 2016, y se exporto al software estadístico STATA 17 para el análisis estadístico. El valor del INR de las muestras de sangre de los roedores presentaron una distribución z, mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Se utilizó la Prueba de Kruskall Wallis para comparar todos los grupos, y la U de Mann Whitney para la comparación de grupos pares, de los valores del INR y el tiempo de sangrado posquirúrgico de todos los grupos (bisturí, bisturí más adhesivo tisular y láser) de ratas anticoaguladas y no anticoaguladas. Para la comparación del tiempo de sangrado de los grupos de incisión con bisturí en ratas anticoaguladas y no anticoaguladas se usó la Prueba de T-Student (distribución normal).

V. RESULTADOS

Los resultados de esta investigación, de acuerdo con los objetivos planteados, permitió determinar que la media del INR de todos los grupos de incisión quirúrgica, presentaron diferencia estadísticamente significativa ($p<0.01$) mediante la Prueba de Kruskal Wallis. Asimismo, en la evaluación de grupos pares con la Prueba de U de Mann Whitney, también hubo diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) entre los grupos de incisión con bisturí, con bisturí más adhesivo tisular y láser, en ratas anticoaguladas y no anticoaguladas (tabla 01).

Tabla 1. Evaluación de los valores del INR de las ratas con y sin anticoagulación.

Incisión	Valores de INR	
	Media	(D.S.)
Bisturí		
Anticoagulado	2.66 abc	(± 1.12)
No anticoagulado	1.03 ade	(± 0.05)
Bisturí más adhesivo tisular		
Anticoagulado	2.28 dfg	(± 0.91)
No anticoagulado	1.05 bfh	(± 0.05)
Láser quirúrgico		
Anticoagulado	2.64 ehi	(± 0.99)
No anticoagulado	1.03 cgi	(± 0.05)

INR: Rango Normalizado Internacional

D.S.: Desviación estándar

*Prueba de Kruskal Wallis ($p<0.01$).

**Prueba de U de Mann Whitney: letras iguales diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$).

Con respecto al tiempo de sangrado posquirúrgico (Tabla 02), el grupo de incisión con bisturí en ratas anticoaguladas registró el promedio más alto con 192.75 segundos (D.S $\pm$ 51.5), seguido de 184.88 segundos (D.S $\pm$ 59.0) en ratas no anticoaguladas. Esta diferencia en el tiempo de ambos grupos no presentó diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$) con la Prueba de T-Student. Un promedio mucho menor se obtuvo en los grupos de incisión con bisturí más adhesivo de cianoacrilato con 48.38 (D.S $\pm$ 22.69) y 30.25 segundos (D.S $\pm$ 10.79) en ratas anticoaguladas y no anticoaguladas respectivamente, encontrándose diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$). No se obtuvo resultados en los grupos de incisión con láser diodo, debido a que no registraron sangrado posquirúrgico en todas las ratas.

En la comparación del tiempo de sangrado posquirúrgico de los grupos de incisión con bisturí más adhesivo de cianoacrilato, e incisión sólo con bisturí en ratas anticoaguladas y no anticoaguladas, se obtuvo diferencia estadísticamente significativa ($p<0.01$). También se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) en la comparación del tiempo de sangrado posquirúrgico de los grupos de incisión con bisturí más adhesivo de cianoacrilato, con respecto a los grupos de incisión con láser diodo en todas las ratas (se acepta la hipótesis nula).

Tabla 2. Determinación del tiempo de sangrado posquirúrgico de las incisiones en bordes laterales de la lengua de ratas con y sin anticoagulación.

Incisión	Tiempo de sangrado posquirúrgico (segundos)					
	Media (D.S.)	Q1	Q2	Q3	IQR	
Bisturí						
Anticoagulado	192.75 ^{ab} (±51.5)	163	188.5	202.5	39.5	
No anticoagulado	184.88 ^{cd} (±59.0)	142	170.5	230.0	88	
Bisturí más adhesivo tisular						
Anticoagulado	48.38 ^{ace} (±22.69)	32	40	62.5	30.5	
No anticoagulado	30.25 ^{bde} (±10.79)	24	24.5	36	12	
Láser						
Anticoagulado	0 0	0	0	0	0	
No anticoagulado	0 0	0	0	0	0	

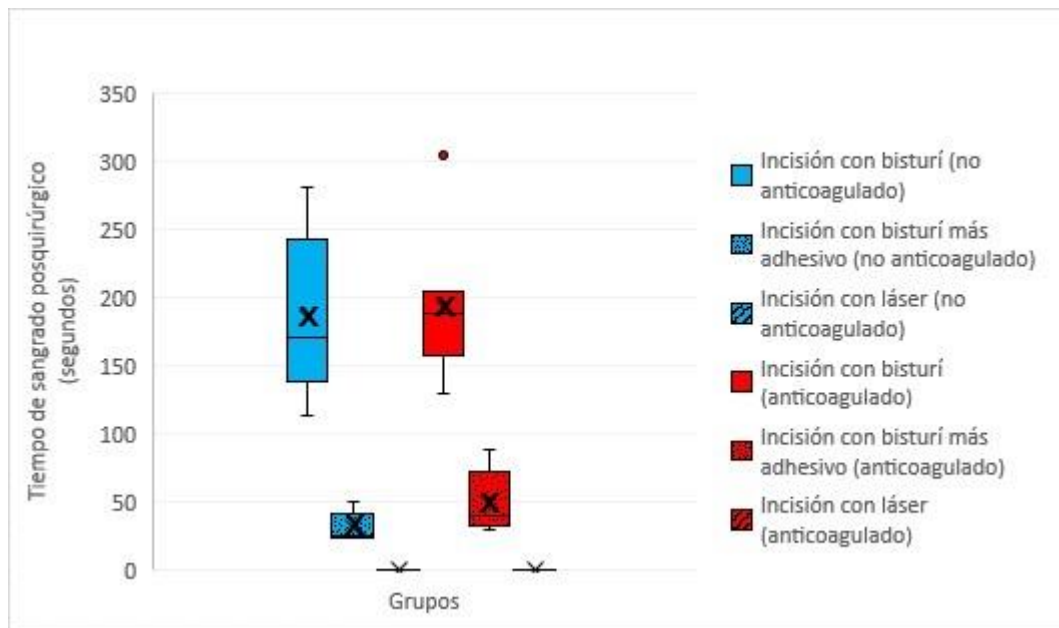
D.S.: Desviación estándar; Q1: Primer cuartil; Q2: Segundo cuartil; Q3: Segundo cuartil; IQR: Factor intercuartílico.

*Prueba de Kruskal Wallis ($p < 0.01$).

**Prueba de U de Mann Whitney: letras iguales diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

En el gráfico 01 no hay una representación gráfica de los grupos de incisión con láser porque no hubo sangrado posquirúrgico. Sin embargo, de las cuatro cajas que se visualizan, el grupo con menor tiempo de sangrado posquirúrgico, menor media, y menor rango intercuartílico es el grupo de incisión con bisturí más adhesivo tisular de cianoacrilato en ratas no anticoaguladas, seguido del mismo grupo en ratas anticoaguladas.

Gráfico 1. Tiempo de sangrado posquirúrgico de los tres grupos de incisión en ratas no anticoaguladas y anticoaguladas.



VI. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, los valores de INR del grupo de ratas que no recibieron anticoagulante presentaron valores por debajo de 1.05, cifra considerada “No Anticoagulado”. El grupo de ratas que, si recibieron anticoagulante, presentaron valores superiores a 2.28, rango terapéutico considerado “Anticoagulado”. Esta información concuerda con los resultados de Campos et al.²⁷ (2018) que detallaron valores de INR menor a 1.1 en los grupos de ratas no anticoagulados, y mayor a 5 en los grupos de ratas anticoaguladas.

En relación al área anatómica para la incisión, en este estudio se realizó incisiones en los bordes laterales de la lengua de todas las ratas, distinto a lo realizado por Campos et al.²⁷ (2018) que seleccionaron el frenillo labial de los roedores para la cirugía. La lengua es el órgano de la cavidad oral de la rata extensamente referenciado en estudios experimentales, para la evaluación de la cicatrización, inflamación y hemostasia.³²⁻³⁵ Por su alta irrigación sanguínea es una alternativa en el muestreo de sangre,⁴⁸ además, por su similitud morfológica con la lengua de los humanos es de utilidad en cirugía experimental.³³ El dorso de la lengua de rata es la parte más utilizada para incisiones de acuerdo a los estudios de Carew et al.³² (1998) y Üstün et al.³⁵ (2020); en biopsia excisional por Camacho et al.³³ (2005), y glossectomía parcial por Shires et al.³⁴ (2012). No está reportado incisiones con bisturí o láser diodo en los bordes laterales de la lengua, por lo que este estudio es el primero en utilizar esta parte anatómica para incisiones y estimación del tiempo de sangrado.

Respecto a la evaluación del tiempo de sangrado posquirúrgico, en este estudio se evidencia menor tiempo en los grupos de incisión de borde lateral de lengua agregando adhesivo tisular, comparado con los grupos de incisión con bisturí sin adhesivo tisular ($p < 0.05$) en las ratas anticoaguladas y no anticoaguladas. Sin embargo, los resultados de Camacho et al.³³ (2005) no observaron sangrado en el postoperatorio inmediato después de aplicar adhesivo tisular de cianoacrilato en heridas provocadas por biopsias excisionales de 6mm de diámetro en dorso de lengua de rata. Sus resultados se deben a la diferente estimación de la variable “grado de sangrado”, siendo evaluado después de la aplicación del adhesivo tisular. No obstante, en el presente estudio se cronometra el “tiempo de sangrado posquirúrgico” desde la finalización de la incisión (con bisturí y fibra óptica) hasta el cese completo del sangrado, y no después de aplicar el adhesivo tisular.

Los resultados de la presente investigación son similares a lo reportado por Üstün et al.³⁵ (2020) en su estudio comparativo entre adhesivo tisular de cianoacrilato (Dermabond®) e hilo de sutura reabsorbible (Vicryl®), que evidenciaron disminución del sangrado después de colocar 0.1ml de adhesivo tisular en el cierre de incisiones lineales (1.5cm) en dorsos de lengua de ratas. Asimismo, Al-Belasy y Amer⁴⁹ (2003) evaluaron el tiempo de sangrado postexodoncia aplicando adhesivo tisular de cianoacrilato (Histoacryl®) comparado con medidas de hemostasia local (hilo de sutura reabsorbible y esponja de gelatina) en pacientes con y sin terapia anticoagulante. Los investigadores observaron menor sangrado aplicando tres capas de adhesivo tisular en el cierre de las heridas postexodoncia que implicaron levantamiento de colgajo mucoperióstico y alveoloplastia, siendo significativamente mayor el tiempo de sangrado en los grupos con medidas de

hemostasia local (10 minutos). Dos recientes estudios realizados en pacientes sin antecedente sistémicos reportan menor sangrado con adhesivo tisular de cianoacrilato. Oladega et al.²⁸ (2019) observaron menor sangrado en pacientes sometidos a cierre de herida postexodoncia de tercer molar inferior aplicando dos capas de adhesivo tisular (Amcrylate®), en comparación con el hilo de sutura 3-0 (Ethicon®) con técnica de sutura discontinua, encontrando diferencia estadísticamente significativa en el primer día del postoperatorio. Asimismo, Suthar et al.²⁹ (2020) evidenciaron menor tiempo de sangrado (0.44min, DS±0.23) aplicando adhesivo tisular (Endocryl®) comparado con 2.71 min (DS±1.11) del hilo de sutura seda negra 3-0 (Ethicon®) en el cierre de colgajo mucoperióstico por alveoloplastia bilateral, con diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

En cirugía bucal, es evidente el potencial hemostático del adhesivo tisular de cianoacrilato, asociado o no a trastornos de la hemostasia. La literatura señala la utilidad de este producto para el cierre de heridas intraorales, considerándolo prometedor, no solo por sus propiedades oclusivas y cicatrizantes, sino también por sus propiedades hemostáticas, analgésicas y bacteriostáticas.^{22-25,29} Veríssimo et al.⁴⁰ (2021) en su revisión sistemática sobre los efectos hemostáticos, analgésicos y cicatrizantes del adhesivo de cianoacrilato, concluyeron que disminuye el tiempo del acto operatorio, reduce el tiempo de sangrado posquirúrgico, es bien tolerado por los tejidos, lo que contribuye para una mejor cicatrización, además, de reducir la percepción del dolor, disminuir el malestar postoperatorio y aminorar el consumo de analgésicos. Oladega et al.²⁸ (2019) informaron la reducción tiempo quirúrgico total por disminución del tiempo de

cierre de la herida, que influye considerablemente en reducir la tasa de complicaciones postoperatorias. El adhesivo tisular aplicado en la herida sella los bordes de la lesión actuando como una barrera superficial sin dejar espacio para que los restos de alimentos, acción de la saliva u otros productos orales interfieran durante la reparación del tejido,⁴⁰ además de proporcionar una fuerte unión y resistencia para mantener unidos los márgenes de los tejidos.²⁹ El adhesivo tisular de cianoacrilato es un agente hemostático biocompatible, que experimenta una rápida polimerización por reacción de hidroxilación exotérmica (libera calor) en contacto con el agua, la humedad de los tejidos, la sangre o la saliva.²⁹ Los estudios citados demuestran que la hemostasia local se obtiene rápidamente después de aplicar el adhesivo tisular sobre la lesión, aunque, el mecanismo de acción por el cual se promueve la hemostasia no está del todo claro. La hipótesis actual menciona el bloqueo mecánico por el éster de cianoacrilato formando una fina capa que enlentece el flujo sanguíneo, que además proporciona un agente de superficie para activar la cascada de la coagulación.^{28,29,40} Actualmente hay evidencia que la capa de adhesivo forma una masa porosa que se llena de sangre y se coagula dentro de los poros del adhesivo.^{29,40}

La hemostasia asistida por láser (fotocoagulación) es resultado de la interacción de la radiación del láser diodo (rango de longitud de onda λ :800-1000nm) con los vasos sanguíneos, obteniéndose un campo operatorio sin sangrado durante y después de la cirugía.⁵⁰ En este estudio, los resultados de los grupos de incisión en borde lateral de la lengua con láser diodo (λ :940 $\pm$ 10nm, fibra óptica de 600 μ m de diámetro, con contacto, modo de operación pulsado, y potencia de 1.6W) no registraron tiempo de sangrado posquirúrgico en ratas anticoaguladas y no

anticoaguladas, igual a lo reportado por Campos et al.²⁷ (2018) en ratas holtzman anticoaguladas y no anticoaguladas, utilizando laser diodo de λ :810nm, fibra óptica de 400 μ m, irradiación con contacto, modo de operación pulsado, y potencia de 1.5W. En el estudio de Capodiferro et al.³¹ (2020), realizaron fotocoagulación de várices sublinguales con láser diodo (λ :800 $\pm$ 10nm, fibra óptica de 320 μ m, irradiación sin contacto, modalidad de operación pulsado, y 12W de potencia) en 706 pacientes que no suspendieron su terapia anticoagulante oral; sus resultados no observaron sangrado posquirúrgico; que concuerda también con lo reportado por Dell'Olio et al.³⁰ (2020) que emplearon el láser diodo (λ :800 $\pm$ 10nm, modo de operación continua, potencia de 3 a 5W) en la fotocoagulación de várices bucales en tres pacientes con terapia antitrombótica. Ambos estudios concluyen que el láser diodo obtuvo un tratamiento exitoso en la fotocoagulación de estas alteraciones vasculares en pacientes anticoagulados, sin la suspensión del fármaco antitrombótico.^{30,31} No obstante, la modalidad de operación continua, utilizado por Dell'Olio et al.³⁰ (2020) difiere al modo de operación en pulso utilizado en los estudios de Campos et al.²⁷ (2018), Capodiferro et al.³¹ (2020) y la presente investigación. Michalik et al.⁵⁰ (2021) informaron que, en cirugía de tejidos blandos los profesionales capacitados en el uso del láser diodo prefieren el modo de operación “onda continua”, debido a las limitaciones de la potencia de pulso en los láseres de diodo más comunes y su menor tiempo operatorio. Sin embargo, el modo de operación “onda pulsada” tiene la ventaja de realizar procedimientos con menor daño tisular, porque brinda un periodo de relajación térmica con menor incremento de la temperatura, lo cual es bueno para el tejido. En relación a la profundidad de la incisión, Hanke et al.⁴⁶ (2021) en su estudio sobre la

determinación cuantitativa del factor de eficacia del corte del láser diodo con ocho de longitudes de onda (rango de 400 a 1500nm) evidenciaron que el aumento en la potencia de salida no se correlaciona con la profundidad de la incisión y el daño térmico del tejido blando, pero si están correlacionados estos últimos con la longitud de onda (λ) de la luz láser. La longitud de onda y la profundidad de corte tienen una relación inversamente proporcional, por tanto, a menor longitud de onda, mayor profundidad de corte. Durante la aplicación del láser, el efecto de profundidad se puede subdividir en efectos mecánicos (profundidad de corte) y efectos térmicos (tejido fotocoagulado). Asimismo, determinaron que el ancho del corte del tejido está por debajo del diámetro del núcleo de la fibra óptica del láser. Lo evidenciado por Hanke et al.⁴⁶ (2021) permitiría a los investigadores hacer pronósticos sobre la interacción esperada en el tejido blando, con respecto al comportamiento del corte y los efectos térmicos del láser diodo. El efecto biológico de la luz láser sobre el tejido no sólo dependerá de la longitud de onda, también intervienen las características del tejido,¹⁷⁻²¹ dentro de los cuales están la composición del tejido, el factor de anisotropía, la conductividad térmica, la capacidad calorífica específica, la perfusión sanguínea, el coeficiente de absorción y dispersión.⁴⁶ Para que ocurra el efecto biológico, la energía de la luz láser tiene que ser absorbida por el tejido, es decir, si no es absorbida la luz, el efecto será nulo.¹⁷⁻²¹ En la aplicación de luz láser con rango de longitud de onda entre 800 a 1000nm sobre un tejido, la absorción de la energía ocurre principalmente en los cromóforos melanina (piel) y hemoglobina (sangre), que tienen un coeficiente de absorción por encima de lo que absorbe el agua.⁵⁰ Un tejido con mayor coeficiente de absorción utilizará menos energía, por consiguiente, habrá una menor

elevación de la temperatura y mínimo daño tisular. Considerando esta información, los procedimientos quirúrgicos en lengua, por ser un órgano muy vascularizado posee los cromóforos (hemoglobina) que aprovechan la propiedad física del láser para una mayor absorción de la luz láser, y un efecto fototérmico (fotocoagulación) con menor daño tisular. Esto concuerda con los trabajos de Dell'Olio et al.³⁰ (2020) y Capodiferro et al.³¹ (2020) que seleccionaron malformaciones vasculares de la cavidad bucal para evaluar la fotocoagulación del láser diodo en el tratamiento de las alteraciones vasculares. Para los investigadores, el mecanismo de acción del efecto hemostático del láser se obtiene por fotocoagulación transepitelial, con absorción de la luz láser por la oxihemoglobina de la sangre principalmente, provocando fototermólisis, microaglutinación de eritrocitos y obliteración de vasos sanguíneos.

Desde el inicio de este milenio, los láseres diodo se han establecido como nuevas tecnologías fotónicas en la odontología moderna, y su aplicabilidad abarca diversas especialidades odontológicas como endodoncia, periodoncia, implantología y cirugía bucal. En el área quirúrgica esta tecnología se utiliza para diversos procedimientos de la cavidad bucal como: cicatrización acelerada de heridas, alivio del dolor, desinfección térmica de los bordes de la herida, y eliminación del tejido blando bucal con fotocoagulación simultánea.^{51,52} No obstante, es conocido que el efecto fototérmico derivado del uso de los láseres, puede lesionar estructuras vecinas si no se respeta los parámetros de emisión, ocasionando un efecto térmico acumulativo (calor) en un tejido específico.¹⁷⁻²¹ El riesgo de daño por calor, la falta de control de la luz láser sobre el tejido, la

capacitación del operador, y el elevado costo del equipo, aún limitan su uso sistemático.^{38,39}

En relación a la capacitación del personal para el empleo del láser diodo, durante el desarrollo del presente estudio, existieron limitaciones. Primero, la decisión de considerar dos cirujanos en la realización de incisiones con bisturí y láser diodo de los bordes laterales de lengua de rata, y no un único operador. Esta medida se tomó por las siguientes razones: Primero, el limitado tiempo para una calibración del operador en el manejo del equipo láser diodo. Segundo, la ejecución del estudio se realizó en el mes de diciembre de 2019, cercano al cese de actividades del Bioterio LID-UPCH por finalización de año. Y tercero, las noticias acerca de la aparición e inicio de contagios en Wuhan-China (01 de diciembre de 2019) del COVID-19, con el consecuente confinamiento social a nivel global. Existieron otras limitaciones relacionadas con la interacción del láser diodo y el tejido, por ejemplo: no fue posible controlar la presión de contacto y el ángulo de inclinación de la fibra óptica sobre el borde lateral de la lengua, así como, la eficacia del corte (profundidad, ancho y daño térmico) durante la incisión. Los estándares mencionados son poco estudiados actualmente,⁴⁶ sin embargo, permitirían reducir el sesgo en la investigación.

VII. CONCLUSIONES

En base a los resultados se concluye que:

- Evaluados los valores del Rango normalizado Internacional (INR) de las muestras de sangre de los roedores, presentan mayor INR el grupo de ratas que recibieron anticoagulante, en comparación con el grupo de ratas que no recibieron anticoagulante, encontrándose diferencia estadísticamente significativa.
- En los grupos de incisión con bisturí, se obtuvo mayor tiempo de sangrado posquirúrgico en las ratas con anticoagulación, comparado con las ratas sin anticoagulación; sin embargo, no hay diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.
- En los grupos de incisión con bisturí más adhesivo tisular, hay menor tiempo de sangrado posquirúrgico en las ratas sin anticoagulación, en comparación con las ratas anticoaguladas, encontrándose diferencia estadísticamente significativa.
- En los grupos de incisión con láser diodo, no se evidencia sangrado posquirúrgico en las ratas anticoaguladas y no anticoaguladas.
- Existe diferencia estadísticamente significativa en la comparación del tiempo de sangrado posquirúrgico de los grupos de incisión con bisturí más adhesivo tisular, que fue menor al tiempo obtenido por los grupos de incisión con bisturí en ratas anticoaguladas y no anticoaguladas.

VIII. RECOMENDACIONES

- Desarrollar líneas de investigación orientadas a estudios experimentales en roedores anticoagulados, para la evaluación clínica, histológica, imaginológica, etc. de diversos agentes de hemostasia local, considerando la sencilla reproducibilidad de la anticoagulación en ratas.
- Realizar estudios experimentales en roedores anticoagulados y no anticoagulados, para la comparación de técnicas quirúrgicas mínimamente invasivas, que tiene amplia aplicabilidad y repercusión en cirugía bucal de pacientes con alto riesgo de sangrado.
- Desarrollar estándares en los cortes con láser diodo y bisturí en tejido blando, que sean reproducibles en la práctica clínica, y permita reducir el sesgo en la investigación.
- Realizar estudios que comparen resultados clínicos, histológicos e inmunohistoquímicos de cortes de tejido blando bucal con láser diodo empleando diversos parámetros de láser diodo y características tisulares.
- Desarrollar estudios experimentales y ensayos clínicos que comparen los resultados de los diferentes tipos de adhesivo tisular de cianoacrilato aprobados por la FDA en pacientes con alto riesgo del sangrado.

- Realizar ensayos clínicos adecuadamente diseñados en poblaciones con alto riesgo de sangrado por fármacos (antiagregantes plaquetarios, anticoagulantes orales) o alteraciones sistémicas de la hemostasia (plaquetarias, vasculares de la coagulación) comparando técnicas quirúrgicas, biotecnologías o productos biomédicos, buscando alternativas más eficaces y eficientes.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Felix J, Chaban P, Ouanounou A. Dental Management of Patients Undergoing Antithrombotic Therapy. *J Can Dent Assoc.* 2020 Dec;86:k17.
2. Lanau N, Mareque J, Giner L, Zabalza M. Direct oral anticoagulants and its implications in dentistry. A review of literature. *J Clin Exp Dent.* 2017 Nov;9(11):e1346-e1354.
3. Villanueva J, Vergara D, Núñez L, Zamorano G, Zapata S, Salazar J, et al. Riesgo de hemorragia postquirúrgica en pacientes bajo tratamiento antitrombótico sometidos a cirugía oral: Revisión Sistemática y Metaanálisis. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral.* 2018 Ago;11(2): 121-127.
4. Arrieta-Blanco JJ, Oñate-Sánchez R, Martínez-López F, Oñate-Cabrerizo D, Cabrerizo-Merino MD. Inherited, congenital and acquired disorders by hemostasis (vascular, platelet & plasmatic phases) with repercussions in the therapeutic oral sphere. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2014 May 1;19(3):e280-288.
5. Organización mundial de la salud [Internet]. Ginebra: Organización mundial de la salud; 09 dic 2020 [citado 20 dic 2020]. Las 10 principales causas de defunción. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
6. Caliskan M, Tükel HC, Benlidayi ME, Deniz A. Is it necessary to alter anticoagulation therapy for tooth extraction in patients taking direct oral anticoagulants? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2017 Nov 1;22(6):e767-e773.
7. Thean D, Alberghini M. Anticoagulant therapy and its impact on dental patients: a review. *Aust Dent J.* 2016 Jun;61(2):149-156.

8. Ortel TL, Neumann I, Ageno W, Beyth R, Clark NP, Cuker A. American Society of Hematology 2020 guidelines for management of venous thromboembolism: Treatment of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Blood Adv.* 2020 Oct 13;4(19):4693-4738.
9. Wahl MJ, Miller CS, Rhodus NL, Kämmerer P, Dinkova A, Lalla RV, Bajkin BV. Anticoagulants are dental friendly. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Feb;125(2):103-106.
10. Yang S, Shi Q, Liu J, Li J, Xu J. Should oral anticoagulant therapy be continued during dental extraction? A meta-analysis. *BMC Oral Health.* 2016 Aug 26;16(1):81.
11. Lu SY, Lin LH, Hsue SS. Management of dental extractions in patients on warfarin and antiplatelet therapy. *J Formos Med Assoc.* 2018 Nov;117(11):979-986.
12. Sumanth KN, Prashanti E, Aggarwal H, Kumar P, Lingappa A, Muthu MS, Kiran Kumar Krishanappa S. Interventions for treating post-extraction bleeding. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2016, Issue 6. Art. No.: CD011930.
13. Richards D. Guidelines for the management of patients who are taking oral anticoagulants and who require dental surgery. *Evid Based Dent.* 2008;9(1):5-6.
14. Kämmerer PW, Frerich B, Liese J, Schiegnitz E, Al-Nawas B. Oral surgery during therapy with anticoagulants-a systematic review. *Clin Oral Investig.* 2015 Mar;19(2):171-80.
15. Queiroz SIML, Silvestre VD, Soares RM, Campos GBP, Germano AR, da Silva JSP. Tranexamic acid as a local hemostasis method after dental extraction in patients on warfarin: a randomized controlled clinical study. *Clin Oral Investig.*

2018 Jul;22(6):2281-2289.

16. Vargas A, Foncea C, Campolo A. Adhesivos de cianoacrilato en cirugía oral y maxilofacial. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral*. 2017;10(2):107-110.

17. Khalkhal E, Rezaei-Tavirani M, Zali MR, Akbari Z. The Evaluation of Laser Application in Surgery: A Review Article. *J Lasers Med Sci*. 2019 Fall;10(Suppl 1):S104-S111.

18. Mikami R, Mizutani K, Sasaki Y, Iwata T, Aoki A. Patient-reported outcomes of laser-assisted pain control following non-surgical and surgical periodontal therapy: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2020 Sep 17;15(9):e0238659.

19. Luke AM, Mathew S, Altawash MM, Madan BM. Lasers: A Review With Their Applications in Oral Medicine. *J Lasers Med Sci*. 2019 Fall;10(4):324-329.

20. Ortega-Concepción D, Cano-Durán JA, Peña-Cardelles JF, Paredes-Rodríguez VM, González-Serrano J, López-Quiles J. The application of diode laser in the treatment of oral soft tissues lesions. A literature review. *J Clin Exp Dent*. 2017 Jul 1;9(7):e925-e928.

21. De Falco D, Di Venere D, Maiorano E. An Overview of Diode Laser-Assisted Oral Surgery. *Cureus*. 2020 Jul 20;12(7):e9297.

22. Borie E, Rosas E, Kuramochi G, Etcheberry S, Olate S, Weber B. Oral Applications of Cyanoacrylate Adhesives: A Literature Review. *Biomed Res Int*. 2019 Mar 17;2019:8217602.

23. Sagar P, Prasad K, Lalitha RM, Ranganath K. Cyanoacrylate for Intraoral Wound Closure: A Possibility? *Int J Biomater*. 2015;2015:1-6.

24. Singh PK, Degala S, Shetty S, Rai VS, Das A. To Evaluate the Efficacy and

Effectiveness of N-butyl-2-cyanoacrylate glue (TRU SEAL) in Closure of Oral and Maxillofacial Laceration and Surgical Incisions. *J Maxillofac Oral Surg.* 2019 Mar;18(1):131-138.

25. Machin M, Liu C, Coupland A, Davies AH, Thapar A. Systematic review of the use of cyanoacrylate glue in addition to standard wound closure in the prevention of surgical site infection. *Int Wound J.* 2019 Apr;16(2):387-393.

26. Makarova EV, Tarasenko SV, Melikyan AL, Ponomarenko AV. [Erbium laser application for oral surgery in patients with platelet hemostatic disorders]. *Stomatologiya (Mosk).* 2017;96(2):29-32.

27. Campos FHO, Ferreira LB, Romano MM, Moreira MS, Eduardo CP, Ramalho KM. Immediate laser-induced hemostasis in anticoagulated rats subjected to oral soft tissue surgery: a double-blind study. *Braz Oral Res.* 2018 Jun 7;32:e56.

28. Oladega AA, James O, Adeyemo WL. Cyanoacrylate tissue adhesive or silk suture for closure of surgical wound following removal of an impacted mandibular third molar: A randomized controlled study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2019 Jan; 47(1):93-98.

29. Suthar P, Shah S, Waknis P, Limaye G, Saha A, Sathe P. Comparing intra-oral wound healing after alveoloplasty using silk sutures and n-butyl-2-cyanoacrylate. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2020 Feb;46(1):28-35.

30. Dell'Olio F, De Falco D, Di Nanna S, Casorelli A, Favia G. Diode Laser Photocoagulation of Oral Venous Malformations in Patients on Anticoagulant Therapy Without Drug Discontinuation. *Cureus.* 2020 Mar 20;12(3):e7340.

31. Capodiferro S, Limongelli L, Tempesta A, Maiorano E, Favia G. Diode laser photocoagulation of sublingual varices in 706 patients on antithrombotic therapy

without drug discontinuation. *Ann Ital Chir.* 2020;91:100-104.

32. Carew JF, Ward RF, LaBruna A, Torzilli PA, Schley WS. Effects of scalpel, electrocautery, and CO₂ and KTP lasers on wound healing in rat tongues. *Laryngoscope.* 1998 Mar;108(3):373-80.

33. Camacho-Alonso F, López-Jornet P, Bermejo-Fenoll A. Effects of scalpel (with and without tissue adhesive) and cryosurgery on wound healing in rat tongues. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005 Sep;100(3):e58-63.

34. Shires CB, Saputra JM, King L, Thompson JW, Heck DH, Sebelik ME, Boughter JD Jr. Histopathological and postoperative behavioral comparison of rodent oral tongue resection: fiber-enabled CO₂ laser versus electrocautery. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012 Oct;147(4):716-21.

35. Üstün O, Kumral TL, Atar Y, Erdem ZB, Hanci D, Sari H, Akgün MF, Uyar Y. Histopathological Comparison of 2-Octyl Cyanoacrylate and Primary Suturing for Tongue Lacerations. *J Craniofac Surg.* 2020 Jun;31(4):e334-e337.

36. Welch M, Barratt J, Peters A, Wright C. Systematic review of prehospital haemostatic dressings. *BMJ Mil Health.* 2020 Jun;166(3):194-200.

37. Zhong Y, Hu H, Min N, Wei Y, Li X, Li X. Application and outlook of topical hemostatic materials: a narrative review. *Ann Transl Med.* 2021 Apr;9(7):577.

38. Dureja D, Sharma H, Agarwal M, Srivastava S, Tandon P. Hereditary Gingival Fibromatosis: A Report of a Rare Case in Siblings and Its Management Using Diode Laser. *Contemp Clin Dent.* 2020 Jul-Sep;11(3):290-293.

39. Aboujaoude S, Cassia A, Moukarzel C. Diode Laser Versus Scalpel in the Treatment of Hereditary Gingival Fibromatosis in a 6-Year Old Boy. Clin Pract. 2016 Nov 14;6(4):895.
40. Veríssimo AH, Ribeiro AKC, Martins ARLA, Gurgel BCV, Lins RDAU. Comparative analysis of the hemostatic, analgesic and healing effects of cyanoacrylate on free gingival graft surgical wounds in donor and recipient areas: a systematic review. J Mater Sci Mater Med. 2021 Aug 18;32(9):98.
41. Getz TM, Piatt R, Petrich BG, Monroe D, Mackman N, Bergmeier W. Novel mouse hemostasis model for real-time determination of bleeding time and hemostatic plug composition. J Thromb Haemost. 2015 Mar;13(3):417-25.
42. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A, Cisneros R. Guía de manejo y cuidados de animales de laboratorio: ratón. Lima: Centro Nacional de Productos Biológicos-Instituto Nacional de Salud; 2008.
43. Romero-Fernandez W, Batista-Castro Z, De Lucca M, Ruano A, García-Barceló M, Rivera-Cervantes M, et al. El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2016;33(2):288-299.
44. Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el laboratorio. 3ra ed. Ginebra; 2005.
45. Navarro-Hernández J, Ramírez-Ojeda R, Villagrán-Vélez C. Manual de procedimientos recomendables para la investigación con animales. 1ra ed. México: Samsara; 2012. p.43-44.
46. Hanke A, Fimmers R, Frentzen M, Meister J. Quantitative determination of cut efficiency during soft tissue surgery using diode lasers in the wavelength range between 400 and 1500 nm. Lasers Med Sci. 2021 Oct;36(8):1633-1647.

47. Capacete-González FJ. La Declaración universal de los derechos del animal. *dA. Derecho Animal (Forum of Animal Law Studies)*. 2018 Jun;9(3):143-146.
48. Seibel J, Bodié K, Weber S, Bury D, Kron M, Blaich G. Comparison of haematology, coagulation and clinical chemistry parameters in blood samples from the sublingual vein and vena cava in Sprague-Dawley rats. *Lab Anim*. 2010 Oct;44(4):344-51.
49. Al-Belasy FA, Amer MZ. Hemostatic effect of n-butyl-2-cyanoacrylate (histoacryl) glue in warfarin-treated patients undergoing oral surgery. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003 Dec;61(12):1405-9.
50. Michalik M, Szymańczyk J, Stajnke M, Ochrymiuk T, Cenian A. Medical Applications of Diode Lasers: Pulsed versus Continuous Wave (cw) Regime. *Micromachines (Basel)*. 2021 Jun 17;12(6):710.
51. Suter VGA, Sjölund S, Bornstein MM. Effect of laser on pain relief and wound healing of recurrent aphthous stomatitis: a systematic review. *Lasers Med Sci*. 2017 May;32(4):953-963.
52. Kulkarni S, Meer M, George R. Efficacy of photobiomodulation on accelerating bone healing after tooth extraction: a systematic review. *Lasers Med Sci*. 2018 Jun;34(4):685-692.

X. ANEXOS

ANEXO 01



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Dirección Universitaria de
INVESTIGACIÓN, CIENCIA Y
TECNOLOGÍA (DUICT)

CONSTANCIA 070 - 08-19

El Presidente del Comité Institucional de Ética para el uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el proyecto de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** por el Comité de Ética.

Título del Proyecto : "Comparación del tiempo de sangrado posquirúrgico de incisiones bucales con bisturí más adhesivo titular y láser de alta intensidad en ratas con y sin anticoagulación".

Código de inscripción : 103948

Investigador principal : Carrizales Poma, Leonid Julio Adolfo

La aprobación incluyó los documentos finales descritos a continuación:

1. **Protocolo de investigación**, versión recibida en fecha 28 de agosto del 2019.

La **APROBACIÓN** considera el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos Científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo investigador y la Confidencialidad de los datos, entre otros.

Cualquier enmienda, desviaciones, eventualidad deberá ser reportada de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada seis meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el **27 de agosto del 2020**. Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 28 de agosto del 2019.


Dr. Zafra Espinoza Monier
Presidente
Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales

/gpe

Av. Honorio Delgado 430, SMP 15102 
Apartado postal 4314
(511) 319-0000 anexo 201352 
duict@oficinas-upch.pe 
www.cayetano.edu.pe 

ANEXO 02



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Dirección Universitaria de
**INVESTIGACIÓN, CIENCIA Y
TECNOLOGÍA (DUICT)**

CONSTANCIA R- 010 -11-20

El Presidente del Comité Institucional de Ética para el uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el comité de ética aprobó la **RENOVACIÓN** del proyecto de investigación señalado a continuación.

Título del proyecto : **“Comparación del tiempo de sangrado en incisiones bucales con bisturí más adhesivo tisular y láser de alta intensidad en ratas con y sin anticoagulación”.**

Código de inscripción : **103948**

Investigador(es) principal (es) : **Carrizales Poma, Leonid Julio Adolfo**

Cualquier enmienda, desviaciones y/u otras eventualidades deberá ser reportada a este Comité de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada **6 meses** el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste.

La presente **RENOVACIÓN** tiene vigencia desde el **26 de agosto del 2020** hasta el **25 de agosto del 2021**.

Así mismo el Comité toma conocimiento del Informe Periódico de Avances del estudio de referencia. Documento recibido en fecha 17 de agosto del 2020.

Los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 26 de agosto del 2020

Dr. Manuel Gasco Tantachuco
Presidente
Comité Institucional de Ética para el uso de Animales

Acta

Av. Honorio Delgado 430, SMP 15102
Apartado postal 4314
(511) 319-0000 anexo 201352
duict@oficinas-upch.pe
www.cayetano.edu.pe

ANEXO 03



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

REGISTRO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE GRADO

Registro	Ms-00653-2021
-----------------	---------------

PARTICIPANTE	CODIGO	NOMBRES Y APELLIDOS
Estudiante		CARRIZALES POMA LEONID JULIO ADOLFO
ASESOR		SACSAQUISPE CONTRERAS SONIA JULIA
CO ASESOR		VENTURA PONCE HELARD RICARDO

Nombre del Proyecto

COMPARACIÓN DEL TIEMPO DE SANGRADO EN INCISIONES BUCALES CON BISTURÍ MÁS ADHESIVO TISULAR Y LÁSER DE ALTA INTENSIDAD EN RATAS CON Y SIN ANTICOAGULACIÓN

Programa Académico

MAESTRIA EN ESTOMATOLOGIA CON MENCIÓN EN ESPECIALIDAD

Unidad de Gestión

Facultad de Estomatología

ITEM	FECHA	DETALLES
Registro SIDISI	15/10/2020	Código: [REDACTED]
Aprobación CIE - UPCH	25/08/2021	Tipo: [REDACTED]
Aprobación CIE - UPCH	-	Tipo: -
Registro EPGVAC	26/04/2021	Plazo de ejecución: [REDACTED]

El proyecto de investigación deberá ser ejecutado bajo las Normas y Procedimientos del Trabajo de Investigación para la obtención de los grados académicos de Maestría o Doctorado, que se encuentran disponibles en:

<http://www.posgradoupch.pe>

ANEXO 04



ANEXO 05

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Código N°: _____

1. CONSUMO DE AGUA

Volumen Inicial: ml	Volumen Final: ml	Volumen Consumido: ml
Fecha: __/__/__ Hora: _____	Fecha: __/__/__ Hora: _____	

✂.....
Fecha: __/__/__ Hora: _____ Código N°: _____

2. EVALUACIÓN DEL INR

NO ANTICOAGULADO (INR <1.1)		ANTICOAGULADO (INR ≥1.1)	
Valor de INR: _____		Valor de INR: _____	

✂.....
Fecha: __/__/__ Hora: _____ Código N°: _____

3. TÉCNICA DE INCISIÓN

Mucosa	Técnica de incisión realizada	
Mucosa intervenida lado: _____	con láser	
	con bisturí y aplicación de adhesivo tisular	
	con bisturí	
Mucosa intervenida lado: _____	con láser	
	con bisturí y aplicación de adhesivo tisular	
	con bisturí	

✂.....
Fecha: __/__/__ Hora: _____ Código N°: _____

4. EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE SANGRADO

Mucosa intervenida	Tiempo
lado: _____	seg.
lado: _____	seg.

ANEXO 06



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Dirección Universitaria de
**INVESTIGACIÓN, CIENCIA Y
TECNOLOGÍA (DUICT)**

CONSTANCIA

El Presidente del Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el comité institucional de ética en investigación aprobó la **ENMIENDA/MODIFICACIÓN** del proyecto de investigación señalado a continuación.

Título del Proyecto : “Comparación del tiempo de sangrado posquirúrgico de incisiones bucales con bisturí más adhesivo titular y láser de alta intensidad en ratas con y sin anticoagulación”.

Código de inscripción : 103948

Investigador principal : Carrizales Poma, Leonid Julio Adolfo

La **enmienda/modificación** corresponde a los siguientes documentos:

1. **Protocolo de investigación**, versión recibida en fecha 02 de octubre del 2019.

Lima, 30 de octubre del 2019


Dr. Carlos Espinoza Mendieta
Presidente

Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales

/20

Av. Honorio Delgado 430, SMP 15102 
Apartado postal 4314
(511) 319-0000 anexo 201352 
duict@oficinas-upch.pe 
www.cayetano.edu.pe 

ANEXO 07



Figura 01. Adhesivo tisular de Cianoacrilato (Histoacryl®).



Figura 02. Láser diodo EpicX® (Biolase, España).

ANEXO 08



Figura 03. Cercanía entre las jaulas para garantizar contacto auditivo y olfativo entre las ratas.



Figura 04. Administración del medicamento a cada rata del grupo anticoagulado.

ANEXO 09



Figura 05. Procedimiento de pesado en una balanza digital calibrada.

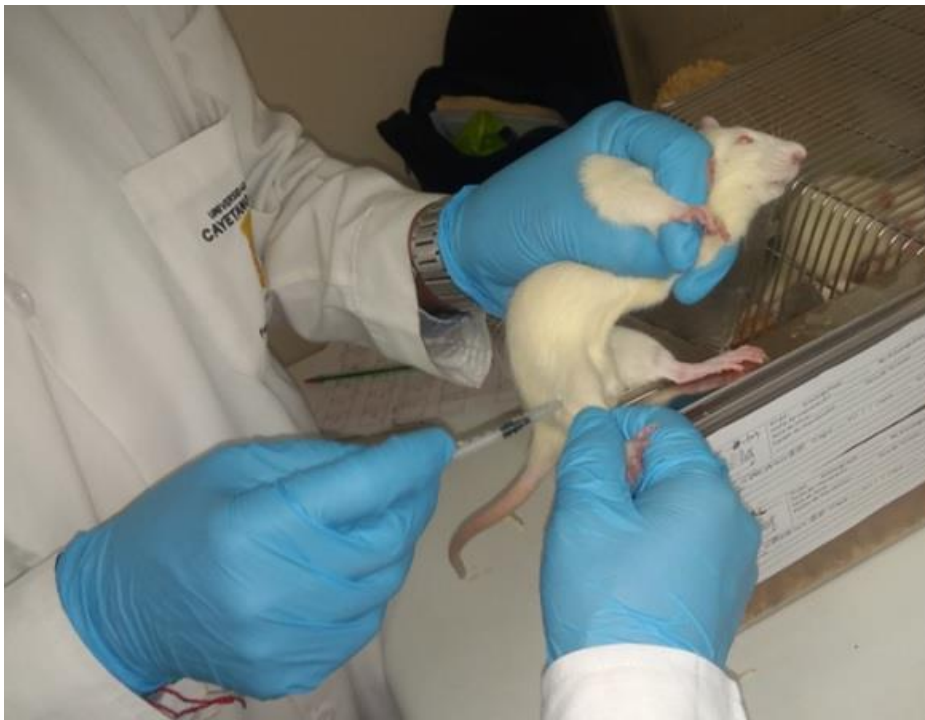


Figura 06. Inducción anestésica por vía intramuscular.

ANEXO 10



Figura 07. Recolección de la muestra sanguínea con la tira reactiva.



Figura 08. Procesado de la muestra con el CoaguChek XS® (Roche) y estimación del valor INR.

ANEXO 11



Figura 09. Apertura bucal.



Figura 10. Antisepsia extraoral.

ANEXO 12

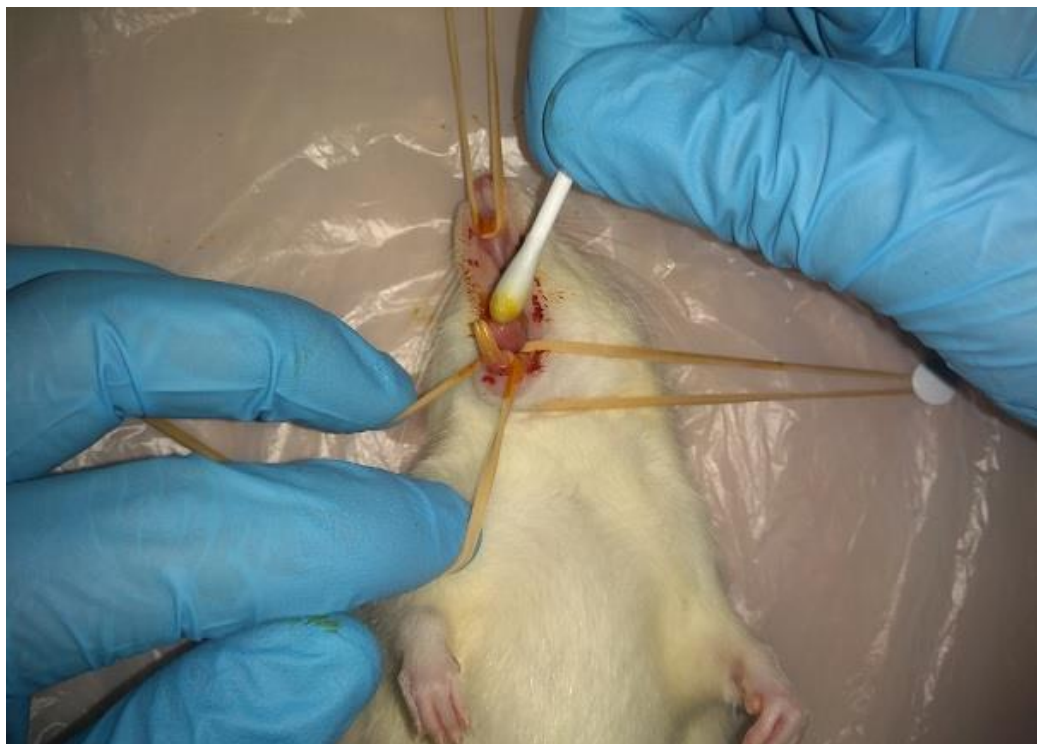


Figura 11. Antisepsia intraoral.



Figura 12. Infiltración de la anestesia local.

ANEXO 13



Figura 13. Incisión de 1cm. con hoja de bisturí N°15.

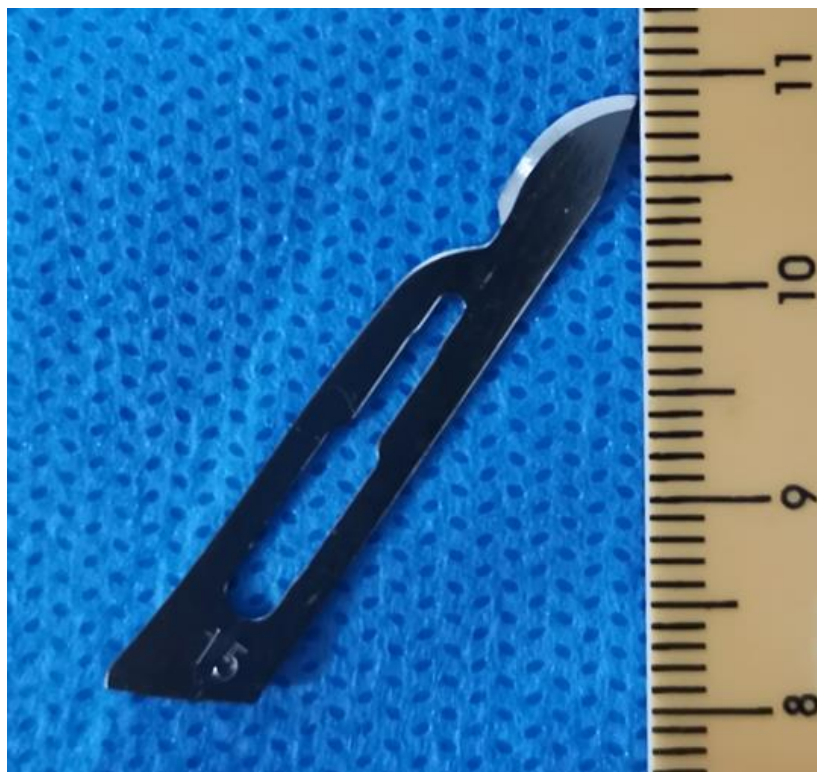


Figura 14. Hoja de bisturí N°15: Referencia de 1mm.

ANEXO 14



Figura 15. Incisión con bisturí de borde lateral de lengua.



Figura 16. Aplicación de fina capa de adhesivo tisular en la incisión.

ANEXO 15

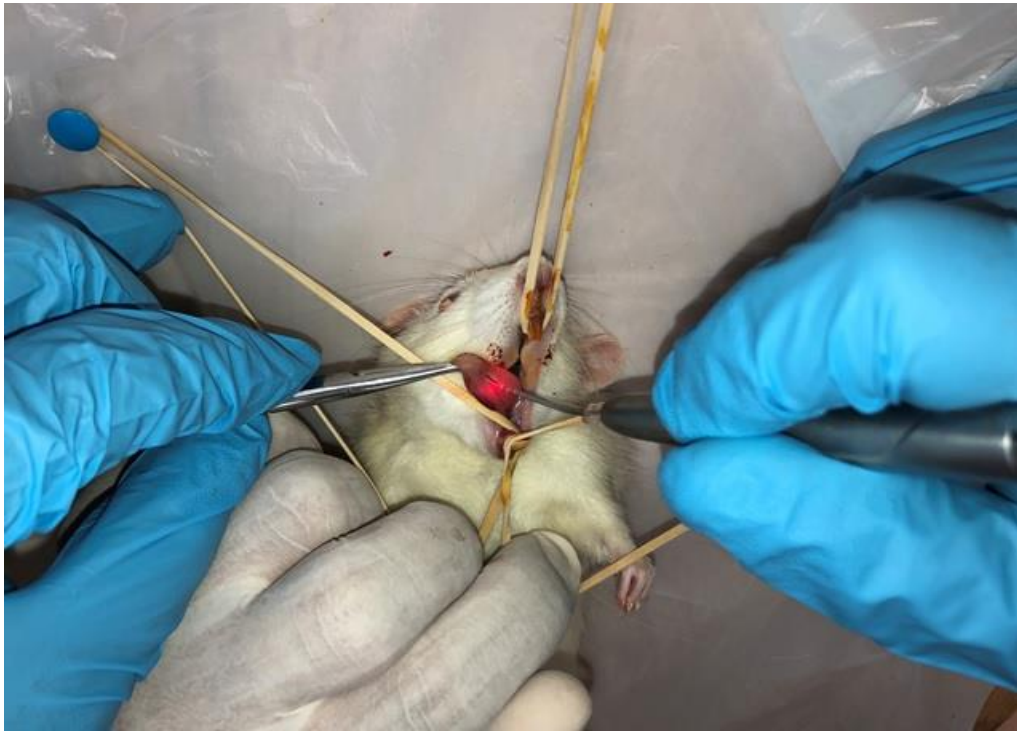


Figura 17. Incisión con láser diodo de borde lateral de lengua.



Figura 18. Incisión con Láser diodo: Ausencia de sangrado.

ANEXO 16



Figura 19. Control postoperatorio inmediato.



Figura 20. Investigador principal del estudio.

ANEXO 17



Centro Andino de Investigación y Entrenamiento
en Informática para la Salud Global



Certificamos que

Leonid Julio Adolfo Carrizales Poma

Ha finalizado satisfactoriamente el curso

Conducta Responsable en Investigación

20 March 2019

Calificación del Curso: 15,65

.....
Dra. Patricia J. García Funegra
Facultad de Salud Pública y Administración
Universidad Peruana Cayetano Heredia

ANEXO 18



Completion Date 25-Jul-2021
Expiration Date N/A
Record ID 43366909

This is to certify that:

Leonid Julio Adolfo Carrizales Poma

Has completed the following CITI Program course:

Not valid for renewal of certification
through CME.

Alumnos de Pregrado y Postgrado

(Curriculum Group)

Physical Science Responsible Conduct of Research

(Course Learner Group)

1 - RCR

(Stage)

Under requirements set by:

Universidad Peruana Cayetano Heredia

CITI
Collaborative Institutional Training Initiative

Verify at www.citiprogram.org/verify/?wb2340522-8691-428b-9306-980fd748317c-43366909

ANEXO 19



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Dirección Universitaria de
**INVESTIGACIÓN, CIENCIA Y
TECNOLOGÍA (DUICT)**

CONSTANCIA

El Presidente del Comité Institucional de Ética para uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia deja constancia que el comité institucional de ética en investigación **TOMÓ CONOCIMIENTO** de la información remitida en el(los) siguiente(s) documento(s) del proyecto de investigación titulado: **“Comparación del tiempo de sangrado posquirúrgico de incisiones bucales con bisturí más adhesivo tisular y láser de alta intensidad en ratas con y sin anticoagulación.”**, código de inscripción [REDACTED] Investigador(es) **Esp.CD. Carrizales Poma Leonid Julio Adolfo.**

- ✓ **Informe de Cierre de Proyecto.** Documento recibido en fecha 02 de febrero del 2022.

Lima, 23 de febrero del 2022.

[REDACTED]

Dr. Manuel Gasco Tantachüco
Presidente
Comité Institucional de Ética para el uso de Animales

/s/

Av. Honorio Delgado 430, SMP 15102
Apartado postal 4314
(511) 319-0000 anexo 201352
duict@oficinas-upch.pe
www.cayetano.edu.pe

LISTA DE ABREVIATURAS

DS	: Desviación estándar
IM	: Intramuscular
SC	: Subcutánea
cm	: Centímetros
cm ²	: Centímetros cuadrados
mm	: Milímetros
µm	: Micrómetro
nm	: Nanómetro
W	: Watt (vatio)
mW	: milliwatt
KHz	: Kilohertzios
kg	: Kilogramo
g	: Gramo
mg	: Miligramo
ml	: Mililitro
°C	: Grado celsius
TP	: Tiempo de Protrombina
INR	: Rango normalizado internacional
ISI	: Índice internacional de sensibilidad
FDA	: Food and Drug Administration
TAO	: Terapia anticoagulante oral
DOAC	: Anticoagulantes orales directos

ACA	: Adhesivo tisular de cianoacrilato
NBCA	: N-butil-2-cianoacrilato
LASER	: Amplificación de luz por emisión estimulada de radiación
HILT	: Laserterapia de alta intensidad
LLLT	: Laserterapia de baja intensidad
λ	: Longitud de onda
Nd:YAG	: Neodimio dopado con Itrio Aluminio Granate
Er:YAG	: Erblio dopado con Itrio Aluminio Granate.
CO ₂	: Dióxido de carbono
LID	: Laboratorio de investigación y desarrollo.
INS	: Instituto Nacional de Salud.
UPCH	: Universidad Peruana Cayetano Heredia.
UNALM	: Universidad Nacional Agraria La Molina.
EPGVAC	: Escuela de Posgrado Víctor Alzamora Castro.
FAEST	: Facultad de Estomatología.
CIEA	: Comité Institucional de Ética para el uso de Animales.
UNESCO	: Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura.

CUADRO DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variables principales	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Tipo	Escala de medición	Valores o categorías
Técnica de Incisión (Variable independiente)	Corte que se realiza en algún tejido o mucosa con un instrumento.	Incisión recta de 1cm en el borde lateral de la lengua de rata.	Diferencia del instrumento que realiza la incisión y control del sangrado.	Cualitativo, Politómica	Nominal	GC: Con Bisturí GE: Con Bisturí más Adhesivo de cianoacrilato GC: Con Láser Diodo
Tiempo de sangrado (Variable dependiente)	Cálculo del tiempo de sangrado después de un corte, lesión o trauma de un tejido o mucosa.	Estimación del tiempo transcurrido entre la finalización de la incisión, hasta el cese del sangrado.	Cese del sangrado.	Cuantitativo Continuo	De razón	Segundos
Anticoagulación (Covariable)	Inhibición del proceso de interacción de los factores de coagulación sanguínea, que origina un aumento del tiempo y cantidad de sangrado.	Administración por vía oral de agua mezclado con warfarina (800ml/2.5mg), 72 horas antes de la incisión.	Rango Normalizado Internacional (INR).	Cualitativo, Dicotómica	Nominal	Anticoagulado ($INR \geq 1.2$) No anticoagulado ($INR < 1.2$)