



VNIVERSITATIS VALÈNCIA

Programa de Doctorado 3139 (Medicina)

Tratamiento de la disfonía por déficit de cierre glótico mediante laringoplastia de medialización con injertos de grasa autólogos. Revisión del procedimiento y sus resultados en una serie de casos

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Enrique Salmerón González

Dirigida por:

Prof. Dr. Carlos Tejerina Botella

Prof. Dr. Miguel Armengot Carceller

Valencia, noviembre de 2019



VNIVERSITATIS VALÈNCIA

Facultad de Medicina y Odontología
Departamento de Cirugía
Programa de doctorado: 3139 Medicina

*Tratamiento de la disfonía por déficit
de cierre glótico mediante
laringoplastia de medialización con
injertos de grasa autólogos. Revisión
del procedimiento y sus resultados en
una serie de casos*

Tesis doctoral presentada por:
Enrique Salmerón González

Dirigida por:
Prof. Dr. Carlos Tejerina Botella
Prof. Dr. Miguel Armengot Carceller

INFORME DIRECTORES/AS Y TUTOR/A PARA DEPÓSITO DE TESIS

Director (es) / Codirector (es):

1.- Apellidos y nombre: Tejerina Botella, Carlos N.I.F. 22540424X, Departamento/Instituto: Departamento de Cirugía / Servicio de Cirugía Plástica, Centro: Universidad de Valencia / Hospital Clínico de Valencia

2.- Apellidos y nombre: Armengot Carceller, Miguel N.I.F. 18910729Z, Departamento/Instituto: Departamento de Otorrinolaringología / Servicio de Otorrinolaringología, Centro: Universidad de Valencia / Hospital La Fe

Directores de la tesis doctoral: "Tratamiento de la disfonía por déficit de cierre glótico mediante laringoplastia de medialización con injertos de grasa autólogos. Revisión del procedimiento y sus resultados en una serie de casos"

de D. Enrique Salmerón González,

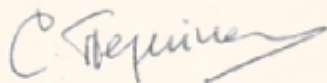
estudiante del Programa de Doctorado 3139 Medicina (RD99/2011) en Medicina de la Universitat de València, emiten informe favorable para la realización del depósito y la defensa de la tesis doctoral.

Fecha: 21 de noviembre de 2019

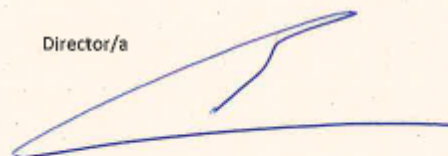
Fdo.: Carlos Tejerina Botella

Fdo.: Miguel Armengot Carceller

Director



Director/a



ESCUELA DOCTORAL
UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

- Índice de contenidos -

Índice

1. Agradecimientos.....	3
2. Abreviaturas.....	7
3. Resumen	11
4. Abstract.....	15
5. Introducción.....	21
5.1 Disfonía	21
5.1.1 Introducción.....	21
5.1.2 Etiología.....	41
5.1.3 Diagnóstico.....	50
5.1.4 Tratamiento en función de etiología.....	57
5.1.5 Técnicas quirúrgicas para medialización de cuerdas vocales.....	62
5.2 Injertos de grasa autóloga.....	79
5.2.1 Introducción.....	79
5.2.2 Técnica quirúrgica	82
5.2.3 Aplicaciones terapéuticas	94
5.2.4. Complicaciones	100
5.3 Justificación.....	102
6. Hipótesis y objetivos	105
6.1 Hipótesis principales.....	107
6.2 Objetivos.....	108
7. Material y método.....	109
7.1 Serie de pacientes con disfonía por insuficiencia glótica tratados mediante laringoplastia de medialización con inyección de injertos grasos.....	111
7.1.1 Revisión bibliográfica.....	111
7.1.2 Cuerpo del estudio. Revisión clínica	112
7.2 Estudio experimental de métodos de procesamiento de injertos grasos.....	114

7.2.1 Revisión bibliográfica.....	114
7.2.2 Cuerpo del estudio. Estudio de las muestras de grasa	114
7.2.2.1. Primera fase: Cuantificación, viabilidad y crecimiento.....	116
7.2.2.2. Segunda fase: Cuantificación de células madre y viabilidad	117
8. Resultados.....	121
8.1 Serie de pacientes con disfonía por insuficiencia glótica tratados mediante laringoplastia de medialización con injertos grasos	121
8.1.1 Revisión bibliográfica.....	121
8.1.2 Cuerpo del estudio. Serie clínica de pacientes sometidos a laringoplastia..	125
8.2 Estudio experimental de métodos de procesamiento de injertos grasos.....	129
8.2.1 Revisión bibliográfica.....	129
8.2.2 Cuerpo del estudio. Estudio y análisis de las muestras de grasa.	135
8.2.2.1. Primera Fase: Cuantificación, viabilidad y crecimiento.....	135
8.2.2.2. Segunda Fase: Cuantificación de células madre y viabilidad.....	139
9. Discusión	145
10. Conclusiones.....	153
11. Bibliografía.....	157
12. Anexo.....	181
12.1. Autorización del Comité Ético	181
12.2. Premios recibidos	184
12.3. Presentaciones en congresos.....	186

- Agradecimientos -

1. Agradecimientos

Gracias a los codirectores de esta tesis, los Dres. Miguel Armengot Carceller y Carlos Tejerina Botella por su consejo y orientación a la hora de seguir y supervisar el desarrollo de este trabajo, dotándolo de un mayor rigor científico.

Gracias a la Dra. Isabel Guillen, a la doctoranda María José Vázquez Tatay, y a todo el personal del departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad CEU Cardenal Herrera; por el tiempo invertido en el laboratorio para encontrar respuestas, y más frecuentemente, nuevas preguntas... Por su colaboración altruista, y por el apoyo logístico, económico y de conocimiento de ciencias básicas, imprescindibles para el buen desarrollo de este proyecto.

Gracias al Dr. Ignacio Llópez Carratalá, por su imprescindible colaboración en el seguimiento de los pacientes, y la recopilación y registro de datos. Gracias también a los demás compañeros de la Sección de Laringología y Oncología del Servicio de Otorrinolaringología del Hospital La Fe, los Dres. Diego Collado Martín y José María Perolada Valmaña, por apoyarme con la ejecución en este proyecto, prestar su espacio de trabajo, y su respeto.

Gracias a todos los compañeros del Servicio de Cirugía Plástica y Quemados del Hospital La Fe, tanto residentes como adjuntos, por lo que he podido aprender gracias al trabajo diario junto a ellos, desde los conocimientos teóricos y prácticos adquiridos a las amistades, y los valores humanos. Pero especialmente, destaco mi agradecimiento al Dr. Eduardo Simón Sanz, por avivar mi espíritu investigador, ofrecerme continuas oportunidades y apoyarme en los proyectos en los que me he ido embarcando a lo largo de mis años de residencia. A la Dra. Lola Pérez del Caz, por su especial cuidado y atención con los residentes, y su generosidad a la hora de implicar a los compañeros en nuevos proyectos. Y finalmente, dar las gracias al Dr. Alberto Pérez García, por brindarme una ayuda crucial para dar los primeros pasos en el ámbito de la investigación, además de ser una continua fuente de inspiración, ejemplo a seguir como cirujano, médico y persona.

Gracias a mis padres, Herminia Salmerón y Julio González, y a mi hermano Javi, por su apoyo incondicional a lo largo de mi vida; por la paciencia que han tenido conmigo, y por las oportunidades, libertad y ayuda que me han brindado para desarrollarme tal como soy.

Y gracias a ti, Elena, compañera de mi vida. Tu eres la que más ha tenido que soportarme a lo largo de este periodo. Gracias por apoyarme con tus palabras y tu cariño. Por ayudarme a huir del trabajo cuando sabes que lo necesito. Por proporcionarme un suministro constante de experiencias y momentos de felicidad, que es la energía que me ayuda a seguir adelante con proyectos como este, y otros muchos que nos unen. Y con los que están por venir, que nos seguirán uniendo durante los años que nos queden por vivir.

- Abreviaturas -

2. Abreviaturas

- **CMDA**: Células madre procedentes de tejido adiposo
- **FVE**: Fracción vascular estromal
- **CD**: Cúmulos de diferenciación (cluster of differentiation)
- **VHI-10**: Voice Handicap Index, versión resumida de 10 items (Índice de discapacidad vocal)
- **Escala GRABS**: Escala de evaluación de voz en pacientes con disfonías
- **ds**: desviación estándar
- **IMC**: Índice de masa corporal
- **TMF**: Tiempo máximo de fonación
- **RAR**: Razón armónico-ruido
- **J**: Jitter
- **Sh**: Shimmer
- **TC**: Tomografía computarizada
- **RM**: Resonancia magnética
- **DMEM**: Medio de cultivo celular (Dulbecco's Modified Eagle Medium)

- Resumen -

3. Resumen

Introducción

Una de las principales técnicas quirúrgicas para el tratamiento de la disfonía por insuficiencia glótica ha sido tradicionalmente la laringoplastia de medialización mediante diversos procedimientos, entre ellos la infiltración de diversas sustancias. La generalización del uso de injertos grasos en el ámbito de la cirugía reconstructiva se ha traducido en los últimos años en el uso de este material autólogo como relleno para realizar estas infiltraciones. No obstante, hasta 2016, sólo existían 4 estudios en los que se empleara grasa obtenida mediante lipoaspiración, y ninguno de ellos utilizó injertos procesados mediante centrifugación.

Por otra parte, aunque el campo de los injertos grasos es un área que ha despertado gran interés en el ámbito de la cirugía plástica, todavía existen múltiples controversias respecto a los métodos óptimos de obtención, procesamiento e infiltración para disponer de la muestra de mejor calidad y la máxima tasa de prendimiento. Otra área que está disfrutando de un desarrollo importante es el de la medicina regenerativa y empleo de células madre mesenquimales procedentes del tejido adiposo. No obstante, en esta área del conocimiento también existen muchas controversias, y tampoco se ha llegado a determinar qué tipo de procesamiento de los injertos grasos permite obtener una muestra con la mayor cantidad de células madre.

En este estudio, hemos revisado y evaluado los parámetros de voz preoperatorios y postoperatorios de una serie de pacientes que padecían disfonía por déficit de cierre glótico de etiología principalmente cicatricial, intervenidos mediante laringoplastia de medialización con injertos de grasa autóloga procesados mediante centrifugación y emulsificación. Además, hemos realizado un estudio experimental destinado a evaluar las características de las muestras de lipoaspirado tras aplicar sobre ellas siete tipos de procesamientos distintos, evaluando índices de proliferación celular, porcentaje de viabilidad celular, y cuantificación de células madre mesenquimales procedentes de tejido adiposo.

Material y método

Se realizó una revisión retrospectiva y prospectiva de los registros clínicos de 25 pacientes intervenidos mediante laringoplastia de medialización mediante infiltración de injertos grasos para el tratamiento de disfonía por déficit de cierre glótico, intervenidos en el Hospital La Fe entre enero de 2015 y mayo de 2019. Como variables de resultado, se evaluaron el grado de disfonía mediante la escala GRABS, una encuesta validada para valoración subjetiva de la voz VHI-10 (índice de incapacidad vocal), el tiempo máximo de fonación, jitter, shimmer y la razón armónico-ruido; antes de la intervención quirúrgica, y ocho meses tras ella.

Los métodos de procesamiento de la grasa evaluados fueron: a) centrifugación a 300g durante 3 minutos; b) centrifugación a 300g durante 3 minutos con emulsificación realizando 8 o c) 20 pases entre jeringas; d) centrifugación a 300g durante 6 minutos, e) decantación durante 15 minutos, f) decantación y tres lavados con suero fisiológico, y g) decantación con adición de lidocaína 2%.

El estudio experimental sobre los métodos de procesamiento de los injertos grasos se dividió en dos fases: En la primera fase, se evaluaron las muestras tras aplicar los procesamientos, realizándose cuantificación de células de la fracción vascular estromal, determinando la tasa de supervivencia celular tras el procesamiento (mediante evaluación a través de cámara de Neubauer) y evaluando la cinética de crecimiento mediante cultivo en medio celular y su estudio tras 24 y 72 horas. En la segunda fase, se realizó una nueva evaluación de la tasa de supervivencia celular tras cada procesamiento, y cuantificación de células madre mesenquimales procedentes de tejido adiposo (CD34+, CD90+, CD105+, CD31-, CD45-) mediante citometría de flujo.

Además, se realizó una revisión bibliográfica sistematizada de las dos áreas de conocimiento incluidas en este estudio.

Resultados

30 intervenciones de laringoplastia de medialización mediante infiltración de injertos grasos fueron realizadas en 25 pacientes en el periodo evaluado. De los 25 pacientes, 20 eran varones y 5 mujeres. La edad media fue de 57,5 (ds 18). 23 de ellos realizaron el seguimiento completo, sometiéndose a las pruebas de evaluación a los 8 meses del

procedimiento. El tiempo medio de seguimiento en consulta fue de 21,3 meses (ds 11,5). La etiología de la disfonía fue: cicatricial por resección de lesiones en 17 pacientes; por *sulcus vocalis* en 4; por parálisis de cuerda vocal de largo tiempo de evolución en tres, y por distonía laríngea en uno. La afectación fue unilateral en 18 pacientes, y bilateral en los 7 restantes. Cinco pacientes que sufrían disfonía severa de etiología cicatricial recibieron un procedimiento adicional de infiltración de injertos grasos ante la existencia de resultados poco satisfactorios a los 12 meses de la intervención. La calidad de la voz de los pacientes intervenidos mejoró de forma estadísticamente significativa en todos los parámetros evaluados a los ocho meses después de la intervención: escala GRABS, encuesta VHI-10, tiempo máximo de fonación, jitter, shimmer y razón armónico-ruido ($p < 0,05$). La estabilidad de las mejoras obtenidas fue objetivada durante el periodo de seguimiento.

Respecto al estudio de métodos de procesamiento de injertos grasos, en la primera fase participaron 5 sujetos, con una edad media de 53,2 años (ds 18,7), peso medio de 72,2kg (ds 10,5), altura de 166,4cm (ds 6,3) e IMC de 26kg/m² (ds 2,6). Dos de ellos eran varones, y tres mujeres. A las 24h, se observó una mayor cantidad de células en las muestras decantadas, pero a las 72 horas, se observó una mayor tasa de proliferación en las muestras centrifugadas, llegando a equipararse el número de células en las muestras de ambos tipos de procesamiento. No se observó una afectación negativa de la supervivencia ni proliferación celular de las muestras expuestas a lidocaína. En la segunda fase del estudio, participaron once sujetos, seis mujeres y cinco varones. La media de edad fue de 54,3 años (ds 18,5), peso medio de 71kg (ds 8,9), altura de 166,1cm (ds 6,9) e IMC de 25,7 (ds 3,1). En el estudio de viabilidad celular realizado por defecto por el citómetro de flujo, se observó una supervivencia superior al 95% ($p < 0,05$) en todas las muestras. En el estudio mediante citometría de flujo de las 62 muestras de los 11 pacientes, se observó una mayor cantidad de células madre en las muestras procesadas mediante centrifugación a 300g durante 3 minutos, seguidas de la muestra centrifugada y emulsificada con 8 pases, la decantada y lavada, la decantada exclusivamente, la decantada y expuesta a lidocaína, la centrifugada a 300g durante 6 minutos, y la centrifugada y emulsificada mediante 20 pases entre jeringas. No obstante, las diferencias sólo fueron estadísticamente significativas para 3 de las parejas de procedimientos comparadas ($p < 0,05$).

Conclusiones

La laringoplastia de medialización mediante injertos de grasa autóloga procesados mediante centrifugación y emulsificación, es una técnica efectiva para el tratamiento de la disfonía por déficit de cierre glótico, con una tasa de complicaciones mínima. Su realización pionera en nuestro hospital, ha permitido alcanzar unas tasas de éxito similares a las reportadas en los estudios sobre el uso del lipoaspirado en este ámbito publicados en los últimos 3 años.

En nuestro estudio, el procesamiento de los injertos grasos mediante decantación obtuvo muestras con mayor cantidad de células, pero con índice de proliferación menor que las muestras centrifugadas. Además, las muestras centrifugadas durante una cantidad de tiempo limitada (3 minutos), presentaron una mayor cantidad de células madre derivadas de tejido adiposo que las procesadas utilizando el resto de métodos evaluados (aunque las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas debido al tamaño muestral limitado).

Queda abierta de esta manera una línea de investigación, que deberá contar con nuevos proyectos específicos destinados a dilucidar el método de procesamiento que permita obtener una muestra con el mejor perfil en cuanto a cantidad de células madre presentes. Además, se precisan nuevos estudios que permitan comprobar qué características del lipoaspirado determinan su mayor prendimiento. Con la finalidad última de buscar los métodos de procesamiento que permitan obtener la muestra de injerto graso óptima.

4. Abstract

Introduction

Injection medialization laryngoplasty with difference substances has traditionally been one of the main surgical techniques for the treatment of dysphonia caused by glottic insufficiency. Generalization of the use of fat grafts in the field of reconstructive surgery, has brought its use as a filler in this type of infiltrations. Notwithstanding, until 2016, only 4 publications existed in which fat grafts were obtained through liposuction, and none of them used fat grafts processed through centrifugation.

Although the field of fat grafts has brought great interest from plastic surgeons, there are still plenty of controversies related to the optimal extraction, processing and infiltration techniques, in order to achieve the best quality sample and the highest possible graft take. Regenerative medicine and the use of adipose derived mesenchymal stem cells are other fields that are calling for great interest. However, these areas of knowledge also possess many controversies, and it has not been determined already the best processing technique for obtaining the fat graft sample with the highest possible amount of stem cells.

In our study, preoperative and postoperative voice parameters of a series of patients that suffered from glottic insufficiency dysphonia of any etiology, operated through injection laryngoplasty, were reviewed. Furthermore, an experimental study was performed, focused on evaluating characteristics of lipoaspirate samples after processing it with seven different techniques, evaluating proliferation index, cell counts, cell viability, and quantifying the amount of adipose derived stem cells present.

Materials and methods

A retrospective and prospective review of the clinical data of 25 patients operated through injection laryngoplasty with fat grafts for the treatment of dysphonia caused by glottic insufficiency, was performed. All patients were operated between January of 2015 and May of 2019 at the University and Polytechnic Hospital La Fe. The variables used for result measurement were the GARBS scale for evaluating of the degree of dysphonia, a validated survey for subjective voice evaluation (VHI-10, voice handicap index), maximum phonation time, jitter, shimmer and noise-to-harmonic ratio; before surgery, and 8 months later.

The experimental study on processing methods of fat grafts was divided in two phases. Processing methods evaluated were: centrifugation at 300g for 3 minutes, centrifugation at 300g for 3 minutes and emulsification with 8 or 20 passes between syringes, centrifugation at 300g for 6 minutes, decantation during 15 minutes, decantation and three washes with physiological saline, and decantation with addition of lidocaine 2%. In the first phase, samples were studied after being processed, in order to quantify cells of the stromal vascular fraction, determining cell survival and proliferation index at 24 and 72 hours. On the second phase, a new evaluation of cell survival was performed through flow cytometry, and also quantification of adipose derived stem cells (CD34+, CD90+, CD105+, CD31-, CD45-) was performed

Also, two systematic bibliographical reviews were performed on the two fields of knowledge approached in this study.

Results

Thirty injection laryngoplasties with fat grafts were performed in 25 patients during the reviewed period. 20 of the patients were males, and 5 females. Average age was 57,5 (sd 18). 23 of them accomplished with the whole follow-up period of 8 months. Average follow-up time was 21,3 months (sd 11,5). Etiology of dysphonia was scarring after tumor resection in 17 patients, sulcus vocalis in 4, vocal cord paralysis in 3, and dystonia in the last one. The affection was unilateral in 18 patients, and bilateral in the other 7. Five patients that suffered from severe dysphonia caused by scarring received an additional injection laryngoplasty, as results were consider unsatisfactory at 12 months follow-up. Voice quality of the patients improved, observing statistically significant improvements in all the parameters evaluated: GARBS scale, VHI-10 survey, maximum phonation time, jitter, shimmer and noise-to-harmonic ratio ($p < 0,05$)

As regards the study of fat graft processing techniques, 5 subjects participated in the first phase, with an average age of 53,2 (sd 18,7), average weight of 72,2kg (sd 10,5), height of 166,4cm (ds 6,3) and BMI of 26kg/m² (sd 2,6). Two of them were male, and the remaining three, female. At 24 hours of culture, a higher number of cells was observed in decanted samples, but after 72 hours, proliferation index was much higher in centrifugated samples, reaching the same cell counts as decanted samples. No negative effect on survival and proliferation was observed in samples exposed to lidocaine. Eleven

subjects participated on the second phase of the study, six females, and five males. Average age was 54,3 (sd 18,5) average weight 71kg (sd 8,9), height of 166,1cm (ds 6,9) and BMI of 25,7 (sd 3,1). Cell viability study performed through flow cytometry reported survival rates higher than 95% with all the processing techniques ($p<0,05$). Flow cytometry study performed on the 62 samples of the 11 patients, showed a higher amount of stem cells in samples processed through centrifugation at 300g for 3 minutes, followed by samples centrifugated and emulsified with 8 passes; decanted and washed samples; only decanted samples; samples decanted and exposed to lidocaine; samples centrifugated at 300g for 6 minutes, and finally, the sample centrifugated and emulsified with 20 passes between syringes. Notwithstanding, these differences were only statistically significant for three of the pairs of procedures compared ($p<0,05$)

Conclusions

Injection laryngoplasty with fat grafts processed through centrifugation and emulsification, es an effective technique for the treatment of glottic insufficiency dysphonia; having minimal complication rates. Its pioneer performance in our hospital, allowed our departments to achieve similar success rates as the ones reported in the series published during the las three years.

In our study, fat graft processing through decantation obtained samples with a higher number of cells, but with lower proliferation rates than centrifuged samples. Moreover, samples centrifuged for a short period of time (3 minutes), presented the higher amount of stem cells among the other processing techniques (although differences observed were not statistically significant, probably because of the limited sample size). Therefore, a new research line remains open, and more studies with higher sample sizes should be performed in order to verify our results, and detect which processing techniques obtains the sample with the higher amount of stem cells. Furthermore, more research is required in order to verify which qualities of a fat graft are associated to better graft take.

- Introducción -

5. Introducción

5.1 Disfonía

La voz es el medio primario de comunicación para el ser humano, tanto en el ámbito social como en el laboral. Para facilitar la comprensión de las distintas formas de alteración de la voz, resulta necesario realizar una aclaración sobre la terminología empleada, que puede ser diversa en la literatura (1).

La disfonía es un término de significado amplio, utilizado para describir cualquier alteración de la producción de la voz, incluyendo alteraciones en la calidad del sonido producido, un incremento del esfuerzo vocal necesario para la fonación, fatiga durante la misma, o dolor o molestias durante el habla y el canto (2). En muchas ocasiones supone la primera manifestación de distintas patologías que de forma directa o indirecta afectan a alguno de los sistemas corporales involucrados en el habla (1).

La ronquera es un término inespecífico que se refiere a cambios en la calidad de la voz, típicamente asociado a un sonido rugoso y tosco. Por lo tanto, la ronquera es un tipo de disfonía (2).

La laringitis, término habitualmente empleado por los pacientes para describir un síntoma relacionado con alteraciones de la fonación, únicamente hace alusión a inflamación a nivel de la laringe. Esta inflamación puede ser aguda a crónica, y justifica únicamente algunos casos de disfonía (3).

La afonía se describe como la incapacidad de producir voz. Los pacientes con afonía, normalmente son capaces de hablar mediante susurros, o simplemente mueven los labios, pero son incapaces de emitir sonido alguno (2).

5.1.1 Introducción

La comprensión de la anatomía y la fisiología de la voz normal facilita el entendimiento de la fisiopatología, evaluación y tratamiento de los problemas relacionados con la producción de la voz. La laringe juega un papel importante en la prevención de la broncoaspiración, la respiración, las maniobras de Valsalva y la fonación. Es una compleja estructura tridimensional con forma triangular en su parte anterior, adquiriendo

morfología circular en su porción posterior. Está formada por múltiples cartílagos que sirven de soporte para la musculatura intrínseca y extrínseca (4).

5.1.1.1. Anatomía de los sistemas corporales relacionados con la voz

La anatomía responsable de la producción de la voz no se limita únicamente al espacio comprendido entre la escotadura supraesternal y el hueso hioides. Prácticamente todos los sistemas corporales tienen influencia sobre la voz. La laringe recibe la mayor atención debido a que es el componente más evidente y expresivo del sistema vocal, pero a la hora de estudiar la voz, han de tenerse en cuenta todas las interacciones anatómicas existentes entre la anatomía del paciente. Para su comprensión, resulta de utilidad realizar una división de la laringe en cuatro unidades anatómicas: esqueleto, mucosa, músculos intrínsecos y músculos extrínsecos. La glotis es el espacio de las cuerdas vocales. La parte de la laringe situada por encima de las cuerdas vocales se denomina supraglotis, y el área que se encuentra por debajo, subglotis. El tracto vocal incluye todas las regiones anatómicas del sistema aerodigestivo involucradas en la producción de la voz (4).

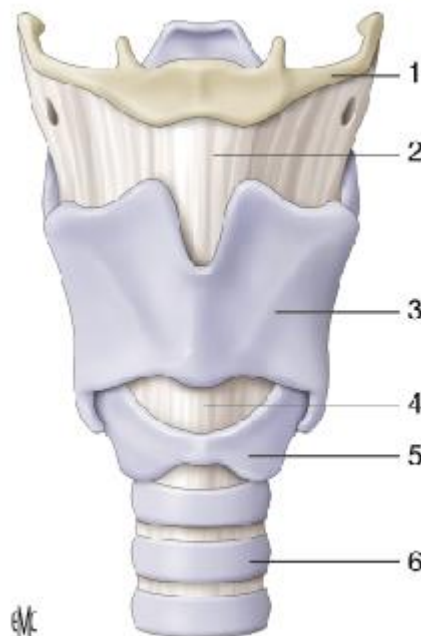


Figura 1. Forma y dimensiones de la laringe. 1. Hueso hioides; 2. Membrana tirohioidea; 3. cartílago tiroideos; 4. membrana cricotiroidea; 5. sello cricoideo; 6. tráquea. (4)

Laringe: Esqueleto

Las partes más importantes del esqueleto laríngeo son el cartílago tiroideo, el cartílago cricoideo, y los dos cartílagos aritenoides (figura 1). Los músculos intrínsecos de la

larínge se insertan en estos cartílagos. Uno de los músculos intrínsecos, el tiroaritenoides, se extiende a cada lado desde el cartílago aritenoides, hacia el interior del cartílago tiroides, justo inferior y por detrás de la prominencia tiroidea. El vientre medial del músculo tiroaritenoides es también conocido como el músculo vocal, y forma el cuerpo de la cuerda vocal. Los cartílagos laríngeos están unidos entre ellos a través de anclajes no rígidos que permiten la producción de cambios en sus angulaciones y en la distancia entre ellos, pudiéndose así modificar la forma y tensión de los tejidos blandos que engloban. Los cartílagos aritenoides poseen una capacidad motriz compleja; pueden balancearse, rotar y deslizarse. Con la aducción de las cuerdas vocales, estos cartílagos se juntan en la línea media y rotan sobre el cricoides, moviéndose inferiormente y anteriormente. El ser humano es capaz de aproximar los cartílagos aritenoides de formas distintas, y dependiendo de la manera en que lo realice, varía la susceptibilidad individual al trauma larínge, que puede ocasionar úlceras en los procesos vocales y granulomas laríngeos (5).

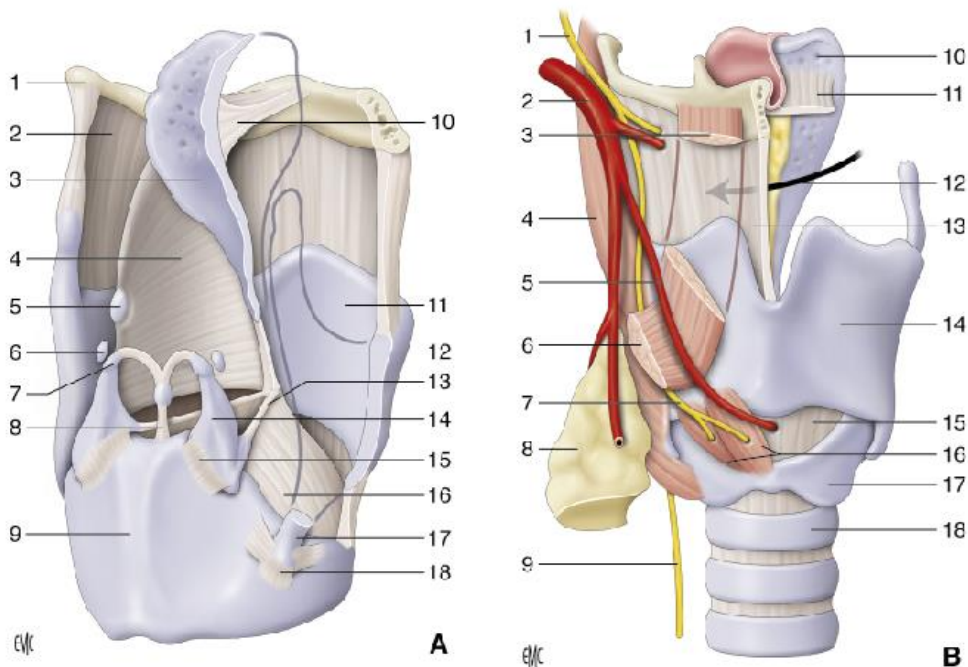


Figura 2. Ligamentos y membranas (A, B).A. 1. Hueso hioides; 2. ligamento tirohioideo; 3. epiglotis; 4. membrana cuadrangular; 5. tubérculo cuneiforme; 6. sesamoideo posterior; 7. cartílago corniculado; 8. ligamento cricocorniculado; 9. cartílago cricoides; 10. ligamento hioepiglótico; 11. cartílago tiroides; 12. ligamento tiroepiglótico; 13. ligamento vocal; 14. cartílago aritenoides; 15. ligamento cricoaritenoides; 16. cono elástico; 17. asta inferior; 18. ligamento cricotiroideo.B. 1. Nervio laríngeo superior; 2. arteria tiroidea superior; 3. músculo tirohioideo; 4. músculo constrictor inferior; 5. arteria laríngea anteroinferior; 6. músculo esternotiroideo; 7. nervio laríngeo externo; 8. glándula tiroides; 9. nervio recurrente; 10. epiglotis; 11. ligamento hioepiglótico; 12. espacio tirohioepiglótico; 13. ligamento tirohioideo; 14. cartílago cricoides; 15. ligamento cricotiroideo; 16. músculo cricotiroideo; 17. cartílago cricoides; 18. Tráquea (4)

Laringe: Mucosa

El margen vibratorio de la cuerda vocal es mucho más complejo que una simple mucosa adherida a un músculo o ligamento. Se encuentra formada por siete capas de tejido (Figura 2) (6). Un epitelio, delgado y lubricado, recubre la superficie de las cuerdas vocales, formando el área de contacto entre ellas, y actúa en cierta manera como una cápsula, ayudando a mantener su forma. El recubrimiento epitelial de la mayor parte del tracto vocal es de tipo pseudoestratificado, ciliado y columnar, igual al epitelio del tracto respiratorio, involucrado en el manejo y producción de secreciones mucosas. El borde vibratorio de la cuerda vocal se encuentra tapizado por un epitelio escamoso estratificado, más apropiado para soportar el trauma constante del contacto entre las cuerdas. La capa superficial de la lámina propia, también conocida como espacio de Reinke, se compone principalmente de tejido conjuntivo laxo, conteniendo una escasa cantidad de fibroblastos.

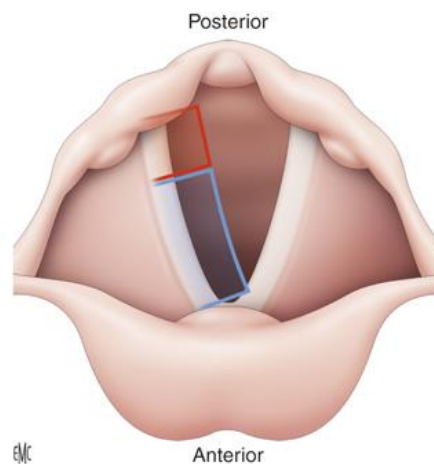


Figura 3. Parte vibrante (en azul) y no vibrante (en rojo) de la cuerda vocal. (5)

La capa intermedia de la lámina propia está formada por fibras elásticas, y no contiene fibroblastos. La capa profunda, está compuesta principalmente de fibras de colágeno, siendo rica en fibroblastos. El músculo tiroaritenoides o músculo vocal, forma el cuerpo de la cuerda vocal, y es uno de los músculos laríngeos intrínsecos. Las capas intermedia y profunda de la lámina propia constituyen el ligamento vocal, y se encuentran inmediatamente por debajo del espacio de Reinke. A lo largo de cada cuerda vocal existen variaciones morfológicas en la densidad y las características del tejido que la forman. En la parte más anterior de la cuerda, la capa intermedia de la lámina propia se engrosa,

formando una masa ovalada llamada macula flava. Esta estructura está compuesta por estroma, fibroblastos y fibras elásticas.

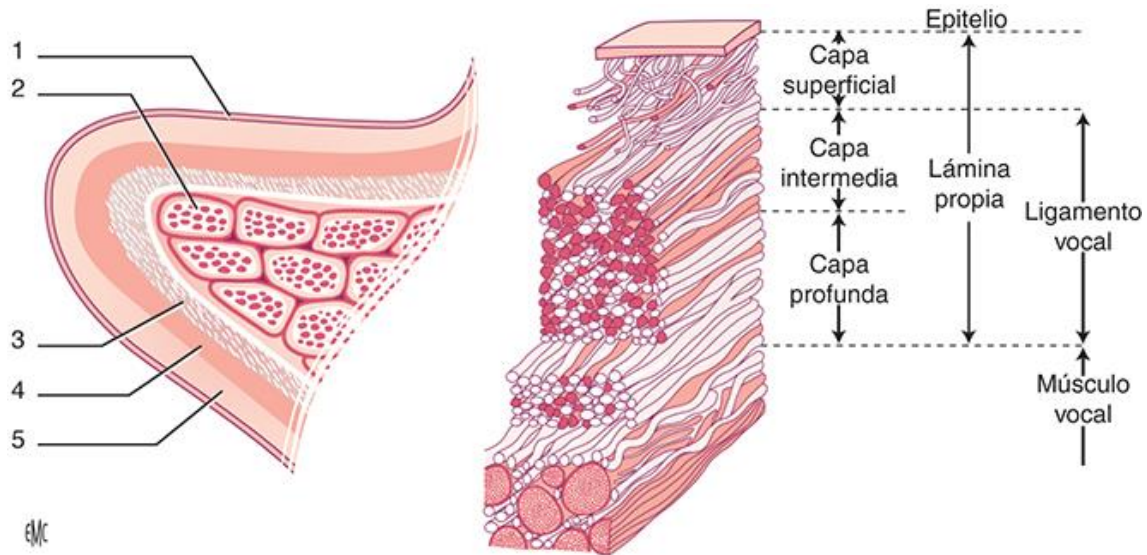


Figura 4. Estructura en capas de la cuerda vocal (según Hirano). 1. Epitelio; 2. músculo tiroaritenoides; 3. ligamento vocal (porción profunda); 4. ligamento vocal (porción superficial); 5. espacio de Reinke. (5)

Las cuerdas vocales se insertan en su extremo anterior en el tendón de la comisura anterior, una masa de fibras de colágeno conectadas con el cartílago tiroideo. Esta disposición permite una transición gradual de la rigidez presente en la parte membranosa y pliable de la cuerda vocal, hasta el rígido cartílago tiroideos (7). La disposición es similar en la parte posterior, donde la capa intermedia de la lámina propia también se engrosa para formar la macula flava posterior, otra masa ovalada, estructuralmente similar a la macula anterior. La macula posterior se une al proceso vocal del cartílago aritenoides a través de una estructura de transición formada por condrocitos, fibroblastos, y células intermedias. La rigidez de las estructuras disminuye progresivamente, desde la parte membranosa de la cuerda vocal, hasta la macula flava, su inserción, el cartílago elástico del proceso vocal, hasta el cartílago hialino del cuerpo del aritenoides. Se considera que esta transición gradual en la rigidez de estas estructuras, sirve a modo de amortiguador, protegiendo los bordes de las cuerdas vocales del daño mecánico derivado del contacto y la vibración (8). También puede servir como un regulador controlado que suaviza los cambios mecánicos durante el ajuste de posición y tensión de la cuerda. Estas características estructurales, se encuentran especialmente adaptadas a la vibración, como lo están otros aspectos de la arquitectura de las cuerdas vocales: Los vasos sanguíneos del

borde vibratorio circulan en sentido anteroposterior, y circulan paralelos al borde, con una cantidad escasa de vasos que entren a la mucosa perpendicularmente o desde el musculo subyacente. El borde vibratorio no contiene glándulas, cuya presencia podría interferir con la suavidad de la ondulación de las vibraciones. Incluso las fibras elásticas y de colágeno de la lámina propia discurren en su mayoría paralelas al margen vibratorio (5).

Los dos quintos posteriores (aproximadamente) de las cuerdas vocales son cartilagosos, y los tres quintos anteriores son membranosos (desde el proceso vocal hacia adelante) en adultos. En circunstancias normales, la mayor parte de la función vibratoria relevante para la confección del sonido, es producida en la porción membranosa. Mecánicamente, las estructuras de la cuerda vocal actúan como tres capas: una con función de cobertura (epitelio y espacio de Reinke), otra de transición (capas intermedia y profunda de la lámina propia) y el cuerpo (los músculos vocales). La comprensión de esta anatomía es importante, porque diversas entidades patológicas pueden tener lugar en diferentes capas, requiriendo abordajes terapéuticos distintos. Por ejemplo, los fibroblastos son la estructura celular responsable de la formación de cicatrices. Las lesiones que ocurren en la porción superficial de la cuerda vocal (como los nódulos, quistes, y la mayoría de pólipos), podrían por tanto ser tratados sin afectar las capas intermedia y profundas; sin proliferación fibroblástica ni formación de cicatrices (4).

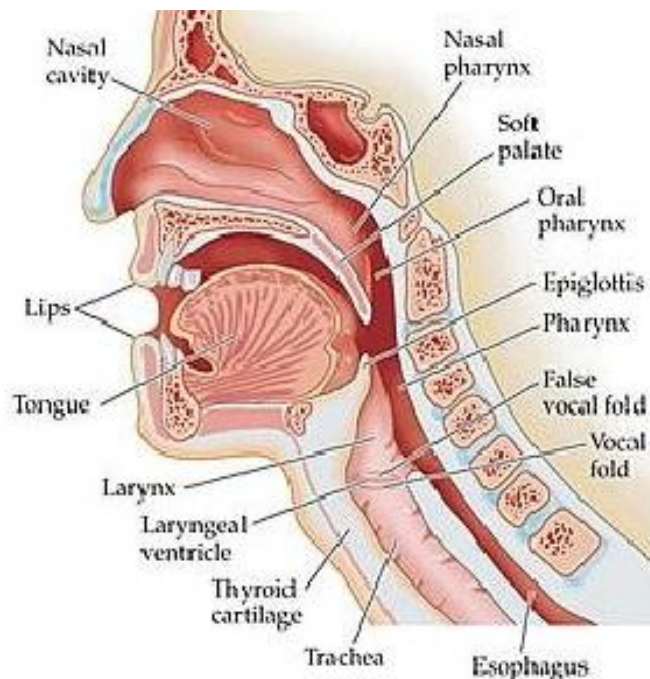


Figura 5. Dibujo esquemático de la laringe y tracto vocal (5)

Las cuerdas vocales deben ser consideradas como los osciladores del mecanismo de la voz. Por encima de las cuerdas vocales verdaderas, se encuentran unas estructuras conocidas como cuerdas vocales falsas o bandas ventriculares. Al contrario de las cuerdas verdaderas, las falsas no entran en contacto durante la fonación normal o el canto. No obstante, pueden producir sonido en circunstancias anómalas. Este fenómeno se conoce como “*disfonía plica ventricularis*”. Pese a no tener un papel relevante en la fonación directa en condiciones normales, la eliminación de las cuerdas vocales falsas repercute en las cualidades de la voz producida. Las características físicas del flujo aéreo a través de la laringe son complejas, teniendo lugar vórtices y patrones de turbulencia determinados que son esenciales para la producción de la voz. Los pliegues vocales falsos proporcionan una resistencia al flujo que es importante en este proceso, teniendo también cierto papel en la resonancia del tracto vocal (9).

Laringe: Músculos intrínsecos

Los músculos intrínsecos son los responsables de la abducción, aducción y tensión de las cuerdas vocales. Todos los músculos intrínsecos de la laringe excepto el cricotiroideo son inervados por el nervio laríngeo recurrente.

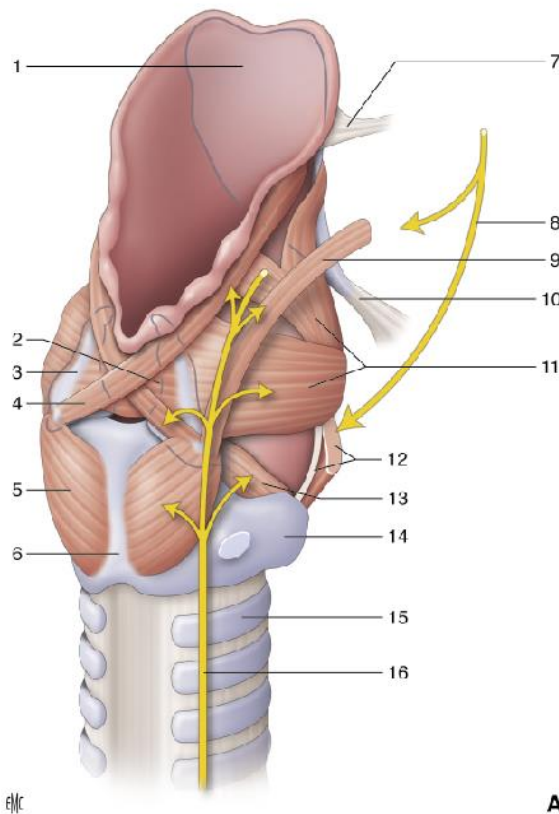


Figura 6. Músculos laríngeos. Vista posterior derecha. 1. Epiglotis; 2. músculo aritenoides transversos; 3. cartílago aritenoides; 4. músculo aritenoides oblicuo; 5. músculo cricoaritenoides posterior. 6. cartílago cricoides; 7. ligamento hioepiglótico; 8. nervio laríngeo; 9. músculo tiroaritenoides superior; 10. ligamento tiroepiglótico; 11. músculo tiroaritenoides lateral; 12. músculo y membrana cricotiroideos; 13. músculo cricoaritenoides lateral; 14. cartílago cricoides; 15. tráquea; 16. nervio laríngeo inferior (4)

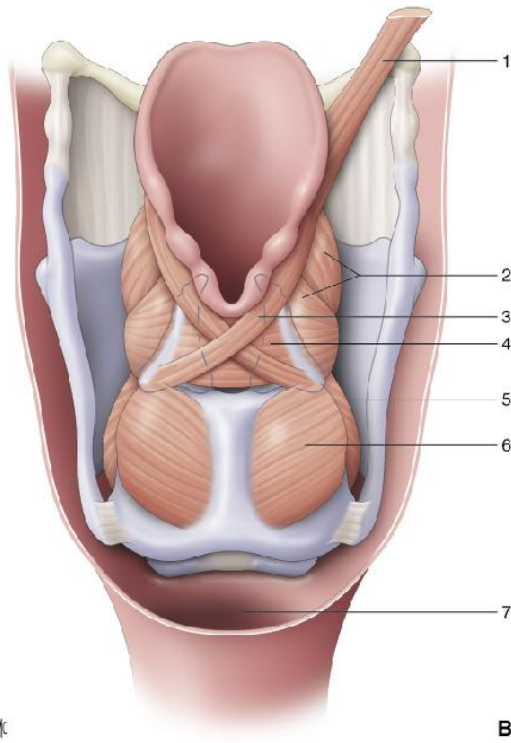


Figura 7. Músculos laríngeos. Vista posterior. 1. Músculo estilofaríngeo; 2. músculo tiroaritenoides lateral; 3. músculo aritenoides oblicuo; 4. músculo aritenoides transversos; 5. músculo cricoaritenoides lateral; 6. músculo cricoaritenoides posterior; 7. boca esofágica. (4)

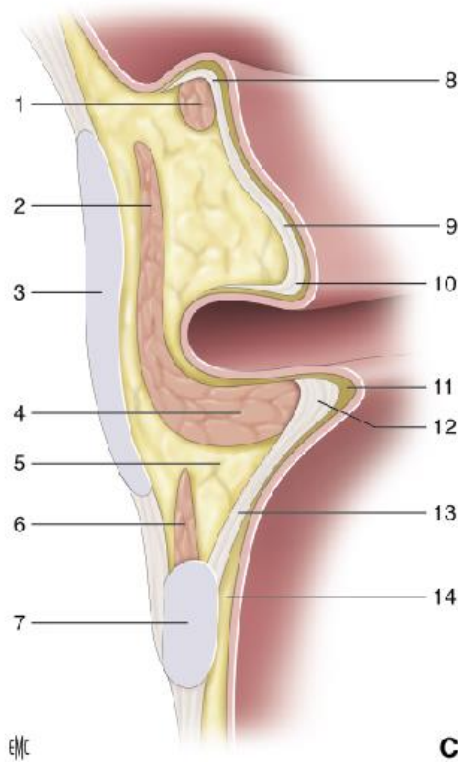


Figura 8. Vista coronal; 1. Músculo aritenoepiglótico; 2. músculo tiroaritenoides lateral; 3. cartílago tiroides; 4. músculo tiroaritenoides medial; 5. espacio paraglótico; 6. músculo cricoaritenoides lateral; 7. cartílago cricoides; 8. ligamento aritenoepiglótico; 9. membrana cuadrangular; 10. ligamento tiroaritenoides; 11. espacio de Reinke; 12. ligamento tiroaritenoides inferior; 13. cono elástico; 14. espacio subglótico. (4)

Debido a la disposición anatómica de este nervio, que desciende desde el cuello hasta el tórax, para luego volver superiormente hasta la laringe, resulta frecuentemente dañado tras traumatismos, o la realización de distintos procedimientos de cirugía cervical o torácica. Estas lesiones ocasionan una parálisis de la abducción y aducción de las cuerdas vocales. El músculo cricotiroides es inervado por el nervio laríngeo superior, que es especialmente susceptible a afectación viral y a su lesión traumática. Tanto el nervio laríngeo recurrente como el superior son ramificaciones del décimo nervio craneal o nervio vago. El nervio laríngeo superior se ramifica desde el vago a un nivel alto en el cuello, desde la parte inferior del ganglio nodoso. Se divide en dos ramas: una interna y una externa. La rama externa inerva el músculo cricotiroides. Una ramificación de este nervio también proporciona inervación motora y sensitiva a las cuerdas vocales. La rama interna es responsable de la inervación sensitiva en la mucosa por encima de las cuerdas vocales. El nervio laríngeo recurrente se ramifica desde el vago a nivel del tórax. El izquierdo normalmente rodea el arco aórtico antes de comenzar su ascenso. En el lado derecho, rodea la arteria braquiocéfálica antes de comenzar su ascenso. Estas relaciones anatómicas son frecuentes, pero no se encuentran siempre presentes. Existen interconexiones entre los nervios laríngeos superiores y los recurrentes, particularmente en la región del músculo interaritenoides.

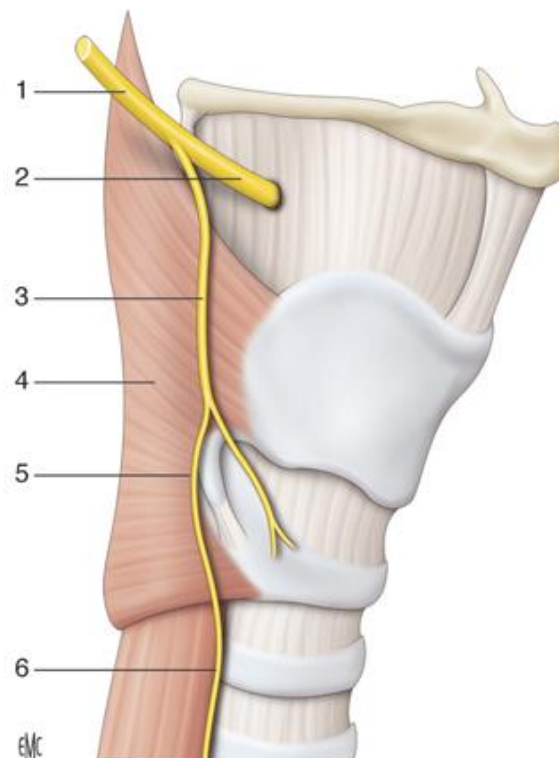


Figura 9. Inervación motora de la laringe. 1. Nervio laríngeo superior; 2. ramo interno; 3. ramo externo; 4. músculo constrictor inferior; 5. asa de Galeno; 6. nervio recurrente laríngeo. (5)

Los músculos con mayor relevancia a nivel funcional son los inervados por el laríngeo recurrente (tiroaritenoides, cricoaritenoides posterior, cricoaritenoides lateral, e interaritenoides o aritenoides) y el laríngeo superior (cricotiroideo) (figura 6).

El músculo tiroaritenoides aduce, desciende, acorta y engrosa la cuerda vocal, abombando su borde libre. Las inserciones anterior y posterior de la cuerda se destensan, mientras que el cuerpo de la cuerda se torna más rígido al engrosarse. La aducción del músculo vocal es activa, particularmente en el segmento membranoso de la cuerda. Tiende a disminuir el tono de voz. El músculo tiroaritenoides se origina anteriormente de la superficie posterior del cartílago tiroideos, y se inserta en la base lateral del cartílago aritenoides, desde el proceso vocal hasta el proceso muscular. Las fibras superiores del músculo se insertan en las porciones laterales e inferior del proceso vocal, y discurren inicialmente en sentido horizontal. Las fibras anteroinferiores se insertan en la parte anterolateral del cartílago aritenoides, desde su punta, hasta la región lateral del proceso vocal. Las fibras más mediales discurren paralelas al ligamento vocal. El músculo tiroaritenoides se divide en dos compartimentos. El medial es conocido también como músculo vocal. Contiene un alto porcentaje de fibras musculares lentas. El compartimento lateral posee un porcentaje predominante de fibras musculares rápidas. De esto, podría deducirse que el compartimento medial está especializado en la fonación, mientras que el lateral en la aducción de las cuerdas vocales, aunque estas suposiciones no han sido demostradas (5).

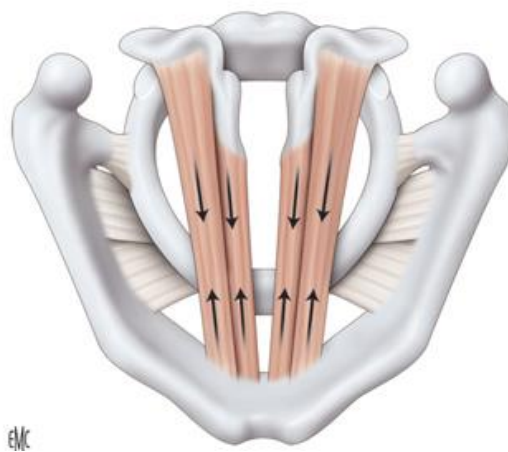


Figura 10. Músculo tiroaritenoides (5)

El músculo cricoaritenideo lateral es un músculo pequeño que aduce, desciende, elonga y estrecha la cuerda vocal. Todas las porciones de la cuerda aumentan su rigidez durante su acción, y el borde de la cuerda adquiere una morfología menos curva. Este músculo se origina en el borde superolateral del cartílago cricoideo y se inserta en la superficie anterolateral del proceso muscular del cartílago aritenoides.

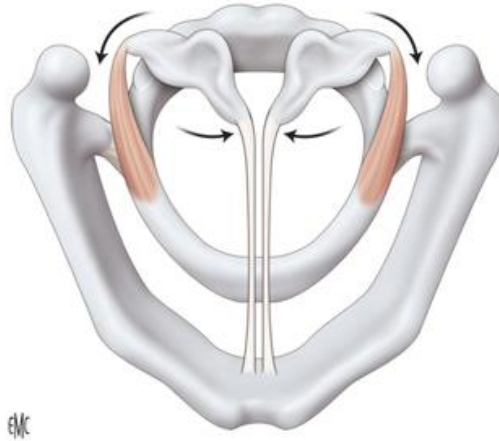


Figura 11. Músculo cricoaritenideo lateral (5).

El músculo interaritenideo aduce la porción cartilaginosa de la cuerda vocal. Este músculo tiene un papel importante al inducir compresión medial, ocasionando el cierre de la glotis posterior. Posee escaso efecto sobre la tensión de las cuerdas.

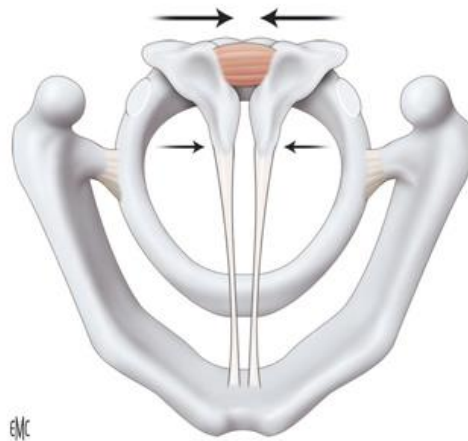


Figura 12. Músculo interaritenideo (5).

El músculo cricoaritenideo posterior abduce, eleva, elonga y estrecha la cuerda vocal al movilizar el cartílago aritenideo en sentido posterolateral. Todas las capas de la cuerda son tensadas. Es el segundo músculo intrínseco de mayor tamaño. Se origina en la porción

posterolateral de la lámina del cartílago cricoides y se inserta en la superficie posterior del proceso muscular del cartílago aritenoides, formando un corto tendón que cubre la parte craneal del proceso muscular. Es el único músculo abductor de la glotis, dado que la función preponderante de la laringe es la protección de la vía aérea inferior, predominando los músculos aductores.



Figura 13. Músculo cricoaritenoso posterior (5).

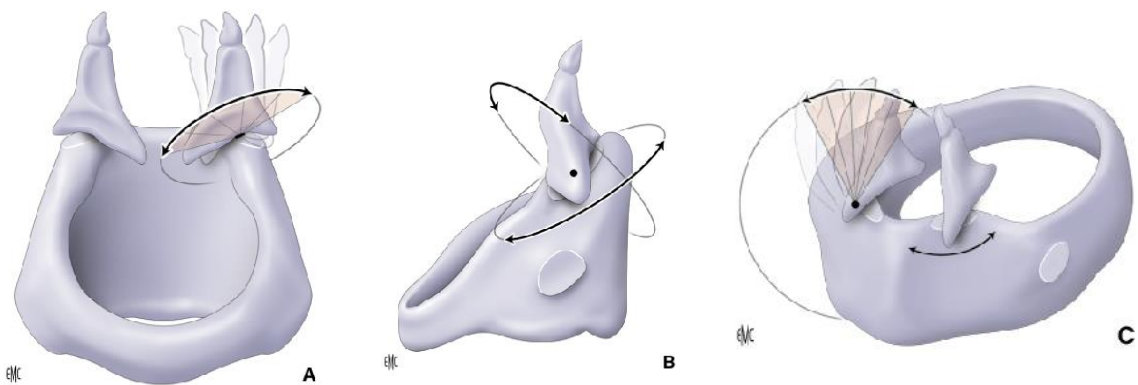


Figura 14. Articulación cricoaritenosa (A-C) (4).

Cuando el nervio laríngeo superior es estimulado, el músculo cricotiroideo modifica las cuerdas vocales, dejándolas en posición paramediana. También desciende, estira, elonga y estrecha las cuerdas, tensando todas las capas y afilando su contorno. Es el músculo laríngeo intrínseco de mayor tamaño. Este músculo es uno de los que más influyen en la tensión longitudinal de las cuerdas, un factor crucial en el control del tono. Su contracción tiende a aumentar el tono de voz. El músculo cricotiroideo se origina de las porciones anteriores y laterales del arco del cartílago cricoides. Está formado por dos vientres, insertándose uno de ellos (el oblicuo) en la mitad posterior de la lámina tiroidea y en la

porción anterior del cornu inferior del cartílago tiroides. El vientre vertical se inserta en el borde inferior de la cara anterior del cartílago tiroides.

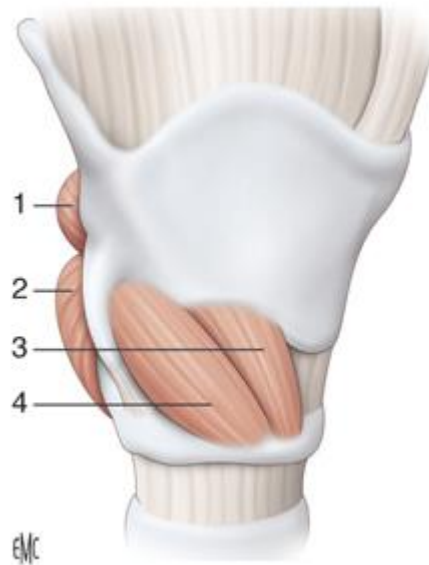


Figura 15. 1. Músculo aritenoides transversos; 2. músculo cricoaritenoides posterior; 3. músculo cricoaritenoides, porción vertical; 4. músculo cricotiroideo, porción oblicua. (5)

Laringe: Músculos extrínsecos

La musculatura laríngea extrínseca se encarga de mantener la laringe en su posición en el cuello. Debido a que el ascenso y descenso de la laringe pueden alterar la tensión y el ángulo entre los cartílagos laríngeos, modificando la longitud de los músculos intrínsecos, los extrínsecos tienen un papel crítico en mantener estable el esqueleto laríngeo, permitiendo que la delicada musculatura intrínseca puede realizar su acción sin de forma efectiva. Los músculos extrínsecos pueden dividirse entre los que se encuentran por debajo del hioides (infrahioideos) y los que se encuentran por encima del mismo (suprahioideos). Los músculos infrahioideos incluyen el músculo tirohioideo, el esternotiroideo, el esternohioideo y el omohioideo.

Los cantantes occidentales adecuadamente entrenados, mantienen un rango tonal relativamente estable en buena parte gracias a un adecuado funcionamiento de esta musculatura laríngea extrínseca (5). El entrenamiento de la musculatura intrínseca resulta en una vibración simétrica de las cuerdas vocales, produciendo una periodicidad regular en la voz. Este fenómeno contribuye a lo que un oyente puede percibir como una “voz entrenada” (5).

El músculo tirohioideo se origina de forma oblicua en la lámina tiroidea del hueso hioides. Su contracción aproxima el cartílago tiroides y el hueso hioides.

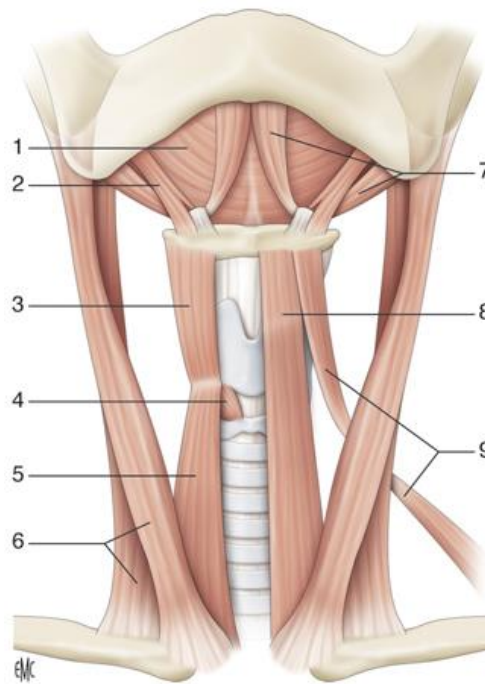


Figura 16. Músculos supra e infrahioideos. 1. Músculo milohioideo; 2. músculo estilohioideo; 3. músculo tirohioideo; 4. músculo cricohioideo; 5. músculo esternohioideo; 6. músculo esternocleidomastoideo; 7. músculo digástrico; 8. músculo esternohioideo; 9. músculo omohioideo (5)

El músculo esternohioideo se origina en el primer cartílago costal y la parte posterior del manubrio esternal, y se inserta de forma oblicua en el cartílago tiroides. Su contracción desciende la laringe.

El músculo esternohioideo se origina en la clavícula y en la cara posterior del manubrio esternal, insertándose en el borde inferior del cuerpo del hueso hioides. Su contracción desciende el hueso hioides.

El vientre inferior del musculo omohioideo se origina en la superficie superior de la escápula y se inserta en el tendón intermedio del musculo omohioideo. El vientre superior se origina en el tendón intermedio y se inserta en el cornu mayor del hueso hioides. El musculo omohioideo desciende el hueso hioides

Los músculos suprahioideos incluyen el músculo digástrico, milohioideo, geniohioideo y estilohioideo.

El vientre posterior del músculo digástrico se origina en el proceso mastoideo del hueso temporal y se inserta en el tendón intermedio, que lo conecta al hueso hioides. El vientre anterior se origina de la parte inferior de la mandíbula, cerca de la sínfisis y se inserta en el tendón intermedio. El vientre anterior tira del hueso hioides anteriormente y lo eleva.

El musculo milohioideo se origina en la cara interna del cuerpo de la mandíbula (en la línea milohioidea) y se inserta en un rafe en la línea media, fusionándose con fibras del lado contralateral. Eleva el hueso hioides y tira de él anteriormente

El musculo geniohioides se origina en la espina mental, en la sínfisis mental de la mandíbula, y se inserta en la cara anterior del cuerpo del hueso hioides. Eleva el hueso hioides y tira de él hacia delante.

El musculo estilohioideo se origina en el proceso estiloides y se inserta en el cuerpo del hueso hioides. Eleva el hueso hioides y tira de él posteriormente.

La acción coordinada de los músculos extrínsecos es necesaria para controlar la posición vertical de la laringe, y otros aspectos posturales de la misma, como su inclinación.

Tracto vocal supraglótico

La laringe supraglótica, la lengua, los labios, el paladar, la faringe, la cavidad nasal y los senos faciales, moldean el sonido producido a nivel de las cuerdas vocales actuando como resonadores. Mínimas alteraciones en la configuración de estas estructuras pueden producir cambios sustanciales en la calidad de la voz. El habla hipernasal típicamente asociado a pacientes con paladar hendido, o el habla hiponasal característico de pacientes con hipertrofia adenoidea severa suponen ejemplos significativos de esta aseveración. El edema local asociado a una infección de vías respiratorias superiores, las cicatrices faríngeas, o cambios en la tensión de los músculos, producen alteraciones de la voz relativamente más sutiles

Árbol traqueobronquial, pulmones y tórax

Los pulmones proporcionan un flujo constante de aire que pasa entre ambas cuerdas vocales y supone el motor para la producción de la voz. Pese a la creencia general de que los cantantes poseen una capacidad pulmonar aumentada, la diferencia existente entre

cantantes entrenados y no entrenados radica en una mayor capacidad para utilizar una mayor proporción del aire de sus pulmones, disminuyendo su volumen residual, e incrementando la eficiencia respiratoria (11)

Abdomen

La musculatura abdominal se conoce como el soporte de la voz del cantante. La influencia del músculo diafragma en la voz es compleja y variable entre individuos. En primer lugar, el diafragma genera la fuerza inspiratoria. Aunque el abdomen puede también realizar esa función en algunas situaciones, primordialmente es una estructura generadora de fuerza espiratoria (12). El diafragma es co-activado por algunos cantantes, y parece jugar un papel importante en la regulación fina del canto (13). No obstante, la anatomía de soporte para la fonación es complicada y su funcionamiento global no se conoce completamente. Los pulmones y la caja torácica generan fuerzas espiratorias e inspiratorias pasivas en ciertas circunstancias. Los músculos respiratorios activos que trabajan en conjunción con las fuerzas pasivas son los intercostales, los componentes de la pared abdominal, espalda y el músculo diafragma.

Los principales músculos inspiratorios son el diafragma, los músculos intercostales externos, y las porciones intercondrales de los intercostales internos. Los músculos accesorios de la inspiración incluyen el pectoral mayor, pectoral menor, serrato anterior, subclavio, esternocleidomastoideo, escaleno anterior, medial y posterior, serrato posterior y dorsal ancho.

Durante la respiración normal, la espiración tiene lugar principalmente de forma pasiva. Muchos de los músculos usados para la espiración activa son también empleados para apoyar la modulación de voz para el canto y la interpretación. Los músculos espiratorios activos aumentan la presión intraabdominal, forzando el ascenso del diafragma, descienden las costillas o el esternón disminuyendo las dimensiones del tórax, o ambas. Se incluyen en este grupo los músculos intercostales internos, los músculos subcostales y el serrato posteroinferior. Todos ellos tiran inferiormente de las costillas. Además, el dorsal ancho, que también actúa como músculo inspiratorio, puede comprimir la parte inferior de la caja torácica actuando como músculo espiratorio. Pese a que todos los músculos previamente mencionados intervienen en la espiración activa, los músculos más importantes son los abdominales, incluyendo el oblicuo externo, oblicuo interno, recto

abdominal y abdominal transverso. El oblicuo externo es un musculo plano y ancho localizado en la parte lateral y anterior del tórax inferior y abdomen. Al contraerse, tira de las costillas inferiores hacia abajo, aumentando la presión abdominal. El oblicuo interno es otro músculo plano localizado en el lateral y parte anterior del abdomen. Se encuentra profundo al oblicuo externo, y realiza una función similar al mismo. El recto abdominal discurre paralelo a la línea media del abdomen, originándose en el proceso xifoideo del esternón y los cartílagos costales de la quinta, sexta y séptima costillas, insertándose en el hueso púbico. Su contracción desciende la caja torácica y estabiliza la pared abdominal. El músculo transverso es un musculo amplio y delgado, localizado por debajo del oblicuo interno, en el lateral y parte anterior del abdomen. Sus fibras discurren horizontalmente en el abdomen, y su contracción comprime el contenido abdominal.

La musculatura abdominal recibe una atención considerable en el entrenamiento de la voz. El objetivo de reforzar esta musculatura, es lograr mantener una fuente de energía constante y eficiente para el mecanismo inspiratorio y espiratorio.

Sistema musculoesquelético

Las condiciones y posición corporal pueden afectar el mecanismo vocal y producir tensión o impedir la función muscular abdominal, ocasionando disfunción de la voz. El cambio postural, como el paso de posición de bipedestación a decúbito supino produce cambios evidentes en la función respiratoria. Cambios más sutiles, como la distribución del propio peso sobre el calcáneo en lugar de en el antepié, altera la configuración de la musculatura abdominal y de la espalda lo suficiente como para influir en la voz. Tensar la musculatura del brazo y el hombro produce tracción de la musculatura cervical, lo que también puede afectar la función y posición laríngea.

Sistema psiconeurológico

El estado psicológico del individuo puede también influir directamente en el mecanismo vocal. Ciertos estados psicológicos influyen a través del sistema nervioso autonómico, que controla la secreción mucosa y otras funciones relevantes para la modulación de la voz. Además, el sistema nervioso es también importante por su mediación el control muscular fino. Este aspecto debe ser enfatizado, ya que pequeñas alteraciones de la voz, pueden ocasionalmente ser signos iniciales de enfermedades neurológicas.

5.1.1.2 Fisiología de la voz

La laringe posee un papel central en la producción de la voz, sirviendo como un instrumento vibratorio que convierte el flujo aéreo procedente de los pulmones en sonido.

La producción voluntaria de la voz comienza con un estímulo originado en la corteza cerebral. Una serie de complejas interacciones entre los centros del habla originan los comandos para la vocalización. El impulso de la vocalización planificada es transmitido a la circunvolución precentral, en el córtex motor, que es retransmitida de nuevo a los núcleos motores del tronco encefálico y la médula espinal. Estas regiones transmiten los complejos mensajes necesarios para la actividad coordinada de la musculatura laríngea, torácica y abdominal, y de los músculos articuladores y resonantes de la voz. El sistema nervioso extrapiramidal (corteza cerebral, cerebelo y ganglios basales) y el autónomo proporcionan refinamientos adicionales a la actividad motriz. Estos impulsos se combinan para producir un sonido que es transmitido no solo a los oídos de los oyentes, sino a los propios del emisor. Esta retroalimentación auditiva ayuda a moderar y realizar ajustes a la voz emitida para adecuarla al sonido que se desea emitir. Existe también un mecanismo de retroalimentación táctil a nivel de la garganta y otros músculos involucrados en la fonación, que, aunque se cree que colaboran en la moderación tonal de la voz emitida, no son completamente comprendidos actualmente (5).

La voz requiere de la interacción entre su fuente de energía (pulmones, músculos abdominales y de la espalda, y las cuerdas vocales), el elemento oscilante (cuerdas vocales), y el sistema de resonancia. La fuente de energía comprime el aire y lo fuerza hacia el exterior a través de la laringe. Durante la fonación (figura 17A), las cuerdas vocales permanecen en aducción, mientras los pulmones impulsan el aire hacia el exterior a través de la laringe. Durante la inspiración (figura 17B), las cuerdas vocales se encuentran abducidas, permitiendo el flujo del aire a través de la laringe sin resistencia. La presión va incrementándose a nivel subglótico hasta que supera la fuerza de cierre de las cuerdas vocales, forzando su apertura y pasando entre ellas. La combinación de la elasticidad de las cuerdas vocales y la presión negativa generada por el paso del aire mediante el efecto de Bernoulli, induce la aproximación de los bordes de las cuerdas vocales, permitiendo que la presión subglótica vuelva a incrementarse, repitiendo el ciclo. Los ciclos repetidos de apertura y cierre a nivel del borde libre de las cuerdas vocales generan la conocida como “onda mucosa” que discurre desde el borde inferior de cada

cuerda vocal hacia arriba a través de los bordes medial y superior (figura 7C). Estas ondas se repiten cientos de veces cada segundo, condicionando el tono del sonido creado. Estos ciclos de apertura y cierre de las cuerdas vocales durante la fonación, aplican ondas de presión a la columna de aire que los mueve, generando sonido. La capacidad de las cuerdas vocales para vibrar a la velocidad adecuada y de forma simétrica permite la producción de una voz normal y clara (5).

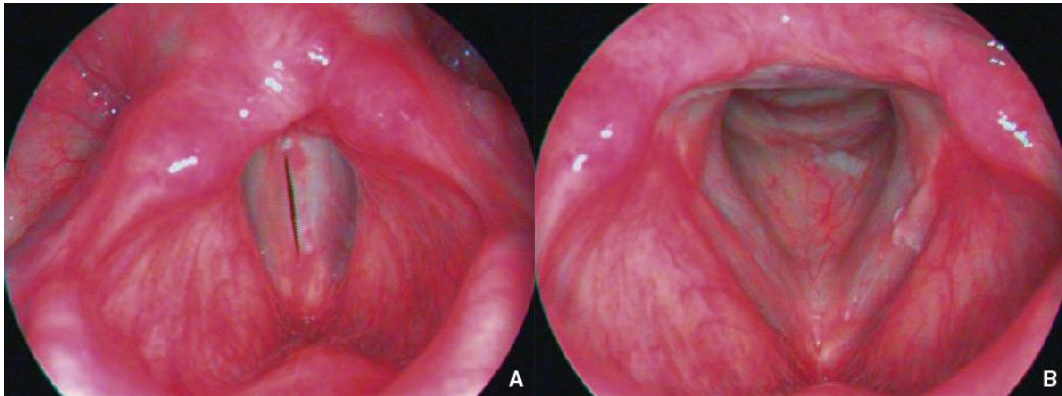


Figura 17. Vista superior del piso glótico. **A.** Cuerdas vocales en aducción y apertura de los senos piriformes. **B.** Cuerdas vocales en abducción (4)

Numerosos factores influyen en el sonido producido a nivel glótico, incluyendo la presión que existe por debajo de las cuerdas vocales (presión subglótica), la resistencia a la apertura de la glotis (impedancia glótica), la velocidad del aire que fluye a través de la glotis, y la presión supraglótica. Las cuerdas vocales, durante su vibración, se separan y aproximan a gran velocidad. El número de veces en que lo hacen en un segundo (su frecuencia) determina el número de ráfagas de aire que pasan, y, por lo tanto, el tono de la voz. Las modificaciones en la longitud de las cuerdas vocales y en la tensión del músculo tiroaritenoides influyen también en el tono. Otros factores afectan a la intensidad del sonido, como la presión subglótica, la resistencia glótica, y la amplitud de desplazamiento de las cuerdas vocales respecto a la línea media durante cada ciclo vibratorio. El sonido creado a nivel de la cuerda vocal es un zumbido, similar al sonido producido al soplar entre dos hojas. Este sonido contiene un set completo de armónicos parciales, y es responsable en parte de las características acústicas de la voz. Una serie de complejas interacciones tienen lugar a nivel del tracto vocal supraglótico, faringe y las cavidades nasales y sinusales que pueden acentuar o atenuar los armónicos parciales, actuando como un resonador. Esta porción del tracto vocal es de gran importancia para condicionar las características y la variedad de sonidos producidos. La articulación de

palabras es realizada a través de la acción y movilización del paladar, la lengua, los labios y los dientes. Una disfunción a cualquiera de estos niveles puede llevar a alteraciones de la voz.

Las interacciones entre los diversos componentes del tracto vocal, son los responsables últimos de las características de la voz emitida. Muchos aspectos de la voz todavía son desconocidos, y no han podido ser clasificados. El rango vocal es una característica que ha sido extensamente estudiada, y existen varias categorías de clasificaciones de voz que son generalmente aceptadas. Otras características como el registro de voz resultan más controvertidas. Los registros se expresan como cambios cualitativos dentro de la voz de un individuo. De menor a mayor frecuencia, se describen los siguientes registros: “vocal fry”, voz torácica, voz media, voz cabeza, falsetto y silbido, aunque no existe consenso absoluto sobre la existencia de estas categorías. El término registro modal se utiliza más frecuentemente en el ámbito del habla, y se refiere a la calidad de la voz generalmente empleada por hablantes sanos, en contraposición a la voz grave de un “vocal fry”, o la aguda de un falsetto. La vibración es una variación rítmica en la frecuencia e intensidad. Su origen exacto se desconoce, y sus características deseables dependen del rango de voz. Se cree que en la modulación de la frecuencia tiene una importante influencia la musculatura laríngea intrínseca, especialmente los músculos cricotiroideos y los aductores. Los músculos laríngeos extrínsecos y los supraglóticos también parecen influir, pero en menor medida.

Las variaciones de intensidad son causadas por variaciones en la presión subglótica, modificaciones glóticas que afectan la presión subglótica, efectos colaterales de la variación de frecuencia por cambios en la distancia entre la frecuencia fundamental y la formante más próxima, o cambios rítmicos en la forma del tracto vocal que ocasionan fluctuaciones en las frecuencias formantes (un formante es el pico de intensidad en el espectro de un sonido; se trata de la concentración de energía (amplitud de onda) que se da en una determinada frecuencia). Cuando se evalúa el vibrato, resulta de ayuda considerar la ondulación de la señal vibratoria, su regularidad, extensión y frecuencia. La onda posee habitualmente una forma sinusoidal, aunque pueden existir variaciones considerables. La regularidad o similitud de cada evento vibrato a un evento vibrato anterior o posterior es mayor en cantantes entrenados que en usuarios de voces no entrenadas. Esta regularidad parece ser una de las características que es percibida como propia de una voz entrenada. La extensión vibratoria se refiere a la desviación desde la

frecuencia estándar (no a variación de intensidad) y es normalmente menor a 0,1 semitonos en algunos estilos de canto solo y coral. La tasa de vibración (el número de modulaciones por segundo) es generalmente de entre 5 y 7. La tasa puede variar enormemente entre cantantes, y en el propio cantante.

5.1.2 Etiología

Resulta clave en la evaluación de la disfonía el conocimiento de que cualquier factor que interfiera con el cierre de las cuerdas vocales, su simetría o su capacidad vibratoria, interferirá con la capacidad de las cuerdas vocales para generar un sonido claro. La mayoría de problemas relacionados con la voz son ocasionados por alteraciones anatómicas o funcionales en el cierre glótico o en la formación de la onda mucosa, aunque otras regiones del sistema respiratorio también pueden verse afectadas e influir en la voz. Los aspectos más relevantes en la evaluación de la disfonía son expuestos en este apartado (3).

A la hora de definir las etiologías posibles de las alteraciones de la voz, es importante destacar que, en ocasiones, la alteración es producida por más de una condición concomitante, y que no todo paciente encaja claramente en una categoría exclusivamente. No obstante, conocer los mecanismos a través de los cuales cada una de estas patologías produce la disfonía y los hallazgos clínicos a los que pueden asociarse, resulta de gran utilidad para lograr un diagnóstico y manejo terapéutico adecuados (3).

Laringitis aguda

La laringitis aguda es la causa más común de disfonía y ronquera. Su causa más frecuente es el origen vírico, y la aparición de la clínica laríngea suele estar asociada a otros síntomas de infección de vía respiratoria superior, incluyendo fiebre, mialgia, dolor de garganta y rinorrea. Con menor frecuencia, esta patología puede ser ocasionada por infecciones bacterianas o fúngicas. La inflamación de las cuerdas vocales interfiere con la vibración normal de las cuerdas vocales, reduciendo la vibración y tornándola más dificultosa, produciendo una voz caracterizada por un aumento del esfuerzo fonatorio y una voz áspera y fatigada, con disminución de la proyección. En el estudio laringoscópico, es frecuente encontrar edema y eritema de las cuerdas vocales, con un descenso de la amplitud de la onda mucosa.

Laringitis crónica

La laringitis crónica es una situación inespecífica de inflamación laríngea prolongada. El término por sí mismo no indica la etiología de la inflamación. Entre las múltiples causas desencadenantes de esta inflamación, se encuentra la irritación traumática ocasionada por tos o por habla prolongada, irritación química por irritantes ambientales (tabaco, medicaciones inhaladas, gases ambientales...), irritación por goteo retranasal o reflujo laringofaríngeo. Puede existir más de una causa concomitantemente. Los casos relacionados con consumo de tabaco, uso excesivo de la voz, efecto secundario de medicación o rinitis pueden ser identificados mediante una anamnesis exhaustiva. El reflujo laringofaríngeo es una causa muy frecuente de laringitis crónica, y puede manifestarse a través de muchos síntomas inespecíficos como irritación de garganta, alta frecuencia de aclaramiento de garganta, tos no productiva o globus faríngeo, pudiendo no aparecer asociados a pirosis. Debido a que la inflamación de las cuerdas vocales aumenta con el trauma continuo, la ronquera relacionada con la laringitis crónica típicamente empeora con el uso prolongado de la voz, y mejora con su reposo.

Los hallazgos laringoscópicos incluyen edema y eritema generalizado laríngeo, y en algunos casos puede aparecer hiperplasia interaritenoides, edema subglótico, obliteración de ventrículos laríngeos, y aumento de densidad de secreciones glóticas. Las laringitis crónicas “blancas”, con leucoplasia y/o queratosis, son formas clínicas de laringitis crónicas que se consideran premalignas.

Parálisis de cuerdas vocales

El nervio laríngeo recurrente puede ser dañado a lo largo de su recorrido, que varía según se trate del lado derecho o del izquierdo. El nervio recurrente derecho es menos susceptible a la lesión porque su trayecto es más breve. Este nervio sale del nervio vago a nivel de la base del cuello y bordea la arteria subclavia para ascender por el lado derecho entre la tráquea y el esófago. Sin embargo, el nervio recurrente izquierdo sale del nervio vago en el tórax, a la altura del cayado de la aorta, al que bordea, y sube hasta la laringe por el lado izquierdo del ángulo traqueoesofágico. Por último, en ambos lados, el último trayecto se realiza por la cara posteroinferior del lóbulo tiroideo para introducirse en la laringe e inervar los músculos laríngeos. Esta zona es especialmente susceptible a lesionarse en las intervenciones tiroideas si no se identifica su trayecto. El nervio dañado

produce parálisis de todos los músculos intrínsecos de la mitad ipsilateral de la laringe, excepto del músculo cricotiroido (que es innervado por el nervio laríngeo superior) (14).

La disfonía en los casos de parálisis de cuerdas vocales es ocasionada por el déficit de cierre glótico. El resultado es una voz susurrante con proyección limitada y un esfuerzo vocal elevado. Cuanto más alejada se encuentre la cuerda vocal paralizada de la línea media, mayor cantidad de aire fugará a través de la válvula glótica incompetente sin ser convertida en sonido. Los pacientes que presentan una cuerda vocal inmóvil en una posición muy lateral poseen una voz extremadamente débil y susurrante, mientras los pacientes que presentan una cuerda vocal paralizada próxima a la línea media suelen presentar una voz menos alterada, un leve aumento en el esfuerzo fonatorio, fatiga vocal, o problemas con la proyección de sonidos fuertes. Debido a esta insuficiencia glótica, los pacientes también suelen presentar sensación de “quedarse sin aire” con el habla prolongada. El déficit de cierre glótico puede también ocasionar una disminución de la protección de la vía aérea durante la ingesta, por lo que no es infrecuente que estos pacientes presenten episodios de broncoaspiración y las dolencias que a este proceso se pueden asociar (15).



Figura 18. Imagen de videoestroboscopia observándose parálisis de cuerda vocal derecha

En cuanto a las causas de la parálisis de la cuerda vocal, la lesión quirúrgica del nervio laríngeo recurrente es responsable de alrededor de la mitad de los casos de parálisis unilateral. Las neoplasias torácicas y cervicales, y las causas idiopáticas, suelen estar asociadas al resto de casos. Otras posibles etiologías, menos habituales, incluyen lesiones neurológicas a nivel del sistema nervioso central o enfermedades sistémicas con potencial afectación neuropática (enfermedad de Lyme), secuelas de intubación (por estiramiento del nervio), hipertrofia de auricular izquierda y aneurisma aórtico (pueden estirar o comprimir la salida del laríngeo recurrente izquierdo) (15).

Las parálisis del nervio laríngeo recurrente deben ser diferenciadas de los procesos que producen inmovilidad de la cuerda sin afectar al nervio.

Los tumores malignos de la laringe tanto por su frecuencia como por su severidad son los procesos que primero deben descartarse. Aquellos que asientan en el ventrículo, a nivel de subglotis o en seno piriforme, provocan disminución total o parcial del movimiento cordal por efecto mecánico o por infiltración de la musculatura. La anquilosis aritenoidea es otra entidad que puede producir un movimiento limitado de las cuerdas. Es frecuente en casos con antecedentes de traumatismos laríngeos y en pacientes con cáncer de laringe tratados mediante radioterapia, así como en enfermedades reumatológicas sistémicas. La subluxación del aritenoides, es relativamente frecuente tras una intubación traumática y debe diferenciarse de la verdadera parálisis que, aunque también puede ser una secuela de la intubación se origina debido al estiramiento y compresión del nervio. Por último, las cicatrices laríngeas y las membranas subglóticas que retienen el movimiento de las cuerdas vocales, son procesos que aunque infrecuentes también deben ser tenidos en cuenta

Lesiones fonotraumáticas: Nódulos, pólipos y quistes

Durante su vibración, las cuerdas vocales sufren el estrés ocasionado por las fuerzas de cizallamiento en su superficie. Aunque la estructura de la cuerda vocal está diseñada para soportar y atenuar el daño de este tipo de estrés, pacientes con uso excesivo de la voz se encuentran en riesgo de desarrollar lesiones como resultado del daño acumulativo del fonotrauma. Dependiendo de la localización y naturaleza de estas lesiones, éstas se denominan nódulos, pólipos o quistes.

Los nódulos son áreas de cicatrización fibrovascular que se encuentran inmediatamente por debajo del epitelio, a nivel de la membrana basal y la lámina propia superficial. Son lesiones típicamente bilaterales y simétricas, y se localizan en la unión del tercio anterior y los dos tercios posteriores de la cuerda vocal.

Los pólipos son habitualmente lesiones unilaterales de naturaleza edematosa o fibrosa, y que pueden ser hemorrágicos. Suele tratarse de lesiones exofíticas que se extienden por fuera del epitelio de la cuerda vocal, aunque la base fibrosa del pólipo puede extenderse hasta la capa superficial de la lámina propia.

En contraste con las lesiones de tipo epitelial como los pólipos, los quistes de cuerdas vocales son lesiones subepiteliales encapsuladas, que se encuentra completamente inmersa en la cuerda vocal. Su tamaño puede producir un efecto masa que deforma el borde medial de la cuerda vocal afectada. Estos quistes son ocasionalmente detectados como lesiones congénitas presentes en niños, pero en adultos son habitualmente causados por la oclusión traumática de los ductos de las glándulas seromucosas de la laringe.

Los nódulos, pólipos y quistes producen disfonía por la interrupción que ocasionan de la adecuada vibración de la cuerda, produciéndose una voz de calidad inadecuada. Estas lesiones aumentan de tamaño a medida que el trauma vocal se acumula, aumentando de forma paralela la aspereza de la voz. Debido a que la interferencia en la vibración es más fácil a altas frecuencias, es habitual que los tonos agudos se vean afectados en primer lugar. El esfuerzo fonatorio también tiende a aumentar, aunque la proyección permanece intacta. Las lesiones que presentan un tamaño tal que limite la aproximación de las cuerdas vocales puede también ocasionar una voz susurrante.

Lesiones congénitas (sulcus vocalis y sulcus vergeture)

El término *sulcus vocalis*, se emplea para describir unos surcos cicatriciales que pueden aparecer en las cuerdas vocales, y que siguen un curso paralelo su borde, creando una zona con una disminución de la pliability de la onda mucosa (16). El epitelio de la cuerda vocal se encuentra presente de forma patológica en la capa superficial de la lámina propia, o más profundo. Se trata de una anomalía benigna de las cuerdas vocales, de una longitud y profundidad diversos, que resulta en una configuración anormal de la estructura de la lámina propia. La lamina propia queda reducida, o completamente perdida, con la consecuente pérdida de función de la cuerda vocal (17).



Figura 19. Imagen de videoestroboscopia laríngea en la que se observa un sulcus vocalis en la cuerda vocal izquierda (18).

La clasificación más frecuentemente empleada, clasifica estas lesiones en función de su severidad en 3 grupos (19):

- Sulcus tipo I: Se trata de una depresión del epitelio sólo hasta la lámina propia superficial. En general, tiene un impacto funcional limitado o nulo, y no se considera patológico. Por tanto, es conocido comúnmente como “sulcus fisiológico”.
- Sulcus tipo II, o *sulcus vergeture*: Se caracteriza por una pérdida de la lámina propia superficial, con extensión de la depresión hasta el ligamento vocal
- Sulcus tipo III: Se trata de una indentación que se alcanza en profundidad el ligamento vocal o capas más profundas

Existe cierta discrepancia en la literatura científica respecto a la nomenclatura de estas lesiones. Algunos estudios emplean el término *sulcus vocalis* para referirse únicamente a los sulcus de tipo III. En esos estudios, las otras tipologías de sulcus suelen quedar encuadradas en grupos que aúnan las “cuerdas vocales cicatriciales”. Esto ha llevado a confusión, haciendo complicado determinar la prevalencia de esta patología (20).

Tampoco existe un claro consenso sobre la etiología del sulcus, existiendo corrientes que defienden que se trata de una lesión adquirida a consecuencia del fonotrauma repetitivo de las cuerdas vocales (16), y quienes defienden que se trata de una patología congénita (21). No obstante, debido a que las dos tendencias de pensamiento han aportado argumentos convincentes en favor de ambas etiologías, lo más probable es que se trate de una patología que pueda aparecer tanto de manera congénita como adquirida (22).

Edema de Reinke

El edema de Reinke, también conocido como corditis polipoide, es un edema benigno que afecta a las cuerdas vocales, frecuentemente detectado en pacientes con historia de hábito tabáquico de larga evolución. Este edema aparece como reacción a una irritación constante y presente a largo plazo, y se acumula en la porción superficial de la lámina propia, en el espacio de Reinke. Es frecuentemente bilateral, y ocurre de forma difusa a lo largo de toda la longitud de la cuerda vocal, a diferencia de las lesiones descritas en el apartado anterior. A medida que aumenta el tamaño de las cuerdas vocales con la progresión de la enfermedad, el tono de la voz disminuye y se torna más grave, siendo el

cambio de la voz más frecuentemente asociado con esta patología. En raras ocasiones, las cuerdas vocales se engrosan tanto que llegan a comprometer el flujo a través de la vía aérea, por lo que pueden existir también molestias o dificultades respiratorias.

Papilomatosis respiratoria recurrente

La papilomatosis respiratoria recurrente es una neoplasia laríngea benigna que es causada por el virus del papiloma humano. En el adulto se considera una lesión premaligna, aunque será el serotipo vírico causal el que determina la mayor o menor probabilidad de transformación maligna. Es la causa más frecuente de ronquera en niños, aunque los adultos también pueden verse afectados. A medida que las lesiones crecen desde el epitelio laríngeo, ocasionan ronquera y a veces, un aumento del esfuerzo fonatorio al interferir con la vibración de las cuerdas vocales, especialmente si las lesiones se encuentran en el borde medial de la cuerda. Las lesiones de gran tamaño pueden ocasionar obstrucción de la vía aérea, y en casos de enfermedad avanzada, pueden extenderse a través de la mucosa de la vía aérea y digestiva superior. Aunque el diagnóstico exacto se obtiene a través del estudio histológico, el diagnóstico puede sospecharse a través de la apariencia característica de las lesiones, con su vascularización en hoja de helecho, que puede ser observada bajo visualización directa aumentada (5).

Cáncer de cuerdas vocales

La incidencia anual del cáncer de laringe es de 6,4 casos por 100.000 habitantes en varones, y de 1,3 casos por 100.000 en mujeres. El tabaco es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de este tipo de tumor, y el consumo excesivo de alcohol posee un efecto sinérgico también como factor de riesgo, sobre todo en los tumores supraglóticos de los márgenes laríngeos. Las tasas de supervivencia del cáncer de laringe dependen del estadio del tumor en el momento del diagnóstico, que varía en función del tamaño del tumor y de su diseminación linfática, o la presencia de metástasis. Los tumores que aparecen en el borde medial de las cuerdas vocales ocasionan disfonía aun cuando son de pequeño tamaño, lo que en muchos casos facilita su diagnóstico precoz y mejora su pronóstico (2).

La disfonía asociada al cáncer de laringe es constante y progresiva, y no mejora con el reposo, a diferencia de las lesiones de etiología inflamatoria. La presencia de disfagia, odinofagia, otalgia, hemoptisis, o pérdida inexplicada de peso, aumenta el índice de sospecha de malignidad de las lesiones. Las adenopatías cervicales se encuentran asociadas con la presencia de tumores supraglóticos y subglóticos, siendo en los carcinomas glóticos las metástasis más tardías si no se afecta la comisura anterior. El diagnóstico de sospecha se obtiene mediante la exploración laríngea, y es confirmado con el estudio anatomopatológico.

La leucoplasia, que se observa como placas blancas sobreelevadas sobre la superficie epitelial, es un tipo de lesión que puede indicar la presencia de células displásicas o de un carcinoma in situ. Se trata de una lesión muy precoz, y cuando afecta a una cuerda vocal, puede manifestarse con un leve grado de disfonía. Estas lesiones precoces, pueden tardar varios años en evolucionar a un carcinoma invasivo, y su detección ofrece una oportunidad para el tratamiento precoz y la prevención de su progresión tumoral.

Lesiones neurológicas (excluyendo las parálisis laríngeas)

Las lesiones neurológicas que afectan la voz producen su afecto habitualmente al ocasionar descoordinación en la movilidad de las cuerdas vocales.

En el caso de la disfonía espasmódica, se producen espasmos involuntarios que aproximan estrechamente las cuerdas vocales (disfonía espasmódica aductora) o las separan (disfonía espasmódica abductora) durante la fonación. Estos espasmos producen interrupciones en el habla, haciendo sonar la voz como susurrante o fatigada. Aunque se cree que la causa de la disfonía espasmódica reside en el sistema nervioso central, el tratamiento de elección de esta patología es la inyección seriada de toxina botulínica (6).

El temblor de cuerdas vocales es un trastorno neurológico distinto de la disfonía espasmódica. Su manifestación habitual es una voz temblorosa ocasionada por el temblor de la laringe, que puede suceder tanto durante la fonación como en reposo. El temblor laríngeo puede existir tanto aislado, como formando parte de un síndrome de temblor sistémico.

Además, la afectación neuronal en distintas áreas corporales en el contexto de enfermedades sistémicas puede dar lugar a otras alteraciones del habla. La lesión neuronal

a nivel del área motora de la corteza cerebral puede aparecer en el contexto de accidentes cerebrovasculares, parálisis cerebral, esclerosis múltiple... Además de las dificultades en la ejecución del lenguaje, deglución y otros déficits motores, a nivel laríngeo existe debilidad e hiperactividad muscular. La voz suele ser de tipo nasal, monótona y de baja intensidad, lo que dificulta su comprensión (2).

La existencia de lesiones a nivel del sistema nervioso extrapiramidal afecta a la coordinación motriz durante la fonación. Entre las que pueden afectar esta vía, se encuentran:

- Enfermedad de Parkinson: la voz se caracteriza por una disminución de la sonoridad, con habla monótona, sin cambios en la intensidad, y voz apagada, que tiende a desvanecerse al final de la fonación.
- Síndrome de Shy-Drager: en estos casos, suele existir una debilidad de los músculos respiratorios, obstrucción parcial de vía aérea por parálisis en aducción de las cuerdas vocales, y disfgia por debilidad de los músculos del paladar.
- Esclerosis lateral amiotrófica: estos pacientes presentan ronquera y voz áspera, junto con hipernasalidad y habla lenta. Esto se debe a la debilidad muscular generalizada y las fasciculaciones musculares difusas propias de esta enfermedad, características que también se encuentran presentes en la musculatura relacionada con la fonación.

Las lesiones cerebelosas cursan con pérdida de la coordinación de las acciones musculares e hipotonía, por lo que afectan especialmente al control del tono y la intensidad de la fonación. Los pacientes con lesiones a este nivel suelen presentar una voz áspera y monótono, con un tono muy bajo y sobreesfuerzo al hablar.

Alteraciones funcionales de la voz

La disfonía funcional puede aparecer por si sola o en combinación con causas anatómicas o neurológicas de disfonía. La forma más frecuente de esta alteración es la disfonía por tensión muscular, que se caracteriza por un funcionamiento excesivo e inadecuado de los músculos supraglóticos. Esta hiperfunción ocurre frecuentemente en respuesta a otras causas de alteración de la voz, a medida que el paciente intenta de forma activa forzar la emisión de una voz fatigada y aumentar su proyección, en lugar de aceptar la calidad

limitada de la voz que acompaña la otra alteración presente. La hiperfunción puede establecerse con el tiempo como nuevo hábito, independientemente de que persista o no la alteración concomitante. Un ejemplo habitual de la forma de aparición y establecimiento de esta patología, sería el de un paciente que, en el contexto de una laringitis aguda, fuerza la voz para poder hablar con una proyección y volumen más normales; en el que persiste la disfonía tras la resolución de la laringitis. Los pacientes que presentan esta patología, pueden también aquejar de fonación dolorosa, debido a que la tensión presente en los músculos supraglóticos ocasiona dolor con el habla prolongada (4).

Presbilaringe

Presbilaringe es el término utilizado para denominar el envejecimiento de la voz. Se manifiesta típicamente en la década de los 70-80 años, aunque puede aparecer antes. A nivel acústico, se caracteriza por una voz débil, con disminución de la proyección y mayor facilidad para la fatiga fonatoria. Esta condición tiene lugar por el uso acumulativo de la voz, que ocasiona un adelgazamiento traumático de la lámina propia superficial, especialmente a nivel de la parte media de las cuerdas vocales. Esta pérdida de densidad de la lámina propia ocasiona una deficiencia a nivel del borde medial de las cuerdas, que puede ocasionar un leve defecto fusiforme durante el cierre glótico (4).

Secuelas de cirugía laríngea y/o radioterapia

Las lesiones, fundamentalmente neoplásicas, de la laringe, con mención especial en el contexto de esta tesis a las de las cuerdas vocales, exigen la realización de cordectomías o radioterapia sobre la laringe. Esto genera unas lesiones cicatriciales en el plano glótico que son causa de severa disfonía, por un déficit de cierre glótico.

5.1.3 Diagnóstico

Una anamnesis detallada puede proporcionar muchas claves para orientar el diagnóstico en el paciente con disfonía. Aunque la queja inicial habitual de los pacientes es la “ronquera” como término general, se deben evaluar factores que el paciente no manifiesta

y de los cuales puede no ser consciente, como la calidad de la voz, su proyección, la existencia de esfuerzo fonatorio, voz débil, habla fatigada... Hay dos preguntas que pueden ayudar al paciente a organizar sus preocupaciones relacionadas con el “empeoramiento” de su voz, y focalizar sus problemas: “¿Qué cosas anormales hay en tu voz ahora que no estuvieran presentes anteriormente?” y “¿Qué cosas normales tenía tu voz que ahora no puedes hacer?”. El tiempo de instauración, la duración, severidad, progresión de la afectación de cualquiera de los síntomas presentados por el paciente deben ser definidos (2).

La historia clínica también debe determinar la existencia de factores o eventos que puedan haber causado o exacerbado la disfonía. Entre las causas agudas de inflamación laríngea, se pueden incluir intubación reciente, uso excesivo de la voz, o infecciones de vías respiratorias altas. Situaciones basales que condicionan la existencia de inflamación laríngea crónica incluyen las alergias ambientales, la rinitis crónica, y el reflujo laringofaríngeo. El reflujo laringofaríngeo puede existir en ausencia de pirosis, existiendo una inflamación de la laringe y faringe asociada al reflujo, produciendo síntomas de globus faríngeo, aclaramiento de garganta frecuente, tos no productiva u odinofagia, en asociación con la presencia de disfonía (2).

En cuanto a la posibilidad de existencia de lesiones malignas, cualquier paciente que presente disfonía debe ser interrogado sobre el consumo de tabaco y alcohol debido a la fuerte asociación del cáncer de laringe con estos factores de riesgo. Otro aspecto importante para distinguir la disfonía de etiología inflamatoria de lesiones malignas, es la existencia de periodos de normalidad o mejoría de la voz. La disfonía asociada a lesiones tumorales malignas es habitualmente progresiva y no mejora con el reposo. La anamnesis debe incidir además en otros síntomas relacionados con la patología de cabeza y cuello, como la disnea, estridor, disfagia, odinofagia, otalgia, dolor de garganta u odinofonía. Si la disfonía se encuentra asociada a alguno de estos síntomas durante más de dos semanas, la sospecha de malignidad debe acentuarse (2).

Por último, se debe aplicar la sistemática habitual de una anamnesis general, debido a que síntomas que afectan a otros sistemas corporales, o presentes en regiones anatómicas distantes, pueden estar asociadas a patologías sistémicas o neurológicas que también pueden producir alteraciones en la voz.

Exploración física

La exploración física en pacientes con disfonía debe incluir una evaluación completa de cabeza y cuello, con especial atención a la laringe y su función. Aunque una parte de la exploración puede ser realizada en una consulta otorrinolaringológica general, algunas partes del estudio laríngeo requieren equipamiento específico presente únicamente en consultas de otorrinolaringología especializadas en la patología de la voz. La evaluación rutinaria debe incluir una exploración sistemática del oído, nariz, cavidad oral, laringe, orofaringe y cuello (4).

La presencia de otalgia en el contexto de una exploración otológica normal, sugiere la posibilidad de existencia de un dolor referido, que puede estar relacionado con una lesión presente en laringe o faringe, y orienta hacia la posibilidad de patología maligna. Una mucosa nasal edematosa y eritematosa sugiere rinitis, patología asociada a goteo retranasal, que puede contribuir a la inflamación laríngea. La existencia de temblor de la lengua o del paladar puede sugerir alteraciones neurológicas, mientras que una faringe eritematosa y exudativa sugiere la posibilidad de existencia de infección aguda. La observación de paquidermia en la pared faríngea posterior sugiere la posibilidad de presencia de reflujo laringofaríngeo. El dolor a la manipulación del hueso hioides sugiere un aumento de tensión en los músculos insertados en él, lo que se asocia habitualmente con la odinofonía y al diagnóstico de disfonía por tensión muscular. Una masa cervical puede representar una linfadenopatía metastásica de un tumor laríngeo, o una lesión primaria que comprime el nervio laríngeo recurrente, ocasionando disfonía parálitica. La presencia de cicatrices cervicales sugiere la posibilidad de que una cirugía previa (de tiroides, endarterectomía carotídea, un abordaje anterior para tratamiento a nivel de la columna vertebral) puede haber ocasionado una parálisis de cuerda vocal por sección del nervio laríngeo recurrente (4).

Exploración de laringe

Además de la exploración general de cabeza y cuello, debe realizarse una evaluación directa de la laringe y su función. El examinador debe escuchar cuidadosamente la voz, debido a que algunas características de la voz, como la aspereza, el esfuerzo fonatorio, las interrupciones en el habla, la diplofonía o la voz susurrada, pueden ayudar a orientar el diagnóstico diferencial de la disfonía. La examinación visual de la laringe puede

realizarse de varias formas, desde la observación con espejo, hasta la laringoscopia con fibroscopio flexible, o la videoestrobolaringoscopia (4).

La examinación con espejo proporciona una visión adecuada de las cuerdas vocales en muchos casos, pero puede verse limitada por la escasa tolerancia del paciente, la inexperiencia del médico, la falta de luz en la laringe y la incapacidad de la técnica para grabar la imagen para revisiones posteriores (5).

La endolaringoscopia flexible está disponible en cualquier consulta de otorrinolaringología, es bien tolerada por los pacientes, y proporciona una buena visión directa de la laringe, además de poder grabar las imágenes si se dispone del equipamiento adecuado.

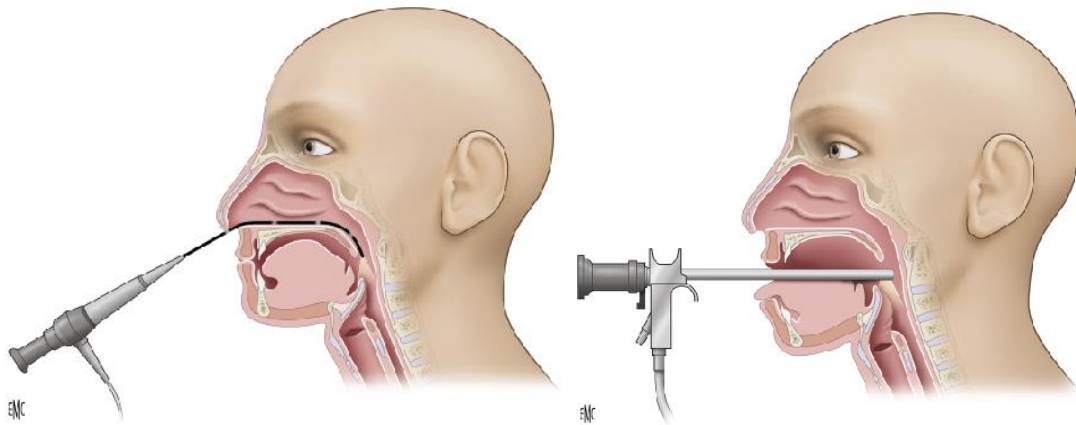


Figura 20. Exploración laríngea con fibroscopio (izq.) y endoscopio rígido (estroboscopia) (dcha.) (4)

El examen con espejo o con endoscopio permite observar la movilidad de las cuerdas y su anatomía, pero no permite observar la función laríngea ya que ninguna de estas técnicas permite visualizar la vibración de las cuerdas vocales. Para evaluar la vibración de las cuerdas vocales, el videoestroboscopio utiliza una luz que crea la impresión de realizar un análisis a cámara lenta de las ondas mucosas. La estroboscopia se encuentra disponible habitualmente en consultas de otorrinolaringología especializadas en el tratamiento de las alteraciones de la voz.

Otras pruebas complementarias

El estudio videoestroboscópico, unido a una anamnesis exhaustiva y a una exploración física adecuada, permiten establecer el diagnóstico en la mayoría de pacientes que

padecen problemas de la voz, aunque en algunos casos, la realización de otras pruebas complementarias estaría justificado. Por ejemplo, la electromiografía es utilizada por algunos laringólogos para estudiar con mayor profundidad la parálisis o paresia de las cuerdas vocales. La tomografía computarizada (TC) es empleada frecuentemente para el estudio de pacientes en los que se sospecha la presencia de neoplasias laríngeas, y en pacientes que presentan parálisis de cuerdas vocales, cuando es necesario incluir al tórax en el examen.

En el caso de las neoplasias, las pruebas de imagen resultan de utilidad para conocer la extensión de la lesión primaria y evaluar la posible existencia de adenopatías cervicales. En pacientes con neoplasia laríngea confirmada, la radiografía de tórax es también importante para la detección de metástasis pulmonares. Para el estudio de pacientes que presentan parálisis de cuerdas vocales, sin tener antecedentes de lesión del nervio laríngeo recurrente por intervención quirúrgica previa, un TC englobando la base del cráneo y tórax, permite identificar posibles lesiones a lo largo del recorrido del nervio laríngeo recurrente. Los problemas a nivel del sistema nervioso central son menos frecuentes, pero si se sospechan como causa de la parálisis de las cuerdas vocales, su estudio mediante resonancia magnética cerebral estaría también indicado.

Exploración estroboscópica y análisis de la voz

Para lograr una medición objetiva de la función fonatoria laríngea y de los parámetros derivados de la voz, se utilizan la laringoestroboscopia y grabaciones de sonido realizadas con micrófonos (estándar o especiales), asociados a programas de análisis de voz. Los parámetros que son frecuentemente empleados para la evaluación de la función fonatoria mediante laringoestroboscopia y análisis de voz son los siguientes:

- Frecuencia fundamental (Fo): Consiste en el número de veces que las cuerdas vocales se abren y cierran por segundo (medido en Hz). Los valores normales se encuentran en torno a 210 Hz en mujeres, y 140 Hz en hombres. Existen unos rangos de valores considerados normales, en función del sexo y edad de los individuos (23).
- Jitter: Consiste en la frecuencia de variación de la frecuencia fundamental (Fo) entre cada ciclo vocal y el siguiente. Con este parámetro, se mide la estabilidad de la fonación. Se expresa en porcentaje, y generalmente se considera un valor

normal una variación de entre el 0.5-1.0% con la fonación sostenida en adultos jóvenes (23).

- Shimmer: Consiste en la variación de la amplitud de la señal vocal. El shimmer cambia con la reducción de la resistencia glótica, y la aparición de masas en las cuerdas vocales; y se correlaciona con la presencia de voz aérea. Se expresa en porcentaje, y se considera un valor patológico cuando es $< 3\%$. En adultos y de 0,4 -1% en niños (23).

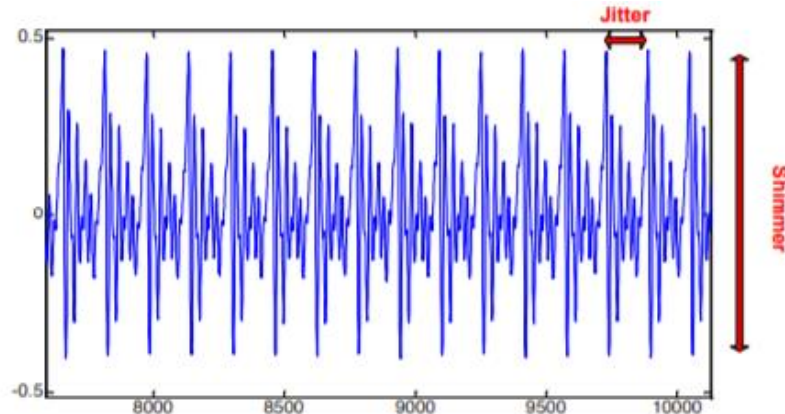


Figura 21: Representación de las medidas de perturbación Jitter y Shimmer en una señal acústica de voz (23)

- Tiempo máximo de fonación (TMF): Técnicamente es la capacidad de mantener la fonación durante cierto periodo de tiempo después de una inspiración. Es una prueba de eficiencia glótica y se relaciona con el control de las fuerzas aerodinámicas de corriente pulmonar y las fuerzas mioelásticas de la laringe.
- Razón armónico-ruido (RAR): La RAR es una evaluación de la ratio entre los componentes periódicos y no periódicos que aparecen en un segmento de habla. Los primeros componentes surgen de la vibración de las cuerdas vocales, y los segundos del sonido glótico, expresado en dB. La evaluación entre ambos componentes refleja la eficiencia del habla. A modo de ejemplo, cuanto más flujo de aire se expulse de los pulmones, se producirá una vibración más enérgica de las cuerdas vocales, siendo el RAR en este caso mayor. El sonido de una voz armónica y sonora por tanto se caracteriza por un RAR alto. Un RAR bajo denota una voz asténica y disfonía. El límite inferior para considerar un RAR patológico, es por debajo de 7dB.
- Relación s/z: Relación entre la capacidad de mantener el sonido /s/ y /z/ después de una inspiración. Un individuo con dinámica fonatoria normal es capaz de

utilizar el aire en forma eficiente. S: mide el soporte aéreo pulmonar y Z: mide la fuente friccional más la fuente glótica (cuerdas vocales). Se espera tiempos iguales para ambos sonidos en voces normales. En relación a la interpretación de los resultados, se puede decir que:

- Si ambos valores de sustentación son bajos, está comprometido el soporte respiratorio.
- Si el valor del sonido /z/ está disminuido y el de /s/ es normal, existirá disminución de la aducción de las cuerdas vocales. Valores de s/z superiores o iguales a 1.2 indican falta de aducción de las cuerdas vocales.
- Si el valor de /z/ es superior que /s/, existe hipercontracción o hiperaducción de las cuerdas vocales.

La escala GRABS propuesta por Hirano en 1981 y desarrollada por la sociedad japonesa de Logopedia y Foniatría, es la escala más fiable, difundida y utilizada para la valoración perceptual de la calidad vocal (24). Abarca cinco parámetros y cuatro categorías cada uno de ellos de acuerdo a la severidad de la alteración. Los parámetros se refieren a G (grade) el cual evalúa el grado global de alteración vocal, disfonía o ronquera; R (roughness), contempla la importancia de la ronquera y el aspecto de la aspereza; A (asthenic), representa el grado de la voz asténica, fatigada, cansada; B (breathy), corresponde a la voz de carácter aérea, velada y soplada y S (strain), se traduce como una voz tensa, espástica y constreñida. Cada componente se valora con una escala de 0 a 3 puntos (0 = normal; 1 = leve; 2 = moderado; 3 = severo). Esta escala permite analizar las variaciones inter e intrasujeto, posee alta calidad de diagnóstico y su uso es importante en el ámbito clínico dando la posibilidad de analizar voces que no pueden ser estudiadas mediante la medición de los parámetros acústicos como las voces con fuertes subarmónicos, modulaciones y voces aperiódicas

El índice de incapacidad vocal o Voice Handicap Index (VHI) es un cuestionario desarrollado por Jacobson y cols. con el fin de cuantificar el impacto percibido por un sujeto afectado por un trastorno vocal en los ámbitos de la propia función vocal, en la capacidad física relacionada con ella y en las emociones que provoca la disfonía (25). Valorando el VHI y los demás instrumentos desarrollados para estudiar la calidad de vida de los pacientes disfónicos, tales como el Voice-Related Quality of Life, el Vocal Performance Questionnaire, el Voice Participation Profile y la Voice Symptom Scale, se ha concluido que el VHI es el cuestionario más versátil y rápido de completar por el

paciente y el que contiene la información más relevante acerca de la calidad de vida relacionada con la voz (26).

El VHI contiene 30 ítems organizados en tres grupos de 10, denominados subescala física, subescala funcional y subescala emocional. Se ha demostrado posteriormente que dichas subescalas no son mediciones separadas del menoscabo vocal y que carecen de validez como tales. Ese análisis del VHI también sirvió para desarrollar una versión corta, al demostrarse que con 10 ítems seleccionados de los 30 originales se tenía la misma potencia (27). Este cuestionario fue adaptado al español y validado en 2007 (28)

1. La gente me oye con dificultad debido a mi voz	0	1	2	3	4
2. La gente no me entiende en sitios ruidosos					
3. Mis problemas con la voz alteran mi vida personal y social					
4. Me siento desplazado de las conversaciones por mi voz					
5. Mi problema con la voz afecta al rendimiento laboral					
6. Siento que necesito tensar la garganta para producir la voz					
7. La calidad de mi voz es impredecible					
8. Mi voz me molesta					
9. Mi voz me hace sentir cierta minusvalía					
10. La gente me pregunta: ¿qué te pasa con la voz?					

Tabla 1. Índice de incapacidad vocal abreviado adaptado al español (VIH-10). 0 - Nunca. 1 - Casi nunca. 2 - A veces. 3 - Casi siempre. 4 - Siempre (28)

5.1.4 Tratamiento en función de etiología

Laringitis crónica

El tratamiento de la laringitis crónica debe centrarse en la causa de la inflamación. La higiene vocal, con uso moderado de la voz, e instrucciones para reducir el aclaramiento de garganta y la tos, pueden disminuir la irritación mecánica. El cese del hábito tabáquico es recomendado para todo paciente fumador con molestias laríngeas. Muchos estudios han sugerido que una pauta apropiada de fármacos inhibidores de la bomba de protones incluye la toma 2 veces al día durante al menos 2 meses, en contraste con la pauta habitual unidosis diaria administrada para el tratamiento de la pirosis. En cuanto a la corrección de hábitos higiénico dietéticos, se recomienda limitar el consumo de cafeína, bebidas

carbonatadas, alcohol, y comidas ácidas, como medios para disminuir el reflujo, y prestar atención a la hidratación y humidificación del aire para disminuir la viscosidad de las secreciones glóticas. Los pacientes que presenten dificultades vocales asociadas a la laringitis crónica, pueden ser derivados a un foniatra; ya que la terapia vocal puede colaborar en la mejora sintomática. Si existen lesiones premalignas en las cuerdas vocales o sospecha de malignidad es necesario realizar una microcirugía laríngea y biopsia (3).

Parálisis de cuerdas vocales

El tratamiento de la parálisis de cuerdas vocales puede realizarse mediante una combinación de terapia vocal, y técnicas quirúrgicas como la laringoplastia de medialización mediante inyección, la laringoplastia de medialización transcervical, o la reinervación laríngea. Si no hay problemas de aspiración, siempre empezaremos con la terapia vocal durante varios meses y seguiremos según el resultado alcanzado. Dependiendo de la causa de la parálisis, algunos pacientes pueden experimentar una recuperación gradual a través de la reinervación progresiva que puede acontecer tras una lesión del nervio laríngeo recurrente, en la que los cabos distal y proximal persistan en continuidad. Este proceso puede tomar en torno a 4-8 meses. El tratamiento de estos pacientes, puede ser opcional o imprescindible, en función del grado de déficit presentado en la fonación y el grado de limitación para tragar. La terapia vocal puede ayudar a los pacientes a producir una voz más potente, a pesar de la parálisis, pero por sí misma, no contribuye a que la cuerda vocal paralizada recupere su movilidad. Sin embargo una terapia vocal adecuada puede conseguir que un alto porcentaje de pacientes alcancen la “compensación” de la cuerda vocal sana, capaz de avanzar más allá de la línea media hasta la cuerda paralizada, no precisando otros tratamientos.

Varias técnicas de medialización han sido desarrolladas para reposicionar una cuerda vocal inmóvil, contribuyendo a un cierre glótico completo y a mejorar la fonación y deglución. La medialización mediante inyección puede ser realizada en consulta o en quirófano (en nuestro medio siempre en quirófano), con materiales temporales o permanentes. Si se considera posible la recuperación parcial de la movilidad de la cuerda vocal o la compensación, aunque sea parcial, esta técnica es frecuentemente preferida. La medialización transcervical, es una técnica quirúrgica permanente pero reversible, que reposiciona la cuerda vocal próxima a la línea media. La reinervación laríngea puede

conseguir una recuperación de la posición medial de la cuerda vocal, con recuperación del tono de la musculatura de la cuerda vocal. Sin embargo, los resultados son pobres, aparecen de forma progresiva durante varios meses, y la recuperación no siempre tiene lugar, por lo que esta técnica es realizada con menos frecuencia que la medialización transcervical o mediante inyección (3).

Nódulos pólipos y quistes

El tratamiento de estas lesiones comienza siempre con terapia de voz diseñada para modificar la forma de utilización de la voz por parte del paciente, con el fin de disminuir el trauma ocasionado sobre las cuerdas vocales. La terapia vocal puede resolver muchos de los casos precoces, principalmente en el caso de los nódulos edematosos. Si la disfonía persiste pese al tratamiento conservador, se debe valorar la realización de procedimientos quirúrgicos. La cirugía realizada con el objetivo de preservar y recuperar la voz (fonocirugía) es realizada generalmente por otorrinolaringólogos especializados en el tratamiento de patología de la voz. El objetivo de estas cirugías, es eliminar la lesión que interfiere con la vibración normal, preservando la máxima cantidad de lámina propia superficial posible (3).

Edema de Reinke

Debido a que una historia relevante de consumo de tabaco supone también un riesgo para sufrir leucoplasia y lesiones malignas, es precisa una buena visualización de las cuerdas vocales en estos pacientes para evaluar la existencia de otras lesiones. Si la única lesión observada es realmente el edema benigno, el manejo dependerá del grado de molestias ocasionadas al paciente por la alteración de la calidad de la voz, o por el nivel de estenosis de la vía aérea ocasionado. El abandono del hábito tabáquico puede conseguir prevenir el empeoramiento del tono de voz. La fonocirugía, al eliminar el exceso de masa presente en la cuerda vocal, puede conseguir la normalización del tono de voz y ampliar la vía aérea. La fonocirugía puede ser realizada con instrumentos fríos convencionales, crioterapia, o con láseres pulsados. En cualquier caso, existe el riesgo de producir una cicatriz en la cuerda vocal que podría limitar la vibración de la cuerda vocal, aunque se consiga una mejora del contorno y volumen de la cuerda vocal.

Papilomatosis respiratoria recurrente

El tratamiento de la papilomatosis respiratoria recurrente es quirúrgico, y puede ser realizado con microdesbridador, láser de dióxido de carbono, instrumentos de crioterapia, o la tecnología emergente del láser pulsado de fosfato de titanil potásico (KTP). Como su nombre indica, se trata de una patología recurrente. Aunque la cirugía puede eliminar las lesiones papilomatosas de forma temporal, los tejidos siguen albergando el virus papilomatoso, y las lesiones generalmente vuelven a aparecer. Debido a que es previsible la necesidad de realizar repetidas cirugías ante las nuevas recidivas, el objetivo de cada procedimiento es el de remover la máxima cantidad de tejido lesionado, limitando a la vez la cantidad de cicatriz creada en las cuerdas vocales. Las cicatrices causadas por las cirugías repetidas son acumulativas, y a lo largo del tiempo, estos pacientes suelen desarrollar disfonía persistente causada tanto por las cirugías como por la patología per se. La capacidad de tratar las lesiones a nivel epitelial, limitando la agresión ocasionada al nivel de la lámina propia superficial, es una de las principales ventajas del láser pulsado fotoangiolítico. Para contribuir a limitar la recidiva de estas lesiones, se suele emplear tratamiento médico adyuvante como el interferón y el cidofovir en el tratamiento de la enfermedad avanzada (3). No olvidemos que las papilomatosis del adulto son lesiones premalignas, ya que se asocian a los serotipos víricos carcinogénicos en muchas ocasiones.

Neoplasias malignas de cuerdas vocales

Los tumores en estadios precoces, suelen tratarse con escisión quirúrgica o radioterapia, con tasas de curación similares. El empleo de laser pulsado angiолítico para el tratamiento de lesiones en estadios iniciales, permite una mejor conservación del tejido normal circundante. En el caso de tumores avanzados, se suele realizar un abordaje combinado empleando radioterapia, cirugía y quimioterapia (3).

Lesiones neurológicas: Laringitis espasmódica y temblor

Aunque se cree que la etiología de la laringitis espasmódica suelen ser lesiones del sistema nervioso central, el tratamiento de referencia consiste en la aplicación de toxina

botulínica. La inyección de toxina botulínica en los músculos laríngeos adecuados, puede debilitar la actividad de esos músculos y disminuir el espasmo

Respecto al temblor vocal, se trata de una alteración neurológica distinta a la disfonía espasmódica. Se caracteriza por la existencia de una voz débil, ocasionada por el temblor de la laringe, que puede ocurrir tanto durante la fonación como el reposo. Esta condición puede existir de forma aislada o como parte de un síndrome de temblor sistémico. La toxina botulínica puede reducir la amplitud del temblor, pero puede también exacerbar la pérdida de proyección de voz. La medicación sistémica, como el uso de ansiolíticos o beta-bloqueantes pueden mejorar la calidad de la voz en pacientes que presenten temblor de cuerdas vocales, sin agravar su hipofonía (3).

Disfonía funcional

El tratamiento de la disfonía funcional, presuntamente ocasionada por excesiva tensión muscular, es la realización de ejercicios de fisioterapia vocal supervisada por foniatra, realizando un énfasis en la reducción de la hiperfunción.

Presbifonía

Muchos pacientes que padecen esta condición, consiguen mejoras satisfactorias con terapias de voz centradas en optimizar el soporte respiratorio y la proyección de la voz. En los casos de pacientes que continúan insatisfechos con su voz tras la realización de la terapia rehabilitadora, la realización de procedimientos de medialización de las cuerdas vocales puede reestablecer los bordes de las cuerdas vocales, y obtener una mejora de la proyección de la voz. No obstante, las sustancias inyectables disponibles actualmente, y los implantes, han mostrado escasos resultados en el restablecimiento de la pliability de la superficie de las cuerdas vocales (3). En este sentido, el uso de injertos grasos obtenidos mediante liposucción y procesados mediante lipoconcentración, podría suponer un nuevo recurso terapéutico, que sí podría conseguir una mejora de la consistencia tisular. De hecho, se dispone de una extensa cantidad de evidencia científica en la que, en distintos ámbitos, como el tratamiento de cicatrices contráctiles, bridas en quemados, piel envejecida y otros, esta técnica ha demostrado obtener una mejora en la consistencia tisular (29).

5.1.5 Técnicas quirúrgicas para medialización de cuerdas vocales

5.1.5.2. Medialización de cuerdas vocales mediante inyección

La laringoplastia de inyección, se realiza con el objetivo de medializar una cuerda vocal no funcionante, cicatricial o atrófica para lograr un cierre glótico completo. Este procedimiento permite obtener una mejora de la fonación y además una protección de la vía aérea, pudiendo disminuir la clínica derivada de las aspiraciones.

La laringoplastia de inyección es el primer método quirúrgico descrito para el tratamiento de la parálisis unilateral de cuerdas vocales. Esta técnica fue descrita por Bruning en 1911, empleando parafina como material inyectado (30). Desde entonces, se ha propuesto el uso de diversos productos para su infiltración en las cuerdas vocales y en el espacio paraglótico, con el fin de mejorar la eficiencia glótica y reposicionar las cuerdas vocales proporcionándoles más volumen. Sin embargo, la mayoría de las sustancias empleadas han sido dejadas de lado por la aparición de complicaciones severas, o por ocasionar empeoramiento de la disfonía preexistente a causa de la rigidez ocasionada por la fibrosis, por su extrusión o por migración de la sustancia del lugar de inyección. Históricamente, las sustancias que más han sido empleadas con este fin han sido el teflón, el colágeno, y actualmente, la grasa autóloga (31).

En 1963, Arnold introdujo el uso de una combinación de polvo de politetrafluoroetileno (teflón) con glicerina para su inyección en las cuerdas vocales (32). Poco tiempo después, este producto se convirtió en la sustancia inyectable de referencia para este fin (33). Aunque el teflón era generalmente efectivo en la corrección de la incompetencia glótica, su principal inconveniente (al igual que el de otros productos sintéticos), es la rigidez que suele ocasionar en la cuerda vocal inyectada (34). Como resultado de esa rigidez, los patrones de vibración de las cuerdas vocales son alterados, produciendo una voz de mala calidad. Además, si se infiltra demasiada cantidad de teflón, pueden aparecer complicaciones serias a consecuencia de la obstrucción de la vía respiratoria. De hecho, se han reportado varios casos de traqueotomía inmediata realizada tras uno de estos procedimientos para mantener la permeabilidad de la vía aérea (35). El teflón sobreinyectado es difícil de retirar, y los intentos de resección parcial endolaríngea pueden resultar en un aumento de la fibrosis cicatricial de la cuerda vocal (36). El uso de láser para eliminar el teflón sobreinyectado puede resultar extremadamente peligroso, ya que el teflón es un material plástico, y su sobrecalentamiento podría producir una

combustión dentro de la vía aérea. Otras complicaciones relacionadas con las infiltraciones de teflón son la aparición de granulomas por reacción a cuerpo extraño, abscesos cervicales y aproximación irregular de las cuerdas por fibrosis (37-39).

El colágeno bovino como producto para infiltración fue desarrollado posteriormente. Uno de sus principales inconvenientes es que se trata de un material reabsorbible que no puede obtener unos resultados duraderos. Además, también se acompaña de la posibilidad de ocasionar una reacción de hipersensibilidad sistémica y rigidez de las cuerdas vocales debido a la fibrosis (40).

El uso de grasa autóloga para aumentar el volumen de las cuerdas vocales fue inicialmente descrito por Dedo y cols. en 1983, que reportaron la inyección con grasa de una cuerda vocal cicatricial a través de un abordaje abierto translaríngeo (41). Mikaelian y cols. en 1991 reportaron los casos de tres pacientes que padecían parálisis unilateral de cuerda vocal mediante inyección de grasa; obteniendo todos los pacientes una mejora subjetiva inmediata, aunque los periodos de seguimiento fueron breves (42). En 1992, Brandenburg y cols. publicaron una serie de 12 pacientes, 11 con parálisis unilateral de laríngeo recurrente, y otro con una cuerda vocal cicatricial, que fueron tratados mediante el empleo de injertos de grasa autóloga (43).

La medialización de cuerdas vocales mediante inyección es uno de los tratamientos de referencia para los casos de disfonía por déficit de cierre glótico. En ausencia de fijación aritenoides, y cuando existe una estructura remanente de la cuerda vocal suficiente para la realización de la inyección, es posible realizar este procedimiento. Como se ha descrito anteriormente, se han empleado una gran cantidad de sustancias para la realización de estas inyecciones, desde materiales artificiales (teflón (44), silicona (45), hidroxapatita cálcica (46)), a productos biológicos (injertos de grasa autóloga (47), injertos dérmicos (45), injertos cartilagosos (45), ácido hialurónico (48), matrices dérmicas artificiales (49), colágeno (50)). Desde el desarrollo de esta técnica, la identificación de la sustancia inyectable óptima ha sido el principal objetivo de quienes la han empleado. Sin embargo, una de las limitaciones más importantes de los materiales inyectados tradicionalmente ha sido la falta de permanencia de la sustancia, requiriendo procedimientos sucesivos para mantener la mejora alcanzada, o la no integración del material al no tratarse de elementos autólogos. Las tasas de extrusión de los materiales artificiales, son muy elevadas, y se

asocian a una incidencia muy elevada de lesiones granulomatosas y reacciones inflamatorias persistentes.

Por otro lado, la permanencia de elementos biológicos no autólogos obtiene resultados favorables, pero limitados por el tiempo de reabsorción de los materiales, siendo de 4-6 meses en el caso del colágeno, y 6-12 meses en el caso del ácido hialurónico y las matrices dérmicas artificiales. El colágeno, además, se ha visto asociado a reacciones inflamatorias recidivantes que aumentan la rigidez de las cuerdas vocales. La hidroxiapatita cálcica posee un tiempo de duración superior, de hasta 2 años (51). Sin embargo, este material se ha asociado a una alta incidencia de reacciones a cuerpo extraño que desencadenan en aparición de lesiones granulomatosas (52). Los pacientes que sufren este tipo de complicación, se presentan con empeoramiento de clínica disfónica, dolor, y eritema de cuerdas vocales observado en la examinación directa; precisando de la retirada del material inyectado.

Los injertos de grasa autóloga son un recurso amplia y extensamente utilizado en el ámbito de la cirugía plástica y reconstructiva para el aumento de volumen tisular, en reconstrucción mamaria, tratamiento de lipodistrofias de diversas etiologías, tratamiento de cicatrices retractiles, remodelamiento de colgajos etc (53). En la experiencia adquirida con esta técnica en el ámbito de esta especialidad a lo largo de los últimos años, se ha consolidado como el recurso óptimo para la consecución de aumentos de volumen tisular estables a largo plazo. No obstante, el prendimiento de los injertos muestra un grado importante de heterogeneidad (entre un 50-80% del volumen inyectado tras 5-6 meses de la intervención, estable a partir de entonces) dependiente de múltiples factores, tanto externos, como propios del paciente, y derivados del método de procesamiento del injerto; que todavía no han sido esclarecidos (54).

La grasa autóloga ofrece una serie de ventajas importantes respecto al resto de sustancias, que la ha convertido en el sustrato de infiltración indiscutible en este tipo de procedimientos. Su carácter autólogo evita la posibilidad de aparición de reacciones inflamatorias a cuerpo extraño, rechazo o extrusión. Además, aunque ha existido cierto debate en las últimas dos décadas respecto a la permanencia de la grasa infiltrada, se ha comprobado en estudios realizados en otros ámbitos quirúrgicos y regiones anatómicas, la permanencia de este tipo de injertos; como en la reconstrucción mamaria o el tratamiento de cicatrices cutáneas (55). Además, se han realizado varios estudios con el

fin de evaluar el tiempo de persistencia de los injertos grasos, realizados específicamente en pacientes sometidos a procedimientos de lipoinjerto en cuerdas vocales. En estos trabajos, se evaluó la persistencia de los injertos con pruebas de imagen (TC y RM) (56-59). Sin embargo, los estudios anteriormente citados, poseen carencias importantes, como periodos de seguimiento inferiores a un año, falta de medición de volumen en algunos de ellos (únicamente comprobaban existencia de señal correspondiente a tejido graso) o ausencia de pruebas de imagen tomadas antes de la cirugía (56-59). Sin embargo, en 2019 un grupo italiano liderado por Cantarella publicó un estudio que incluía 79 pacientes, en los que realizaron pruebas de imagen (RM y TC) en el postoperatorio precoz y en distintos periodos de su evolución, con periodos de seguimiento de hasta 10 años (60). En este estudio, se confirmó la estabilidad volumétrica de la grasa infiltrada a partir de los 6 meses desde su infiltración. Por lo tanto, basándonos en los resultados de este estudio, quedaría confirmada la permanencia del efecto de relleno de los injertos de grasa autólogos en cuerdas vocales (60).

Por otra parte, es de sobra conocida la reabsorción de volumen en porcentajes variables que acontece tras la infiltración de injertos grasos; por lo que en la mayoría de estudios, se recomienda realizar una inyección de un volumen adicional al que se desea conservar, de en torno al 20-50% (60).

En los últimos cinco años, se han publicado varios estudios que pretenden optimizar los resultados obtenidos con los rellenos biológicos, combinando células madre pluripotenciales inducidas, derivadas de adipocitos, factores de crecimiento, y otras sustancias con el fin de mejorar la estabilidad de las sustancias de relleno. Imaizumi y cols. realizaron un estudio en ratas atímicas, con las que formaron tres grupos. Al primer grupo se le infiltró únicamente ácido hialurónico en una cuerda vocal, y a los otros dos, ácido hialurónico combinado con células madre inducidas y combinado con factor de crecimiento epidérmico respectivamente. En los grupos que combinaron el ácido hialurónico con células madre y factor de crecimiento epidérmico, se reportó una disminución de la fibrosis inducida por este procedimiento (61). En el caso de los injertos de grasa autóloga, se ha administrado en combinación con concentrados de células madres mesenquimales derivadas de tejido adiposo con el objetivo de aumentar las tasas de prendimiento (62). En un estudio realizado en cuerdas vocales de perros, se observó una disminución del porcentaje de reabsorción del volumen total del tejido adiposo infiltrado

al combinarlo con dosis bajas de factor de crecimiento de fibroblastos básico (FGF-b) (63).

Los abordajes transoral y percutáneo para la infiltración han añadido una nueva dimensión al manejo de la insuficiencia glótica (64). En algunos pacientes, de hecho, el procedimiento puede realizarse rápida y efectivamente incluso en la consulta. Estos procedimientos son relativamente simples y obtienen unos resultados inmediatos, con escasas molestias para los pacientes. En el caso de parálisis unilateral de cuerdas vocales, la medialización mediante infiltración no está indicada si se prevé que pueda tener lugar una recuperación funcional.

Infiltración percutánea

En algunos centros sanitarios las infiltraciones percutáneas pueden ser realizadas sin sedación, únicamente con anestesia local. En esos casos, se precisa de un laringoscopio flexible para visualizar las cuerdas durante el procedimiento. Debido a las ventajas y la facilidad de ejecución, las inyecciones percutáneas se están convirtiendo en el método preferido en muchos centros. Sin embargo, teniendo en cuenta que este procedimiento puede comprometer la permeabilidad de la vía aérea, resulta recomendable la realización de las inyecciones en un entorno controlado, y en el que se dispongan de medios para intervenir de forma urgente (55).

La infiltración puede realizarse desde un abordaje lateral, a través del ala del tiroides, al nivel de las cuerdas vocales, determinado por la palpación del surco tiroideo, y el borde inferior del ala del tiroides anteriormente (Figura 11). La cuerda vocal yace perpendicular a esta línea, en el punto medio. Alternativamente, la técnica puede realizarse desde un abordaje anterior, a través de la membrana cricotiroidea, abordando las cuerdas vocales desde abajo (65). A medida que se inserta la aguja, se debe angular superior y lateralmente bajo visualización directa con un nasofaringoscopio flexible. Rees y cols. reportaron su técnica utilizando un abordaje transtiroideo con visualización directa (66). La principal desventaja de su técnica es la posibilidad de depositar material inyectable en el espacio de Reinke. Debido a que el material infiltrado en su publicación era hidroxapatita cálcica, el riesgo potencial de esta posible complicación sería una disfonía permanente. Este problema ha sido reportado por Cheda y cols. en un estudio sobre cirugía laríngea de revisión tras inyecciones subóptimas con hidroxapatita cálcica (67).

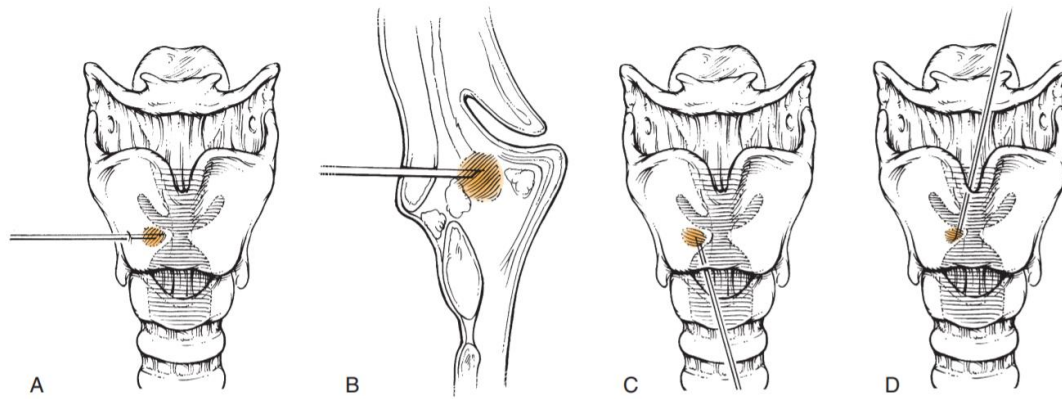


Figura 22. **A.** Abordaje percutáneo lateral para infiltración de cuerdas vocales. **B.** Punto de infiltración. **C.** Abordaje percutáneo subglótico anterior. **D.** Abordaje a través de espacio transtirohioideo superior (68).

La infiltración debe realizarse inmediatamente anterior y lateral al proceso vocal, y en un plano al nivel del límite inferior del borde medial. El material depositado en esta posición, recrea la superficie subyacente a la cuerda verdadera, y minimiza el riesgo de infección en el espacio de Reinke. Con esta técnica, la infiltración aproximada de 0,5-1mL es suficiente. Como mencionamos anteriormente, con las infiltraciones de grasa, se prefiere la sobreinyección, para compensar la reabsorción que tiene lugar posteriormente. Se debe informar a los pacientes de que experimentaran cambios adicionales en su voz durante el periodo postoperatorio.

Infiltración transoral

La infiltración transoral con anestesia local puede realizarse en pacientes seleccionados, colaboradores y con buena tolerancia. En primer lugar, se administra una solución inhalada de lidocaína al 4%. Con la lengua del paciente fuera para permitir la visualización directa, se realiza la inyección con una aguja laríngea curva. Existen agujas específicas para lado izquierdo y derecho, de forma que el bisel este dirigido en dirección contraria a la línea media, para minimizar la posibilidad de realizar una infiltración intramucosa.

Infiltración laringoscópica

En pacientes que no toleren el fibroscopio flexible, puede realizarse el procedimiento con microlaringoscopia directa, e infiltración por vía percutánea o transoral. La inyección a

través de microlaringoscopio es utilizada también a la vez que se realizan procedimientos ablativos en los que se prevea una lesión irrecuperable del nervio laríngeo recurrente, minimizando los síntomas del postoperatorio inmediato. La inyección suele realizarse bajo anestesia general con ventilación espontánea o apnea intermitente controlada.

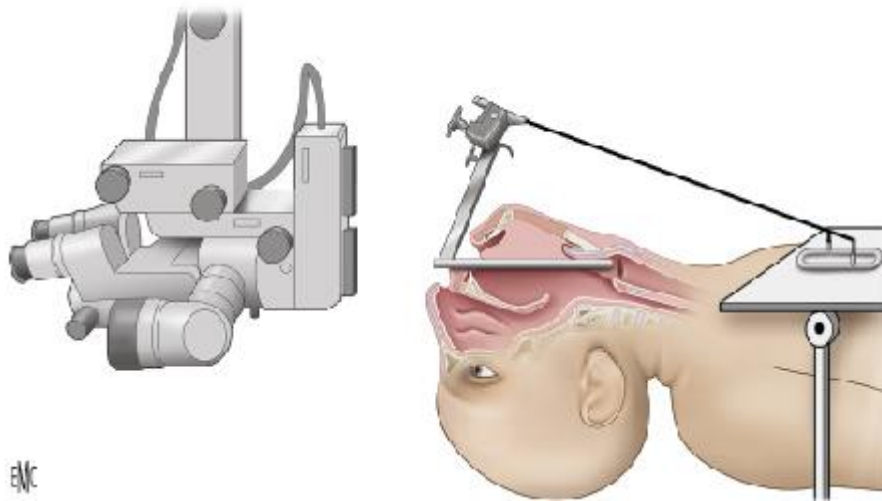


Figura 23. Representación esquemática de una laringoscopia en suspensión tras la colocación del laringoscopio en un paciente intubado (5).

Con el paciente en decúbito supino, y tras realizar la inducción anestésica, se introduce el laringoscopio y se fija con un dispositivo de suspensión. Es el procedimiento habitual de microcirugía laríngea en suspensión. Debe tenerse extremo cuidado para no aplicar demasiada tensión en la comisura anterior, lo que podría distorsionar las cuerdas vocales. Los cartílagos aritenoides son palpados con una gasa para verificar su movilidad, y las cuerdas vocales falsas son lateralizadas para exponer el ventrículo (figura 12).

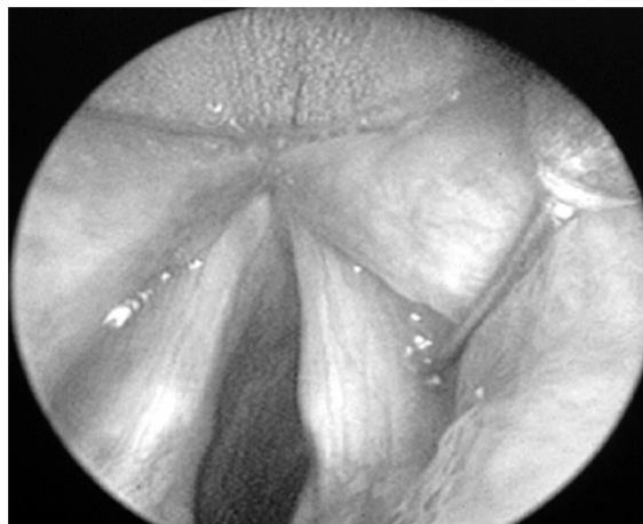


Figura 24. Infiltración de cuerda local mediante laringoscopia directa, utilizando jeringa de Bruning. La aguja se coloca lateral al ligamento vocal para evitar la infiltración en el espacio de Reinke (68).

La aguja debe ser insertada anterior y lateral al proceso vocal, aproximadamente a una profundidad de 2mm. Tras la infiltración, puede utilizarse una gasa para masajear la cuerda vocal para distribuir homogéneamente el material infiltrado.

La infiltración a través de laringoscopio también puede ser realizada bajo anestesia local para monitorizar los cambios de la calidad de la voz durante las inyecciones. Se debe evitar la realización de bloqueos del nervio laríngeo superior con el anestésico, porque se alteraría la tensión de la cuerda vocal al paralizarse el musculo cricotiroideo, distorsionando el resultado. Tras la infiltración inicial, el laringoscopio se relaja, y se puede pedir al paciente que hable. En caso necesario, se puede infiltrar más material.

Debe distinguirse entre la medialización de la cuerda vocal y la inyección intracordal. Con las inyecciones para medialización, el material se coloca en el espacio paraglótico, lateral al musculo vocal, manteniendo indemne la mucosa suprayacente al pliegue vocal. Con las inyecciones intracordales, realizadas para rellenar defectos de tejido blando, el material inyectado se coloca más superficialmente, en una zona inmediatamente profunda a la lámina propia, evitando el espacio de Reinke (Figura 13).

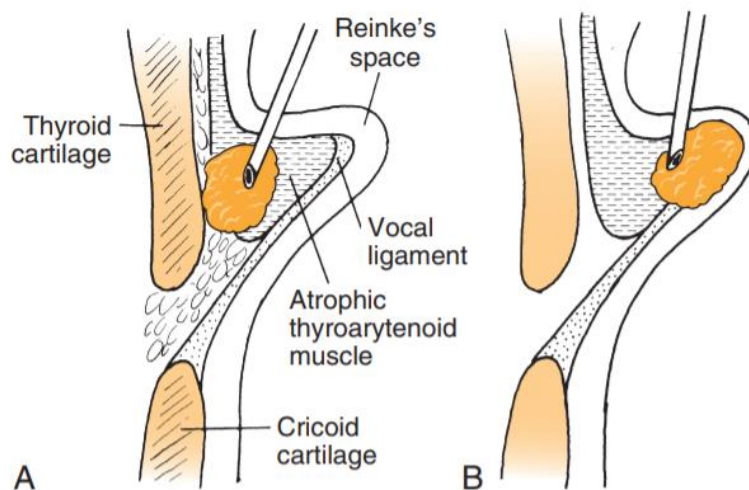


Figura 25. Tipos de infiltración de cuerdas vocales. **A.** Inyección intracordal para parálisis de cuerda vocal; se observa el bisel de la aguja orientado hacia fuera respecto al borde medial de la cuerda vocal. **B.** Inyección intramucosa como resultado de una inyección mal posicionada, con el bisel de la aguja dirigido hacia el borde medial de la cuerda vocal. (68)

5.1.5.2. Tiroplastia de medialización

La tiroplastia de medialización fue inicialmente descrita por Isshiki en 1975 (69). El procedimiento consiste en la colocación de un implante con el objetivo de desplazar la cuerda vocal hacia la línea media, a través de un abordaje anterior. Este procedimiento es considerado por muchos cirujanos el procedimiento de elección para el manejo de la parálisis de cuerdas vocales. El procedimiento puede ser realizado por sí solo o junto con una aducción de aritenoides o procedimientos de reinervación en caso de lesión de nervio laríngeo recurrente. Este procedimiento ofrece una serie de ventajas:

1. Puede ser realizado con anestesia local, ocasionando mínimas molestias al paciente.
2. El posicionamiento del paciente es anatómico, por lo que se puede obtener una mejor evaluación de la voz durante la realización del procedimiento.
3. Es potencialmente reversible.
4. Debido a que la prótesis se coloca lateral al pericondrio interno de la lámina tiroidea, la integridad estructural de la cuerda vocal es preservada. La medialización así obtenida permite un cierre efectivo del gap prefonatorio, consiguiendo una disminución del umbral de oscilación, y una mejora de la eficiencia vocal (70).

Por otro lado, sus principales inconvenientes son:

1. El paciente debe someterse a un procedimiento abierto
2. El procedimiento es técnicamente más complicado que la laringoplastia mediante inyección
3. El cierre de la glotis posterior puede quedar limitado

La laringoplastia de medialización es empleada actualmente en el tratamiento de la parálisis de cuerdas vocales, arqueamiento de cuerdas vocales como resultado del envejecimiento o de la fijación de la articulación cricotiroidea, el sulcus vocalis, y defectos de tejido como resultado de exéresis de lesiones locales (71). El tratamiento de la disfonía por parálisis de cuerdas vocales está indicado cuando no existe posibilidad de recuperación. Cuando existe posibilidad de recuperación espontánea, la tiroplastia de medialización puede considerarse en casos de aspiración o de disfonía severa pese a tratamientos repetidos mediante laringoplastia de inyección. Generalmente, la disfonía debe manejarse de forma conservadora cuando se prevé la recuperación funcional; sin

embargo, existen estudios en los que no se ha observado efectos adversos en pacientes que fueron tratados mediante tiroplastia, y obtuvieron una recuperación funcional posteriormente (68).

Aunque se han publicado distintas modificaciones de la técnica inicialmente descrita por Ishiki, los principios básicos del procedimiento se mantienen intactos (69). Los factores que condicionan el resultado incluyen el tamaño, forma y posición del implante. Se emplean implantes tallados a demanda o prefabricados, de silastic (prótesis de Montgomery) o implantes de hidroxiapatita (VoCoM) (72). Los implantes de silastic permiten una mayor capacidad de individualización de la medialización, ya que pueden ser tallados intraoperatoriamente hasta obtener la forma deseada para optimizar la calidad de la voz; aunque su uso prolonga el tiempo del procedimiento. Los implantes prefabricados se acompañan de plantillas que sirven para medir el tamaño de implante que se precisa para obtener una cierta cantidad de desplazamiento de la cuerda en mm, y permiten una determinación más rápida del tamaño y posición adecuados del implante (figura 31). También se han empleado tiras de gore-tex a modo de prótesis, habiéndose reportado resultados satisfactorios también con el empleo de esta técnica, destacando la mayor adaptabilidad en ciertas situaciones que las prótesis prefabricadas (73). Sin embargo, el gore-tex no está exento de la probabilidad de aparición de lesiones granulomatosas inflamatorias asociadas a otros tipos de materiales protésicos.



Figura 26. Dispositivo con implante prefabricado de hidroxiapatita. Estos implantes pueden ocasionar un desplazamiento de entre 3 y 7mm, en función del modelo. (68)

Técnica quirúrgica

El paciente debe posicionarse en decúbito supino. El procedimiento se realiza bajo condiciones estériles. Se administra anestesia local en plano subcutáneo en los cuatro

cuadrantes sobre la lámina tiroidea ipsilateral. El procedimiento comienza con una incisión paramediana horizontal de 5cm, realizada sobre el aspecto medial de la lámina tiroidea. Se secciona el platismo a ese nivel, levantando un colgajo superior y otro inferior en un plano subplatismal hasta exponer el surco del tiroides y el límite inferior del cartílago tiroides. Los músculos infrahioideos son seccionados en la línea media, y retraídos lateralmente, separándolos de la lámina tiroidea, preservando el pericondrio externo intacto. A continuación, se coloca una erina simple en la parte anterosuperior del colgajo cutáneo contralateral, retrayéndolo lateralmente, exponiendo así la lámina ipsilateral. Se marca una ventana cartilaginosa mediante bisturí frío o electrocauterio, aplicado sobre la plantilla prediseñada (en caso de emplear prótesis prefabricada).

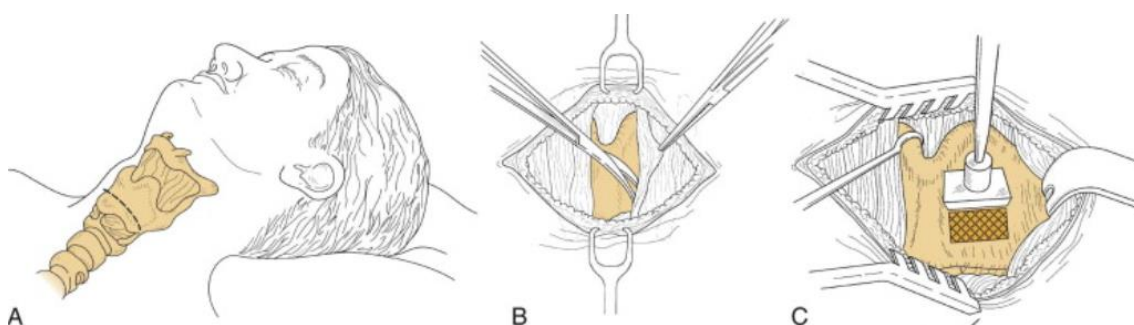


Figura 27. Tiroplastia de medialización. **A.** Incisión cutánea. **B.** Elevación de músculo esternohioideo respecto al cartílago tiroides. **C.** Retracción del músculo por detrás de la lámina tiroidea, marcaje de la ventana con cauterio; la parte superior de la ventana se encuentra al nivel de las cuerdas vocales. (68)

En el caso del sistema VoCoM, la ventana mide 6mm en sentido vertical, y 10mm en sentido horizontal. El borde anterior de la ventana se realiza 5-8mm posterior a la línea media ventral en mujeres, y 8-10mm en varones (figura 32). El borde superior de la ventana debe colocarse a nivel de las cuerdas vocales. Un punto a media distancia entre el borde anteroinferior del cartílago tiroides y el surco, define el nivel de las cuerdas vocales. Desde este punto, una línea dibujada posteriormente y paralela al borde inferior del cartílago tiroides, se aproximaría al nivel de la cuerda vocal. El pericondrio externo es incidido y elevado del cartílago tiroides dentro del área marcada por la ventana. El material cartilaginoso es retirado de forma precisa para conservar las dimensiones de la ventana. Si el cartílago se encuentra osificado, la ventana puede ser realizada mediante fresado. En todo momento, debe tratar de conservarse el pericondrio interno. Una vez retirada la ventana de cartílago, se levanta el pericondrio interno de forma circunferencial, más allá de la lámina tiroidea, con un despegador.

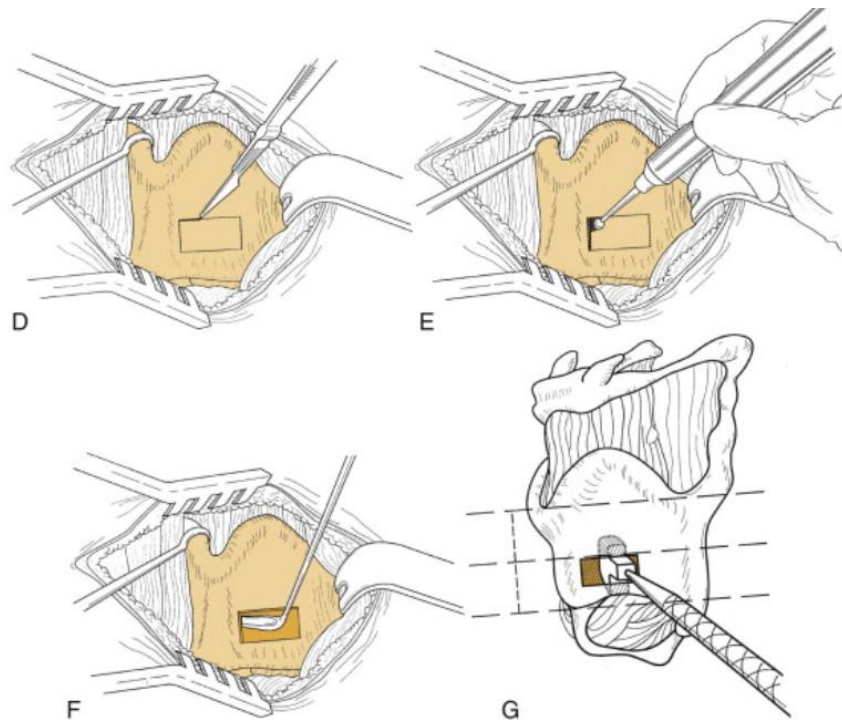


Figura 28. Tiroplastia de medialización. **D.** El pericondrio externo es incidido y retirado. **E.** Se utiliza una fresa para eliminar la Ventana de cartílago protegiendo el pericondrio subyacente. **F.** El pericondrio interno es Elevado circunferencialmente con una disectora roma. **G.** Se coloca una plantilla o la prótesis del tamaño adecuado en la posición más efectiva. (68)

Con el sistema VoCoM, una de las cinco plantillas de prótesis (de 3 a 8mm) es insertada a través de la ventana, y rotada 90 grados, con la parte biselada dirigida hacia arriba (figura 33). Esta orientación tiende a producir una calidad de voz óptima; sin embargo, se puede colocar con orientaciones distintas.

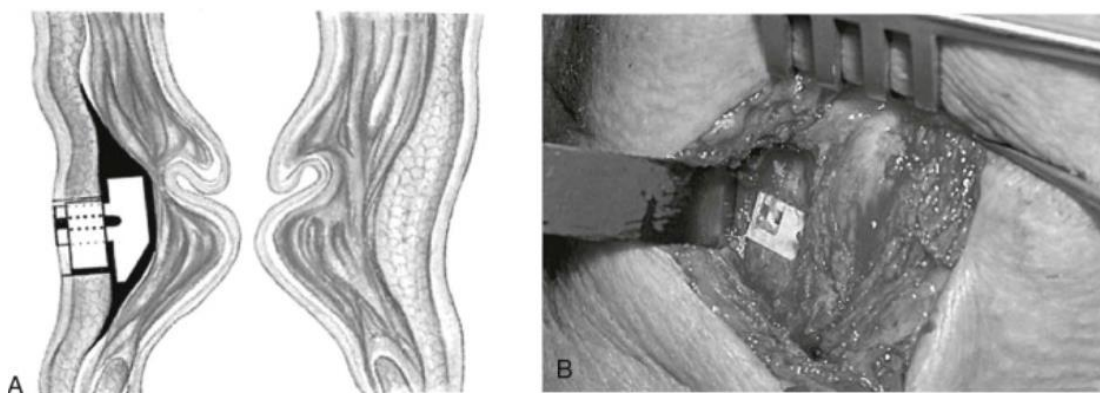


Figura 29. **A.** Esquema recreando un implante colocado en su posición y fijado con adaptador. **B.** Visión intraoperatoria de un implante de hidroxiapatita (68)

Los implantes de silastic prefabricados, también se distinguen por sus distintas magnitudes de desplazamiento (de 3 a 8mm). Sin embargo, en rara ocasión se precisa de

la utilización de un implante que ocasione un desplazamiento mayor de 7mm. Para determinar la posición óptima, se retiran todos los retractores, y se indica al paciente que realice fonación mientras que la plantilla de prueba se va colocando en los distintos cuadrantes de la ventana. En caso de considerarse necesario, también puede probarse con distintos tamaños hasta obtener el óptimo.

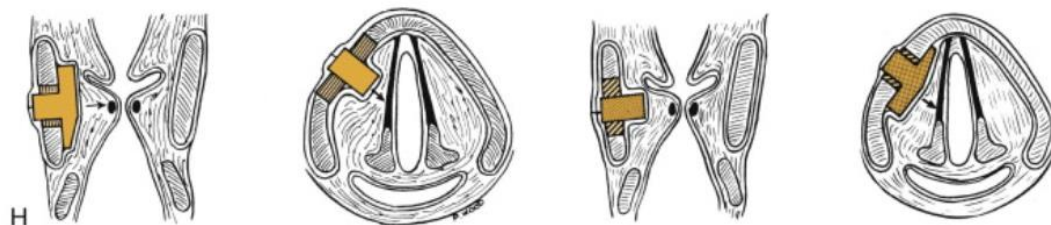


Figura 30. Variaciones de colocación del implante; se muestran en posición vertical y horizontal respecto al plano de las cuerdas vocales. (68)

Si la medialización parece quedar limitada por el pericondrio interno, y el cartílago tiroideo esta arqueado hacia fuera, el pericondrio interno puede incidirse para liberar tensión y mejorar la medialización. Una vez se ha definido la posición y tamaño apropiados, se coloca el implante, fijándolo mediante su adaptador. Si la ventana fue tallada con el tamaño apropiado, el adaptador encajará adecuadamente, asegurando la posición del implante. Si el adaptador no es estable, o el cartílago es delgado, se puede pasar una sutura a través del cuello del implante, fijándolo a una mini placa de titanio. Puede colocarse un pequeño drenaje aspirativo en profundidad a los músculos infrahioideos



Figura 31. Implante de silastic tallado. (68)

Los implantes tallados de silastic proporcionan una técnica muy versátil para condicionar la medialización (figura 34). La técnica es completamente adaptable a cada caso, siendo particularmente importante en el caso de cirugías de revisión. La técnica es muy similar a la descrita para la colocación de prótesis preformadas, aunque la ventana tiroidea es ligeramente mayor (6x13mm). En mujeres, se posiciona 5mm lateral a la línea media, y

en hombres 7mm. La posición de la ventana respecto al borde inferior del cartílago tiroideo es importante para mantener el implante alineado con la comisura anterior y el proceso vocal. Mientras que el cirujano puede adaptarse a ventanas que se encuentran mal alineadas respecto al borde de la cuerda vocal, es más fácil tallar el implante con la ventana situada en este plano. El plano se encuentra paralelo a una línea entre el borde inferior del cartílago tiroides anteriormente, y el borde superior del surco inferior creado por el cornu inferior posteriormente. La ventana es idealmente realizada 3mm por encima del límite inferior del cartílago tiroides, paralelo a esta línea imaginaria (figura 35)

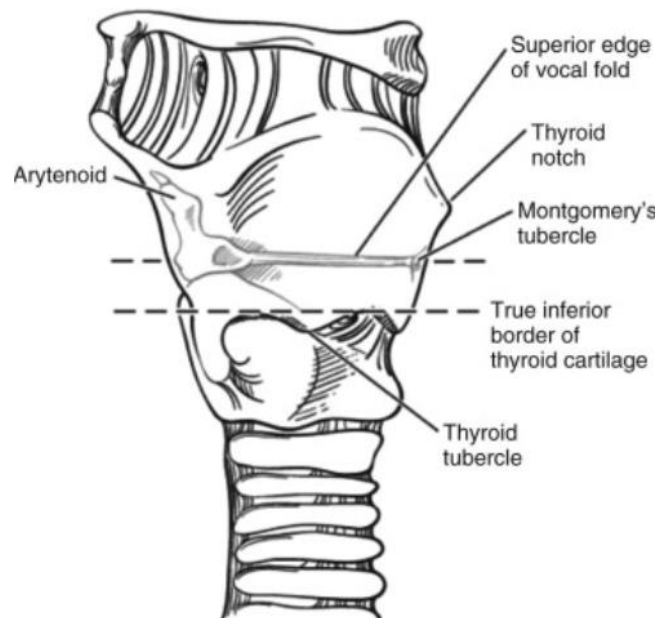


Figura 32. Identificación del borde inferior verdadero del cartílago tiroides. Esta línea imaginaria se encuentra entre un punto en el borde anteroinferior del cartílago tiroides y el borde superior de la escotadura creada entre el tubérculo tiroideo y el cornu inferior. (68)

Una vez se incide la ventana, el espacio paraglótico es liberado al igual que para la colocación del implante prefabricado. Un medidor de profundidad es empleado para presionar sobre el espacio paraglótico, evaluando in vivo el cambio de voz ocasionado (figura 36). La posición del medidor y su angulación puede ajustarse de infinitas maneras hasta obtener la posición de medialización ideal, la profundidad anterior y posterior del implante, y la inclinación de su superficie. Una vez medidos estos parámetros, se procede al tallado del implante. El implante ya colocado, debe quedar muy ajustado a los bordes de la ventana para evitar su desplazamiento

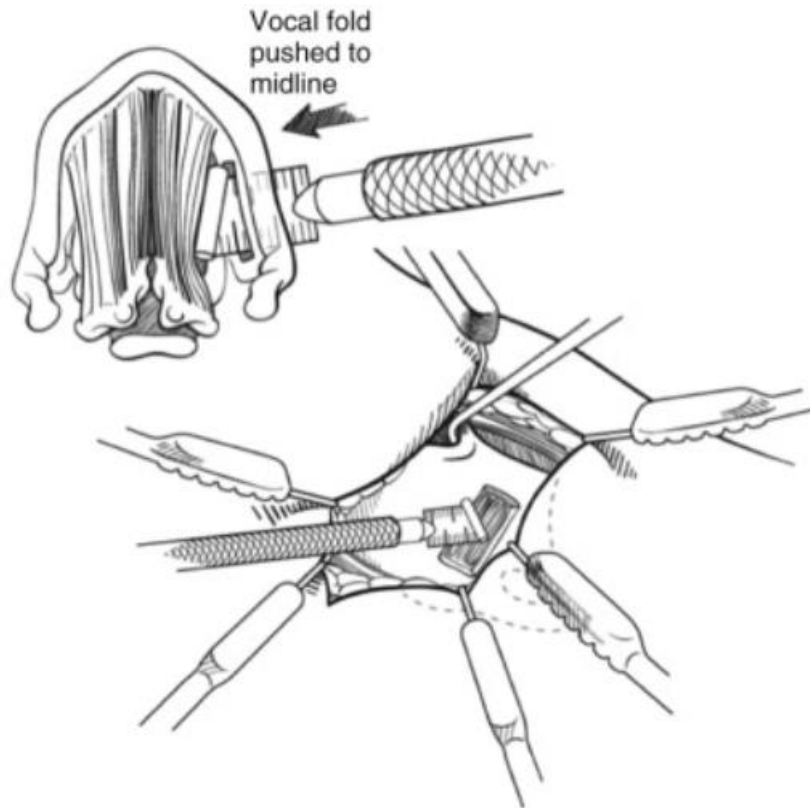


Figura 33. Uso de un medidor de profundidad para ajustar la posición óptima y diseñar el implante. (68)

Como regla general, independientemente del tipo de implante utilizado, es preferible emplear la prótesis más grande capaz de mantener la calidad óptima de voz. Esta sobre corrección es defendida por diversos autores, ya que suele observarse un deterioro progresivo de la calidad de la voz, a medida que el edema intraoperatorio va remitiendo durante el periodo postoperatorio (74). Cuando la medialización es realizada de forma precoz tras la aparición de una parálisis, la atrofia muscular puede condicionar un empeoramiento de la calidad de la voz. Minimizar la manipulación del espacio paraglótico antes de realizar las pruebas de voz intraoperatorio es considerado un factor muy importante para tratar de obtener un resultado óptimo (74).

La tiroplastia mediante tiras de politetrafluoroetileno (Gore-Tex), descrita por McCulloch y Hoffman, se realiza de forma muy similar. La posición y dimensiones de la ventana no deben ser tan precisas como en los casos previos. El pericondrio interno es abierto y el material es depositado simplemente en capas en el espacio paraglótico (figura 37).



Figura 34. A. Diagrama esquemático de tiroplastia de medialización utilizando una tira de politetrafluoroetileno poroso (Gore-Tex) (68).

Las limitaciones de la tiroplastia de medialización se refieren a la naturaleza mecánica del procedimiento. Esta intervención produce un cambio estático en la estructura laríngea, pero no influye sobre la función dinámica. No se produce ningún efecto sobre la masa muscular de la cuerda vocal, su inervación, o su movilidad. El cierre de la parte posterior de la glotis puede quedar limitada por el estrechamiento del espacio paraglótico, al converger posteriormente los cartílagos cricoides y tiroideos.

En diversos estudios se ha demostrado la mejora en variables de resultado tanto objetivas como subjetivas. Un estudio de cohortes prospectivo reportó una mejora estadísticamente significativa de la voz en términos de ronquera ($p < 0,001$) y proyección ($p < 0,001$). El tiempo de fonación medio aumentó de 4,6 a 15 segundos, y las amplitudes de voz fueron significativamente superiores (62,9dB frente a 68,0dB, $p < 0,01$); aunque las frecuencias preoperatorias y postoperatorias fueron similares (75).

Complicaciones

Las complicaciones asociadas a la tiroplastia de medialización incluyen:

- Perforación de mucosa endolaríngea
- Infección de herida
- Condritis

- Migración de implante
- Extrusión de implante
- Obstrucción de vía aérea

El compromiso de la vía aérea es la complicación más peligrosa, pudiendo poner en peligro la vida del paciente (76). La realización combinada de tiroplastia de medialización y aducción aritenoidea aumenta este riesgo (76). La perforación de la mucosa endolaríngea, aumenta el riesgo de extrusión del implante a la vía aérea, y de la infección subsecuente. Antes de la colocación del implante, el cirujano debe evaluar la existencia de fuga aérea a través de la ventana cartilaginosa, llenando la herida con suero fisiológico mientras el paciente realiza fonación. Si se observa burbujeo, existirá comunicación de la herida con la vía aérea, por lo que el procedimiento debe concluirse sin colocar el implante. Una intubación realizada poco tiempo después de la medialización, puede ocasionar un desplazamiento de la prótesis, o una erosión de la mucosa por la presión producida por el tubo endotraqueal (68).

La aparición de cierre glótico incompleto como resultado de la infracorrección, o la colocación inadecuada de la prótesis ocurre aproximadamente entre el 10% y el 15% de los pacientes. El cierre incompleto glótico aparece con más frecuencia en pacientes que padecen parálisis aguda de cuerda vocal, como resultado de la progresiva atrofia del pliegue vocal que acontece tras la denervación. Las opciones quirúrgicas para el manejo del cierre incompleto tras realización de una tiroplastia, incluyen la realización de tiroplastia de revisión, inyección de cuerdas vocales, procedimientos de reinervación, y la aducción aritenoidea. La tiroplastia de revisión es un procedimiento factible, y posee unas buenas tasas de mejora respecto a la situación preexistente (77). Los implantes de silastic pueden ser reposicionados, o pueden ser reemplazados por una prótesis más grande.

La tiroplastia de medialización por sí sola, proporciona una solución simple para el manejo de la parálisis unilateral de cuerdas vocales. No obstante, deben reconocerse las limitaciones de este procedimiento; siendo frecuentes las situaciones en las que más de un procedimiento es necesario. La combinación de la tiroplastia de medialización con aducción aritenoidea o reinervación, resulta necesaria en algunos casos.

5.2 Injertos de grasa autóloga

5.2.1 Introducción

Reseña histórica

El uso de los injertos de grasa autóloga para mejorar deformidades congénitas y alteraciones del contorno corporal fue propuesto por primera vez en 1893 por el cirujano alemán Gustav Neuber (78). En su trabajo, reportó el caso de un paciente que presentaba una cicatriz facial deprimida a consecuencia de una osteomielitis, que trató con un fragmento de tejido adiposo obtenido del brazo. 2 años más tarde, Czerny transfirió un lipoma del tamaño de un puño del glúteo de una paciente a su mama en contexto de una reconstrucción mamaria (79). Pese a estos procedimientos puntuales, el uso de injertos grasos para modificaciones volumétricas se consideraba en aquel momento que consumía un tiempo excesivo, y se criticaba su impredecibilidad, por lo que se propusieron nuevas soluciones.

En ese contexto, se extendió el uso de parafina y geles vaselinados como relleno para el tratamiento de defectos faciales. Inicialmente, estos productos realizaban su efecto de relleno adecuadamente, pero tiempo después, comenzaban a aparecer complicaciones como parafinomas, infecciones locales, reacciones inflamatorias crónicas, etcétera. Por tanto, el uso de este tipo de productos se fue dejando de lado progresivamente.

Poco después, Hollander propuso el uso de grasa inyectada a través de una cánula para mejorar deformidades de contorno (80,81). Debido a que observó una tasa considerable de reabsorción del volumen inyectado en sus pacientes, comenzó a mezclar la grasa humana con grasa de vaca con el objetivo de estabilizarla. Esto resultaba en la aparición de reacciones inflamatorias locales que duraban varios días, pero que, tras ceder, dejaban un resultado cosmético adecuado. Más tarde, en 1919, Erich Lexer publicó un libro dedicado específicamente a la técnica de los injertos grasos para el tratamiento de múltiples condiciones (asimetría mamaria, cicatrices deprimidas, adhesiones tendinosas, micrognatia...) (82). En 1926, Miller describió también el uso de injertos grasos en el ámbito de la cosmética, para el tratamiento de arrugas faciales (83). A pesar de algunas figuras aisladas, la impredecibilidad de los injertos grasos hizo que la técnica fuera poco aplicada por la comunidad médica. Fue en 1950, con los trabajos de Lyndon Peer, cuando este campo recibió un importante impulso. Peer estudió la morfología macro y microscópica de la grasa trasplantada, evaluando su evolución tras ser transferida. En su

estudio describió que los injertos grasos perdían aproximadamente un 45% de su peso y volumen al año de su aplicación, por muerte celular. Sin embargo, las células que no se rompían en el proceso, sobrevivirían, manteniéndose ese volumen. Además, descubrió la relación del tamaño del injerto con su prendimiento (a mayor tamaño, menor tasa de prendimiento). Asimismo, describió como la clave para la supervivencia del injerto era su revascularización (84).

Con la aparición de las técnicas de liposucción propuestas por Fournier y Illouz en los años 80, surgió un renovado interés en los injertos grasos (85,86). Chajchir, basado en los hallazgos de Peer, aplicó estas técnicas y realizó sus propias recomendaciones con el objetivo de estandarizar los procedimientos, en base a sus propios resultados (87). No obstante, siguió existiendo gran confusión hasta que en la década siguiente, Sidney Coleman propuso la técnica que se ha considerado desde entonces el método de referencia de obtención y procesamiento de injertos grasos. En su técnica, enfatiza la extracción poco agresiva de la grasa, el procesamiento mediante centrifugación, y la inyección de pequeñas partículas de injerto en múltiples planos tisulares (88). Sin embargo, esta técnica no elimina el factor impredecible del porcentaje de las tasas de reabsorción del injerto graso, que pueden oscilar entre el 20% y el 60% el primer año (89). Por tanto, aunque la técnica de Coleman sigue considerándose hoy en día el estándar de referencia, se han propuesto múltiples modificaciones de la técnica tanto en la fase de extracción de grasa, su procesamiento y su infiltración, además de la combinación con otras sustancias que pudieran mejorar su prendimiento (factores de crecimiento, enriquecimiento con células madre, etc) (90).

Características y composición del tejido adiposo

El tejido adiposo, es un tejido conectivo, de origen mesenquimal compuesto principalmente por adipocitos. Una característica particular de este tejido es que posee un mayor contenido de células que de matriz extracelular. Además de adipocitos, este tejido contiene una fracción vascular estromal (FVE), que incluye diversos tipos de células como fibroblastos, células vasculares endoteliales, células madre mesenquimales, y células del sistema inmune. La principal función de este tejido es la de almacenar energía en forma de lípidos en el citoplasma de los adipocitos, aunque también tiene una función como cobertura protectora, y como aislante térmico (91).

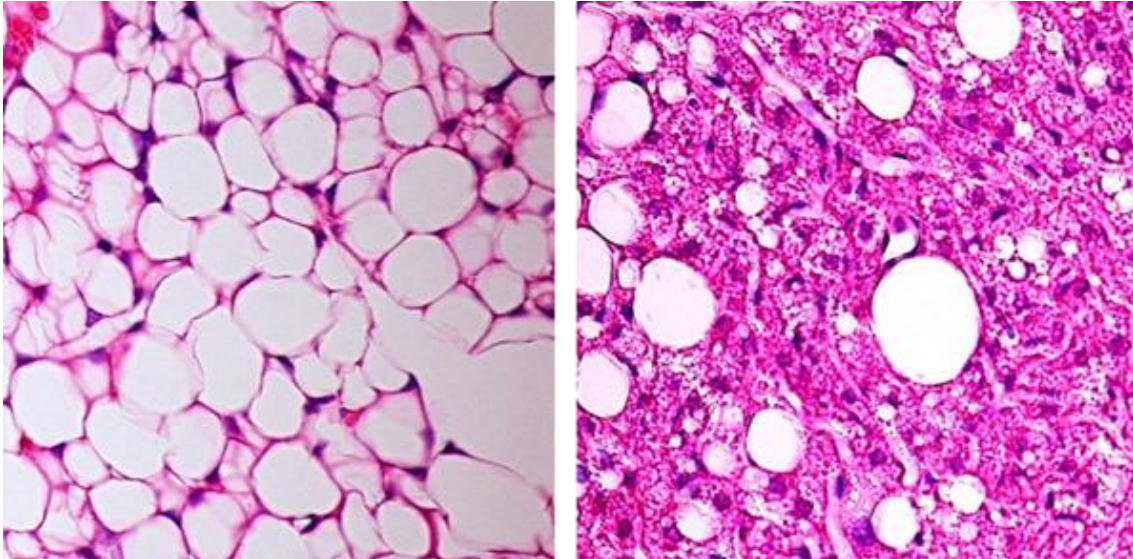


Figura 35. Técnica tinción: Hematoxilina-Eosina **A.** Imagen histológica de tejido adiposo blanco. Entre los lóbulos de grasa, se observan células correspondientes a la fracción vascular estromal. **B.** Imagen histológica de tejido adiposo pardo (92)

Además, en los últimos años, se ha reconocido el tejido adiposo como un gran órgano endocrino, que libera hormonas como la leptina, estrógenos, resistina y citoquinas (principalmente, factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$)).

Existen dos tipos de tejido adiposo, el tejido adiposo blanco, cuya función principal es la de almacenar energía como se describió anteriormente, y el tejido adiposo pardo, que posee la capacidad de generar calor.

En los humanos, el tejido adiposo se localiza principalmente por debajo de la piel (grasa subcutánea), alrededor de los órganos internos (grasa visceral), en la médula ósea, entre músculos y en la mama.

La grasa parda es una forma especializada de tejido adiposo, con importancia para la termogénesis adaptativa en humanos y otros mamíferos. Este tejido puede generar calor a través de un desacoplamiento de la cadena respiratoria de la fosforilación oxidativa en la mitocondria, mediante la expresión de la proteína de desacoplamiento 1 (93). Este tejido se encuentra principalmente alrededor del cuello y de los grandes vasos del tórax. La activación del tejido adiposo pardo puede también ocurrir en respuesta a una sobrealimentación (94).

Hasta hace pocos años, se creía que la grasa parda se encontraba exclusivamente en bebés humanos, pero la evidencia reciente ha modificado esa creencia. La presencia de tejido metabólicamente activo con respuesta a cambios de temperatura similares a la de la grasa parda ha sido reportada en el cuello y tronco de algunos humanos adultos en 2007 (92). Estos hallazgos, fueron verificados histológicamente, observándose la presencia de grasa parda en humanos adultos en esas regiones anatómicas (95).

El injerto de tejido adiposo está formado por un acúmulo de células adiposas disgregadas, fragmentos de tejido adiposo, fracción estromal (con otros tipos celulares y las fibras de colágeno y elastina, además de factores de crecimiento), y de detritos oleosos procedentes de adipocitos fragmentados. Una vez se realiza el trasplante del tejido adiposo, éste se neovasculariza y se ve afectado por una reacción inflamatoria. Durante el proceso, los restos hemáticos y las células dañadas son reabsorbidas, y acuden abundantes leucocitos a la zona del injerto. En casos de injertos de gran volumen, las partes centrales a las que no llega un flujo sanguíneo adecuado, sufren apoptosis y necrosis, formando quistes grasos.

5.2.2 Técnica quirúrgica

Extracción de la grasa

Existe un amplio consenso en la consideración que el empleo de métodos de extracción de grasa menos traumáticos resulta en una mayor viabilidad celular de los injertos (96). Sin embargo, no existen estudios que hayan demostrado de forma definitiva, que disponer de una muestra con mayor cantidad de adipocitos viables garantice una mayor tasa de prendimiento de los injertos (probablemente, por la influencia de múltiples factores diversos; como cantidad de células madre presentes, técnica de infiltración, vascularización de zona receptora, variaciones interindividuales...) (97). Se han propuesto diversas técnicas para la obtención de la grasa, y todavía existe un intenso debate en la literatura científica sobre el método que produce una muestra con mayor cantidad de adipocitos viables y funcionales. Las principales técnicas son la aspiración con cánulas de distinto calibre mediante vacío creado mediante dispositivos de aspiración, aspiración mediante vacío creado con jeringas, y escisión quirúrgica. En experimentos recientes, se ha observado una mayor viabilidad celular en muestras obtenidas mediante escisión quirúrgica (98,99). Pu y cols. encontraron una cantidad inferior de células viables en las

muestras obtenidas mediante liposuctor, frente a las muestras obtenidas con jeringa o biopsia (100). Se considera que la extracción a las presiones altas creadas por la liposucción convencional puede causar una alteración estructural de hasta el 90% de los adipocitos (96). Un mayor tamaño de las cánulas también se ha visto asociado a mayores tasas de viabilidad celular en las muestras obtenidas (101). En un estudio realizado por Campbell y cols. encontraron una relación inversamente proporcional entre daño celular y el diámetro de la cánula con la que obtuvieron el lipoaspirado (102). De forma coincidente, Erdimet y cols. reportaron mayores tasas de viabilidad celular en injertos obtenidos empleando una cánula de 6mm, frente a los obtenidos con cánulas de 4mm o de 2mm (103).

La extracción de injertos grasos puede realizarse mediante una técnica “húmeda” o “seca”. En 1993, Klein y cols. describieron la técnica “húmeda” o tumescente, que implica la infiltración de la zona donante con una solución (posteriormente conocida como solución de Klein), compuesta por suero fisiológico (0,9% NaCl), epinefrina y lidocaína (104). La técnica húmeda produce hidrodisección, además de aumentar el volumen de la capa adiposa, facilitando la aspiración posterior, con disminución del dolor y la equimosis debido a la aplicación de adrenalina y anestésico local (105). Además, con esta técnica disminuye la fricción que sufre el tejido adiposo antes de su extracción, existiendo estudios que han determinado que los injertos expuestos a mayores fuerzas de fricción disponían de menor viabilidad celular (106). Aunque la técnica seca puede ser también empleada, la extracción de injertos resulta más dificultosa, se obtienen unos lipoinjertos con mucha más contaminación hemática, y además aumenta de forma importante la incidencia de equimosis, hematomas y dolor (104).

Reciben la denominación de microinjertos, los injertos obtenidos con cánulas muy finas (hasta 0,7mm de diámetro) (107). Este tipo de injertos, suelen emplearse para tratar áreas delicadas de la cara como los párpados y labios. Al emplearse fragmentos de grasa muy pequeños, se reduce la posibilidad de que los injertos se transparenten a través de zonas de piel fina, o queden bultos (108).

El abdomen es la zona donante más frecuente, siendo la segunda la región trocantérica, y la cara interna de muslos y rodillas (109). Los estudios publicados no han encontrado diferencias en la viabilidad tisular del lipoaspirado independientemente de la zona

donante; por lo que las zonas de extracción se escogen en función de su facilidad de acceso, y con el objetivo colateral de mejorar el contorno corporal del paciente (110,111)

Procesamiento de la grasa

Los métodos más frecuentes para el procesamiento de los injertos grasos, son la sedimentación, el filtrado, el lavado y la centrifugación. El procesamiento de la grasa resulta necesario ya que el lipoaspirado no solo contiene células adipocitarias, sino fibras de colágeno, sangre, detritos de tejido dañado y restos de la infiltración previa. Se considera que algunos de estos elementos podrían aumentar la reacción inflamatoria en la zona receptora, lo que podría interferir con el prendimiento del injerto (111). Además, la infiltración de detritos, sangre y suero junto con los injertos grasos, crea la impresión errónea de un aumento de volumen que en cuestión de horas disminuirá (111).

La centrifugación permite separar los componentes más densos del lipoaspirado de los menos densos, creándose tres capas bien diferenciadas. La capa más superficial y menos densa está formada principalmente por aceite, producto del contenido de adipocitos destruidos. La capa intermedia contiene principalmente tejido adiposo (en el que se incluyen adipocitos, fibroblastos, pericitos y células precursoras principalmente). La capa inferior contiene sangre, agua y los elementos líquidos añadidos a la infiltración previa a la liposucción (lidocaína, adrenalina...). Por lo tanto, se eliminan las capas superior e inferior, realizándose la infiltración con el tejido adiposo de la capa intermedia. Un trabajo publicado por Ferraro y cols. observó que las muestras de lipoaspirado centrifugadas a una fuerza superior a 50g ocasionaba daños a la integridad estructural del tejido adiposo, aumentando las tasas de necrosis y apoptosis celulares, disminuyendo la diferenciación adipogénica de células precursoras, y la neoangiogénesis (112,113). La centrifugación a velocidades altas también se ha visto asociada a un aumento de la capa inferior (líquido de alta densidad) y la oleosa; lo que estaría asociado a la destrucción de adipocitos (113).

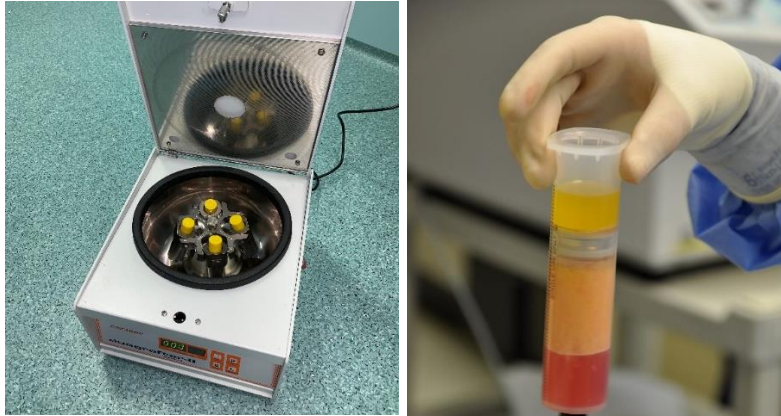


Figura 36. Izq: Centrífuga (izq). Dcha: Muestra procesada mediante centrifugación. Se observa la separación en 3 fases, una superior compuesta por aceite y restos de adipocitos fragmentados, una media compuesta por tejido adiposo, y una inferior formada por el líquido de infiltración y restos hemáticos. (114)

La sedimentación se suele realizar depositando las jeringas de lipoaspirado en gradillas verticales durante unos 10 minutos, tras lo cual se forman dos capas, una superior formada por una combinación de tejido adiposo y aceite (sin estar separados en dos fases), y una inferior, compuesta por el suero de la infiltración y sangre.

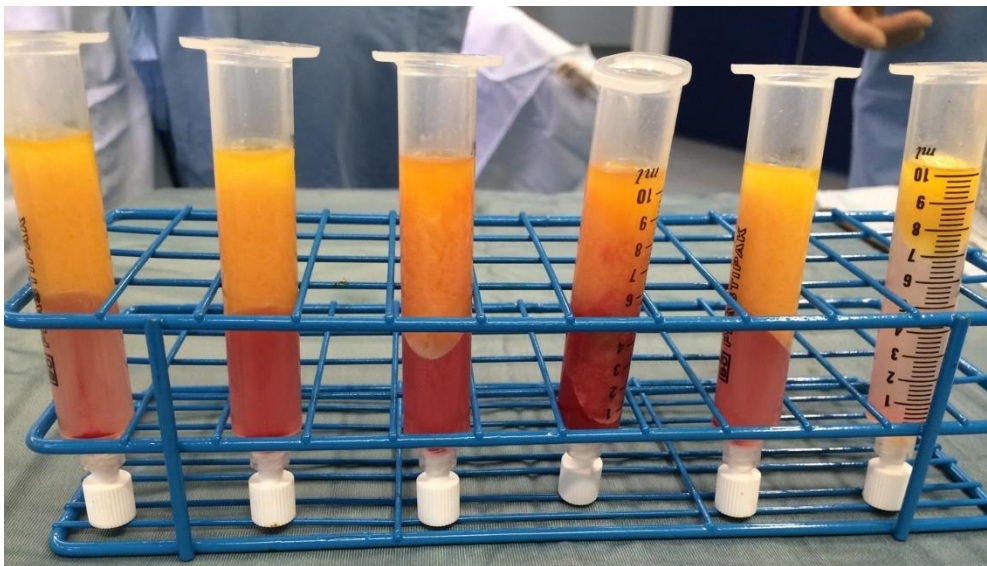


Figura 37. Muestras procesadas mediante decantación. Por efecto de la gravedad, se produce la separación en dos fases en función de su densidad, una fase superior formada por tejido adiposo y aceite, y una inferior formada por suero de infiltración y restos hemáticos, que será descartada posteriormente. (114)

El lavado consiste en la realización de una serie de varios ciclos de sedimentación, añadiéndose suero fisiológico (0,9%NaCl) a la jeringa antes de colocar la jeringa en la gradilla vertical. De esta forma, se pretende eliminar mayor cantidad de las sustancias solubles que en las muestras decantadas quedan mezcladas con el tejido adiposo en la fase superior. Los defensores de esta técnica, afirman que con los lavados se eliminan

mayor cantidad de citoquinas y otros factores proinflamatorios que podrían interferir con el prendimiento de los injertos.

La filtración consiste en hacer pasar el lipoaspirado a través de cualquier tipo de filtro (puede emplearse desde una gasa de hilo, a un colador de cocina esterilizado, o dispositivos de procesamiento de grasa comerciales con circuitos cerrados). De esta forma, se elimina buena parte de las fases oleosa y aceitosa del lipoaspirado, conservando principalmente tejido adiposo sólido.

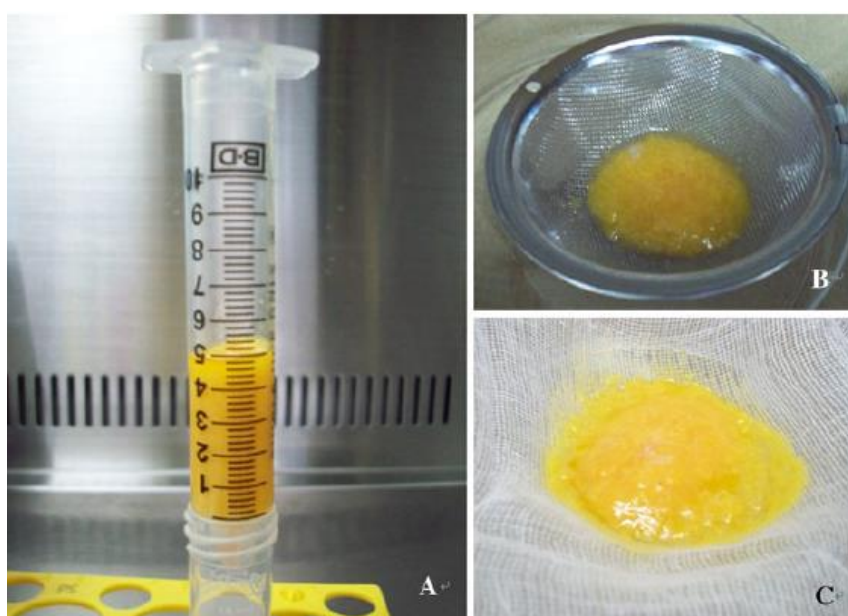


Figura 38. Procesamiento mediante filtración. Se deposita la muestra de lipoaspirado (A) sobre el filtro metálico (B) o la gasa (C) y se añade suero fisiológico para eliminar los componentes líquidos y hemáticos. (36)

La emulsificación consiste en la realización de pases entre jeringas a través de una conexión hembra o una llave de paso de vías, con el objetivo de emulsificar y fragmentar los conglomerados de tejido adiposo presente en la muestra. Este tipo de procesamiento se emplea con el fin de disponer de una muestra más fina, y reducir la posibilidad de aparición de bultos formados por esos acúmulos de tejido adiposo en la zona infiltrada. También puede emplearse para facilitar la infiltración en zonas que precisen de la utilización de agujas o cánulas muy finas (115).



Figura 39. Muestra de lipoaspirado procesada mediante emulsificación. (115)

En estudios realizados en animales, no se han observado diferencias estadísticamente significativas en el peso o arquitectura de los injertos grasos obtenidos mediante centrifugación, filtración o sedimentación (113,116-118). Existen una serie de estudios aislados realizados en humanos, que han tratado de evaluar los métodos de procesamiento de los injertos grasos, con el fin de descubrir si alguno de ellos permite obtener mejores tasas de prendimiento, o una muestra de mayor calidad. No obstante, se trata de estudios con una serie importante de limitaciones. En general, comparan pocos métodos de procesamiento entre sí y poseen tamaños muestrales muy limitados. Además, al no existir un método estandarizado de medición de resultado del prendimiento de injertos grasos, cada estudio aplica unos métodos de evaluación de resultados distintos, haciendo inviable la comparación entre ellos. Es más, ni siquiera están claramente descritas las características que caracterizarían a una muestra de lipoinjerto de alta “calidad”; y tampoco hay estudios que hayan demostrado claramente que una muestra de mayor calidad per se aumente el prendimiento de los injertos grasos.

Por lo tanto, la identificación de un método de procesamiento óptimo es una tarea pendiente, que podría aumentar la cantidad de células viables infiltradas, y en consecuencia, aumentar el prendimiento y retención de los injertos a largo plazo.

Infiltración de la grasa

A pesar de tratarse de una técnica quirúrgica con una validez extensamente reconocida, y de aplicación muy frecuente, todavía no existe un consenso sobre la mejor técnica de infiltración para optimizar los resultados del procedimiento (96). Sin embargo, el

principio básico más importante se basa en la existencia de una vascularización adecuada en la zona receptora, lo que aumentará la supervivencia de los injertos.

A través de una incisión de un tamaño que corresponda al diámetro de la cánula, el injerto es inyectado en la región anatómica que lo precise. Se considera que las cánulas de menor calibre disminuyen el trauma ocasionado a la zona receptora, reduciendo así el riesgo de sangrado, formación de hematomas, y perfusión disminuida de oxígeno al injerto (96). Debido a que la revascularización comienza en la periferia del injerto, el tiempo de isquemia es mayor en la parte central del injerto (figura 30) (111).

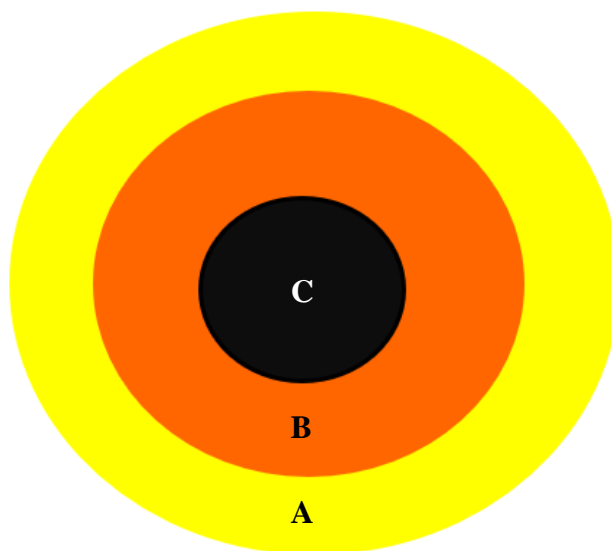


Figura 40. **A.** Zona de supervivencia: Sobreviven los adipocitos injertados. **B.** Zona de regeneración: Formada por adipocitos que se necrosaron, pero que pueden ser reemplazados por proliferación de células precursoras si las condiciones locales son favorables. **C.** Zona de necrosis: Tanto adipocitos como células precursoras son destruidas. (29)

Por lo tanto, la reinyección de pequeñas cantidades de grasa en múltiples sesiones es preferible frente a una sola sesión en la que se infiltre una gran cantidad de grasa (111). El abordaje de la zona receptora se realiza a través de múltiples vías de acceso. De esta forma se generan multitud de túneles con la introducción de la cánula, en los que se va depositando la grasa durante la retirada de la cánula (96). De esta forma, los injertos son distribuidos en pequeñas cantidades, en forma de abanico tanto en profundidad como en el eje horizontal, evitando ocasionar una excesiva presión intersticial en la zona receptora, lo que perjudicaría la vascularización de los injertos, además de aumentar el tamaño de las zonas de necrosis (96).

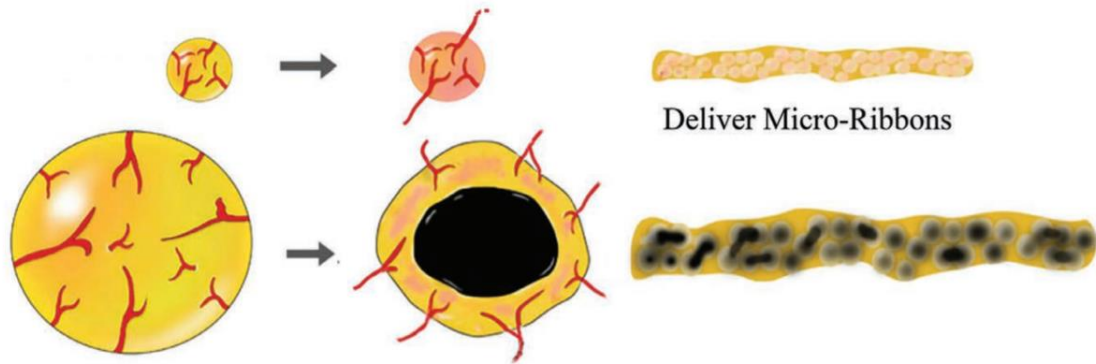


Figura 41. Solo los conglomerados con un radio inferior a 1,6mm se revascularizarán completamente con una supervivencia del 100% del injerto. Los fragmentos con un radio mayor que sufrirán inevitablemente cierto porcentaje de necrosis central. (29)

Estudios de supervivencia de los injertos grasos han observado una menor tasa de supervivencia de injertos en zonas móviles de la cara, como la glabella y los labios, que en zonas menos móviles, como la región malar o las mejillas (96). Respecto al tamaño de la cánula de infiltración, el mayor determinante es la naturaleza de la zona receptora, y la posibilidad de que unos injertos formados por fragmentos de mayor tamaño pudieran ocasionar distorsiones en el contorno, como tendría lugar al usar cánulas de gran tamaño al infiltrar grasa en párpados. Ozsoy y cols. observaron una mayor persistencia del tejido adiposo al infiltrarlo con cánulas de al menos 2,5mm de diámetro (119). Sin embargo, otros estudios no han encontrado diferencias estadísticamente significativas en función del tamaño de la cánula de infiltración (120).

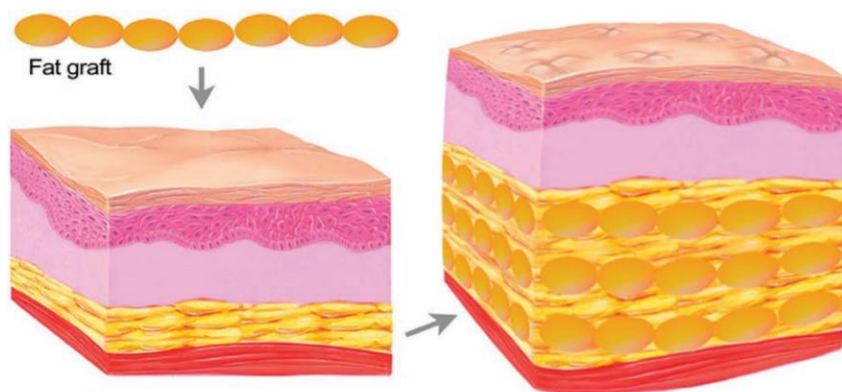


Figura 42. Infiltración lineal tridimensional de injertos. Para maximizar la interfaz de contacto entre injerto y receptor, se debe infiltrar acúmulos lineales de injerto con diámetros inferiores de 3,2mL en un patrón tridimensional. A medida que el tejido receptor se va rellenando, su distensibilidad disminuye, y aumenta la presión en el tejido intersticial, disminuyendo el flujo vascular. (29)

Importancia de las células madre derivadas de adipocitos

El autotransplante de injertos grasos ha evolucionado de forma importante en las últimas dos décadas. Se ha pasado desde un abordaje que buscaba la realización de transferencias simples de tejido graso para rellenar volumen, a transferencias de tejido adiposo realizadas con fines regenerativos y de mejora funcional de las zonas receptoras, además de aumentar su volumen; tras las investigaciones realizadas en relación al potencial regenerativo de las células madre presentes en la grasa.

Las células madre pueden clasificarse en base a su potencial de diferenciación y su origen dentro del cuerpo humano. Las células madre embrionarias son totipotentes, porque pueden convertirse tanto en estructuras embrionarias como extraembrionarias (121). Además, las células madre embrionarias pueden proliferar indefinidamente bajo ciertas condiciones de cultivo, reteniendo la capacidad de diferenciarse en tipos celulares de las tres capas germinales embrionarias (121,122). En contraste, las células madre adultas son células indiferenciadas multipotenciales, obtenidas de individuos adultos, y pueden diferenciarse en los tipos celulares que constituyen sus respectivos tejidos de origen. Esta plasticidad característica, es una de las cualidades de las células madre mesenquimales, que son células no especializadas, con capacidad de autorrenovación (123,124).

Las células madre mesenquimales humanas son células que pueden diferenciarse en otras células más especializadas, originadas del ectodermo, mesodermo y endodermo (123-125). Además, pueden abandonar su estado indiferenciado, y convertirse en otros linajes mesenquimales. Por lo tanto, pueden contribuir a la regeneración de hueso, cartílago y grasa, e incluso convertirse en células endoteliales, musculares o nerviosas, bajo condiciones fisiológicas o experimentales (123,124). Mientras que la evidencia sugiere que las células madre mesenquimales están presentes en prácticamente todos los tejidos humanos, fueron aisladas por primera vez de células extraídas de la médula ósea (123,126).

Aunque las células madre pueden obtenerse de distintas regiones y tejidos del cuerpo humano, la selección del tejido donante debe basarse en las características logísticas relacionadas con el procedimiento de extracción, las complicaciones a las que vaya asociado, y la funcionalidad real de las células madre de ese linaje tisular. Actualmente, las principales fuentes de células madre mesenquimales son la médula ósea y el tejido adiposo (126).

La obtención de células madre mediante biopsia de médula ósea es un procedimiento doloroso, que puede asociarse a complicaciones, como hemorragia o infección de la herida, siendo una fuente de células más incómoda que su extracción de sangre periférica, o de restos quirúrgicos, como el tejido adiposo, o los tejidos derivados del nacimiento. Además, la cantidad de células obtenidas mediante este procedimiento suele ser limitada.

Una de las principales ventajas del uso del tejido adiposo como fuente de células madre mesenquimales, es su abundancia en el cuerpo humano, y el hecho de que además suele ser un producto de desecho en procedimientos cosméticos y terapéuticos de liposucción. Se estima que aproximadamente el 98-100% de las células madre obtenidas del tejido adiposo son viables (125). Las características morfológicas, fenotípicas y funcionales de las células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo son similares a las de las obtenidas de médula ósea, y su capacidad de diferenciación, equiparable (127).

Más allá de su capacidad de diferenciación y autorrenovación, las células madre mesenquimales derivadas de adipocitos, secretan gran cantidad de citoquinas y factores de crecimiento con propiedades antiinflamatorias, antiapoptóticas e inmunomoduladoras. Entre ellas se incluyen el factor de crecimiento endotelial vascular, el factor de crecimiento de hepatocitos, el factor de crecimiento insulina-like, todos ellos, involucrados en la angiogénesis y la reparación tisular. Estas características, favorecen el uso de este tipo de células madre como serias candidatas para el desarrollo de terapias para el tratamiento de enfermedades isquémicas (125). Adicionalmente, debido a los efectos inmunomoduladores de estas células, y la ausencia de expresión de complejo mayor de histocompatibilidad tipo 2, suponen también unas excelentes candidatas para ser empleadas de forma coadyuvante en trasplantes alogénicos (128).

Debido a que las células madre mesenquimales son responsables de la reparación tisular, el crecimiento, la curación de heridas y la sustitución celular resultante de causas tanto fisiológicas como patológicas, existe una gran cantidad de aplicaciones clínicas en las que este recurso biológico podría ser empleado. Multitud de estudios clínicos y preclínicos están siendo desarrollados en los últimos años, explorando la aplicación de las células madre derivadas de adipocitos, en el ámbito de la curación de heridas crónicas (129,130), tratamiento de alteraciones musculoesqueléticas (131), regeneración cartilaginosa en artritis y artrosis de rodilla (132), regeneración hepática en lesiones crónicas como cirrosis hepática(133), regeneración de lesiones del sistema nervioso (134), tratamiento y

profilaxis de fistulas perianales, rectovaginales y rectovesicales en contexto de enfermedad de Crohn (135), tratamiento de la disfonía por déficit de cierre glótico (136), y un largo etcétera.

Los estudios citométricos de las células madres derivadas de tejido adiposo (CMDA) han observado la ausencia de expresión en estas células de los marcadores de superficie CD31 y CD45. A su vez, se ha reportado la presencia de los marcadores CD34, CD73, CD105, y el marcador de células madres mesenquimales CD90 (137,138). Las CMDA humanas pueden distinguirse de otros precursores mesenquimales por su patrón de expresión de marcadores de superficie. Sólo las CMDA expresan el marcador de células madre CD34 en mayores porcentajes que las células madre derivadas de médula ósea y los fibroblastos (139)

Las CMDA forman parte de la fracción vascular estromal (FVE) del tejido adiposo, junto con una población heterogénea de otros tipos celulares, incluyendo preadipocitos, células endoteliales, pericitos, células de estirpe hematopoyética y fibroblastos (140). Las características regenerativas de la FVE son atribuibles a los efectos paracrinos de las células que lo componen. Estas células liberan factor de crecimiento vascular endotelial, factor de crecimiento de hepatocitos, factor de crecimiento transformante b en presencia de estímulos como hipoxia u otros factores de crecimiento (141). Además, condiciona de forma importante la diferenciación de las células madre, promoviendo la angiogénesis y la curación de heridas, y colaborando en la proliferación y desarrollo de nuevo tejido (142).

En un trabajo publicado en 2006 por Matsumoto y cols., este grupo proporcionó evidencia a favor de un nuevo método de trasplante autólogo de injertos grasos, al cual llamaron lipotransferencia asistida por células (LAC). La LAC consiste en el trasplante simultáneo de la grasa aspirada y procesada, enriquecida con CMDA. A las CMDA, se les supone una capacidad de aumentar las tasas de supervivencia de los injertos, y disminuir la incidencia de efectos adversos de la lipoinyección, como la fibrosis, la formación de quistes, y calcificación (143). En 2013, Kolle y cols. publicaron en la revista *The Lancet* un ensayo clínico clave, que pese a disponer de un pequeño tamaño muestral, demostró el aumento del prendimiento de los injertos al ser acompañados de una cantidad suprafisiológica de CMDA (144). En este estudio, se obtuvieron inicialmente injertos de grasa del abdomen de diez sujetos voluntarios, aislándose las CMDA de las muestras de

lipoaspiradas, que posteriormente fueron cultivadas y multiplicadas durante 15 días. Pasados esos 15 días, se volvieron a extraer injertos de grasa de esos sujetos, infiltrando un bolo de 30ml de grasa procesada en un brazo, y otro bolo de 30ml de grasa procesada combinada con las CMDA cultivadas en el otro, en una cantidad 2000 veces superior a las concentraciones fisiológicamente presente en los injertos grasos. El volumen de los injertos fue evaluado mediante RM antes del procedimiento y tras 4 meses. A los 4 meses, los injertos fueron extraídos quirúrgicamente y sometidos a estudio histológico. La tasa de volumen remanente de los injertos en este estudio fue de media del 80,9% en el grupo enriquecido en CMDA, y del 16,3% en el grupo control. Además, en el estudio histológico, las muestras enriquecidas mostraron mejores características histológicas (144).

Técnica de Coleman

La técnica de Coleman focaliza sus esfuerzos en minimizar el trauma ocasionado sobre las células del lipoaspirado. Para ello, defiende la extracción del injerto con cánula de punta roma de 2 orificios y 3mm de calibre, conectada a una jeringa de 10ml (145). El cirujano debe traccionar del émbolo de la jeringa para mantener una presión negativa leve pero estable mientras realiza las pasadas a través de la zona donante. A continuación, el lipoaspirado es procesado mediante centrifugación durante 3 minutos a 3000 rpm (revoluciones por minuto). A continuación, la grasa es transferida a jeringas Luer-Lok de 1-3mL. Para la infiltración de la grasa, recomienda emplear cánulas más finas que la de extracción, con un único orificio. En el caso de los injertos faciales, recomienda el uso de cánulas de 17G's de calibre; aunque otras regiones anatómicas pueden beneficiarse del uso de cánulas más gruesas (mamas, glúteos), o más finas (párpados). El empleo de cánulas romas permite la infiltración de porciones de injerto de forma menos traumática. Sin embargo, el uso de cánulas más afiladas puede ser útil para conseguir un mayor control al realizar infiltraciones en el plano inmediatamente subdérmico, en tejido fibroso, o cicatrices. Además, una cánula con filo puede servir para liberar adhesiones cicatriciales (145).

5.2.3 Aplicaciones terapéuticas

Reconstrucción mamaria

Los injertos grasos son un recurso ampliamente utilizado en la reconstrucción mamaria. Este procedimiento representa una solución sencilla a la hora de mejorar el contorno mamario después de la realización de otro procedimiento reconstructivo. Es frecuente que después de un proceso de reconstrucción mamaria, sea esta realizada con colgajos locales o libres, implantes o expansores, existan defectos de contorno o zonas con déficit de volumen que pueden ser mejoradas con esta técnica (146,147).



Figura 43. Injerto de grasa autólogo en reconstrucción mamaria secundaria. Paciente de 39 años, mastectomizada y reconstruida con prótesis. Se realiza infiltración de injertos grasos para mejorar cicatriz deprimida. (54)

Por otra parte, los injertos grasos pueden usarse como técnica única para una reconstrucción mamaria completa, o para la realización de aumentos mamarios en el ámbito estético. No obstante, la reconstrucción mamaria completa requiere de múltiples sesiones secuenciales para alcanzar un volumen adecuado, y generalmente suele recomendarse cuando la paciente no solicite un volumen mamario de gran tamaño. Debido a que se debe esperar entre cada sesión al menos 6-8 meses para asegurar la estabilidad de los injertos previos, un proceso de aumento mamario realizado de este modo puede llegar a prolongarse hasta varios años (146).



Figura 44. Paciente mastectomizada por cáncer de mama bilateral, reconstruida mediante 2 sesiones sucesivas de injertos grasos (29)

También ha sido reportado el uso de los injertos grasos para mejorar la calidad tisular y tratar adherencias cicatriciales en pacientes que han sido sometidas a mastectomía y radioterapia. El tratamiento estándar de estos pacientes es la reconstrucción con colgajos, por el elevado riesgo de extrusión de prótesis que presentan ante la inestabilidad de la cobertura cutánea de la que disponen. No obstante, tras la realización de varias sesiones de injertos grasos, y mejorar la calidad cutánea del colgajo de mastectomía, se podría plantear una reconstrucción con expansor y prótesis, en pacientes en los que la realización de una reconstrucción con colgajos pudiera no estar indicada, o que no deseara someterse a un procedimiento de este tipo.

En casos de síndrome de Poland, los injertos grasos pueden utilizarse junto a una reconstrucción con prótesis, para rellenar los defectos subclaviculares y de la región axilar anterior, a los que la prótesis no puede aportar volumen (148).

Los injertos grasos aplicados en las mamas podrían interferir potencialmente con la detección del cáncer mamario. Sin embargo, en múltiples estudios realizados, no se ha observado evidencia de que se produzca dicha interferencia, y las tasas de detección de cáncer son similares a la reportada en pacientes que no han sido sometidas a este procedimiento (149).

Cicatrices

Las retracciones cicatriciales, y pueden llegar a comprometer la actividad diaria de un paciente, y limitar la movilidad de una articulación. Además, las cicatrices pueden causar alteraciones estéticas que también pueden afectar en forma severa la actividad social y la autoestima de una persona. Estas condiciones pueden beneficiarse del tratamiento con injertos grasos, que puede no solo rellenar cicatrices atróficas, sino que además puede permitir obtener una mejora de la contracción cicatricial (150). Esto es posible por la presencia de CMDA. Desde un punto de vista histológico, los injertos de grasa autóloga tienen la capacidad de regenerar la dermis y el tejido subcutáneo, mejorar la calidad dermohipodérmica en áreas cicatriciales, aumentando la capa grasa (generalmente destruida en caso de quemaduras, y con una regeneración escasa en otras cicatrices traumáticas), de fomentar el depósito de más colágeno, y la neoangiogénesis (151-153). En un estudio publicado por Mojallal y cols., demostraron que los injertos grasos estimulan la neosíntesis de fibras de colágeno en el área receptora, e inducen un engrosamiento de la dermis, mejorando la calidad de la piel (154). El papel de la grasa en cicatrices dolorosas es atribuido a la liberación de atrapamientos de terminales sensitivos dentro del tejido fibroso de la cicatriz, por lo que el dolor neuropático puede mejorar (153).



Figura 45. Paciente con secuela cicatricial por resección extendida por sinus pilonidal recidivado, reconstruida con dos sesiones de lipofilling y liberación de cicatrices. (29)

Quemaduras

Aunque las tasas de supervivencia en los pacientes quemados han mejorado notablemente gracias a la evolución de la medicina contemporánea, el tratamiento de las lesiones que presentan estos pacientes continúa suponiendo un reto importante en el ámbito del tratamiento de las heridas. Los pacientes que presentan quemaduras profundas, son tratados mediante retirada del tejido quemado hasta exponer tejido sano, y cobertura de estos defectos con injertos de piel, matrices dérmicas artificiales o cultivos de queratinocitos. Esto implica que en esas regiones anatómicas injertadas, la piel del paciente carecerá de una buena proporción de su dermis y de grasa hipodérmica, conduciendo a la aparición de bridas cicatriciales, y pieles duras y secas, con propensión a la epidermólisis y la aparición espontánea de heridas superficiales (154). Las cicatrices hipertróficas también suponen un problema muy frecuente en pacientes quemados (155). Por lo tanto, las secuelas de quemaduras, todavía suponen un problema de salud relevante, debido a las limitaciones estéticas y funcionales que pueden ocasionar.



Figura 46. Paciente de 16 años que sufre amputación multidigital por estallido de material pirotécnico, con contractura recurrente de la primera comisura, tras liberación de la misma con un colgajo radial. En la imagen de la izquierda se observa la capacidad de extensión preoperatoria, y en la de la derecha, la postoperatoria seis meses tras administración de una sesión de injertos grasos. (29)

La infiltración de grasa subcicatricial e intracicatricial son técnicas relativamente recientes, que pueden ayudar a mejorar la calidad de las cicatrices. En un estudio histológico realizado por Bruno y cols., reportaron que las cicatrices de quemaduras, incluso las antiguas, no pueden considerarse completamente quiescentes, ya que presentan un estado proinflamatorio e hipervascularizado (156). La aplicación de injertos grasos induce cambios importantes en ese estado, convirtiendo el tejido cicatricial

adyacente mucho más parecido al tejido sano, desde un punto de vista histológico (156). En otro estudio realizado por Brongo y cols. sobre el uso de injertos grasos en cicatrices de quemaduras, se observó la aparición de nuevos depósitos de colágeno, neoangiogénesis e hiperplasia dérmica en el tejido cicatricial.

Lipodistrofia facial asociada a VIH

La redistribución de los depósitos grasos en la lipodistrofia asociada a VIH incluye acumulación visceral de grasa en el abdomen, y acúmulo subcutáneo en mamas y regiones cervical y dorsal, con atrofia de la grasa de piernas, brazos y cara (157). Se han propuesto múltiples hipótesis para explicar su etiología, aunque la mayoría de ellas se centran en los efectos mitocondriales tóxicos y la diferenciación adipocitaria alterada inducida por los inhibidores de la proteasa y de la transcriptasa inversa (157). Siguiendo los principios estéticos y experiencias previas en relleno facial con fines estéticos (158), los injertos grasos se han empleado para el tratamiento de estos pacientes.

Modificaciones del contorno corporal y facial en contexto de cirugía estética

Los injertos de grasa autóloga poseen un papel importante en el rejuvenecimiento facial. Las propiedades regenerativas de los injertos grasos, junto a la reposición de volumen que permiten lograr, lo convierten en una técnica óptima para este ámbito. La pérdida de volumen facial, especialmente en la región periorbitaria, es un componente importante del envejecimiento, y es debido a la redistribución y atrofia de la grasa facial (159,160). Los abordajes tradicionales del rejuvenecimiento facial se han basado en técnicas de escisión, realizadas con el fin de retensar los tejidos. Al contrario, el abordaje moderno se centra en rellenar los compartimentos atrofiados, principalmente mediante los injertos grasos (161). Los inconvenientes que pueden acarrear estos procedimientos realizados en cara son la acumulación excesiva, la aparición de necrosis grasa, y bultos visibles. Debido a la delgadez de la piel de los párpados, el área periorbicular es más susceptible a este tipo de problemas, por lo que se recomienda la implantación profunda de la grasa, además del uso de cánulas de extracción e infiltración de pequeño calibre (161). Las principales indicaciones en esta área anatómica son la corrección de ojeras, como adyuvante de una blefaroplastia, o como tratamiento alternativo de atrofia malar o surcos nasogenianos muy marcados (115). En el párpado superior, las infiltraciones suelen ser realizadas para evitar el efecto de ojos vacíos por la atrofia de los compartimentos grasos (115).

El aspecto de las manos da una muestra de la verdadera edad de una persona. De hecho, existen estudios que han demostrado que era posible estimar la edad de una persona únicamente observando sus manos (162). Los efectos extrínsecos que afectan a la mano incluyen la dermatoheliosis y el fotoenvejecimiento, produciendo la aparición de arrugas, pigmentación irregular, léntigos y purpura solar, hipopigmentación, queratosis actínica, queratosis seborreica y telangiectasias (163). El envejecimiento además induce otros efectos intrínsecos como la esqueletización progresiva, por la atrofia tisular debida a la depleción de colágeno, deshidratación y atrofia grasa (164). Esto ocasiona la aparición de arrugas en la parte dorsal, y mayor visualización de los tendones extensores, observándose además las venas más tortuosas (162). Debido a que la grasa no solo sirve como relleno, sino que tiene el potencial regenerativo de mejorar la calidad de los tejidos blandos y piel, esta técnica es un procedimiento muy adecuado para el rejuvenecimiento de las manos.

En ciertos casos de rinoplastia estética, puede precisarse de la prolongación del dorso para corregir la impresión de nariz corta (165). Con este fin de aumentar el dorso, se pueden emplear injertos autólogos de cartílago u otros tejidos, y prótesis sintéticas. En los casos en los que se precise de un aumento de volumen sutil, se pueden emplear injertos grasos para proporcionar esa impresión de prolongación de la nariz. Además, se pueden emplear pequeñas cantidades de grasa para corregir pequeños defectos, en el contexto de las técnicas conocidas como rinodelación, que se realizan con mayor frecuencia utilizando ácido hialurónico (165).

El aumento mamario y la corrección de asimetrías mamarias ya han sido mencionados anteriormente en el ámbito reconstructivo. Una de las principales ventajas en este ámbito, es que estos procedimientos pueden realizarse de forma ambulatoria, y que se evitan las complicaciones asociadas al uso de prótesis (166). Sin embargo, el uso de esta técnica en el aumento mamario estético es poco frecuente, por la necesidad de realizarla en varios tiempos quirúrgicos, lo que requiere de varias intervenciones seriadas, aumentando el tiempo necesario para conseguir el resultado deseado, con el consiguiente aumento de costes que conlleva (167).



Figura 47. Aumento mamario en paciente de 23 años mediante dos sesiones sucesivas de injertos grasos. (29)

Otras indicaciones

Existen una serie de patologías en las que los injertos grasos están empezando a encontrar nuevos usos, tanto por sus propiedades de relleno, como por las regenerativas.

Este es el caso del tratamiento de la disfonía por insuficiencia glótica mediante laringoplastia de medialización con injertos grasos, abordada extensamente a lo largo de este trabajo. Históricamente, se han empleado los materiales de relleno que se encontraban disponibles en el arsenal terapéutico de cada momento, y actualmente, ha adquirido un gran interés el uso de injertos grasos, en paralelo a su uso en otros muchos ámbitos como producto de relleno (29).

Las aplicaciones de los injertos grasos continúan extendiéndose, encontrándose en fase de investigación, o con cierta experiencia clínica ya en nuevos ámbitos como el tratamiento de la insuficiencia velofaríngea leve o moderada (168), el tratamiento de fístulas anovaginales (169), disfunción eréctil (170), osteoartritis articular (171) etc.

5.2.4. Complicaciones

Las complicaciones que afectan a la zona donante suelen ser mínimas, siendo las mismas que en cualquier procedimiento de liposucción: equimosis, edema, formación de hematomas, parestesias, dolor, infección, irregularidades del contorno, y daño a estructuras subyacentes, como por ejemplo, por perforación peritoneal (172,173). En el proceso de inyección, pueden aparecer zonas de necrosis grasa, con formación de quistes oleosos y calcificación, cuando se inyectan volúmenes elevados de grasa en una misma

zona, o si se realiza en una región mal vascularizada. Estos cambios conllevan la aparición de bultos palpables debido a esa necrosis grasa. Además, estas masas pueden confundir el diagnóstico clínico de recurrencias locales en pacientes con cáncer de mama, y llevar a la realización de pruebas de imagen adicionales y biopsias innecesarias en un 3-15% de las pacientes (172,173). En una revisión realizada por Agha y cols., que incluía 24 estudios, fueron reportadas 207 complicaciones de 2832 mamas tratadas. La necrosis grasa supuso el 62% de las complicaciones reportadas (174). Por otra parte, la complicación más severa que puede tener lugar en un procedimiento de injertos grasos, es la embolia grasa. Para reducir la incidencia de esta complicación, se recomienda verificar la ausencia de reflujo hemático a la jeringa antes de la infiltración, realizar la infiltración lentamente y a baja presión, y emplear cánulas de punta roma (175). En infiltraciones faciales, esta complicación suele atribuirse a la infiltración en zonas de paso de vasos de cierto calibre, como los surcos nasogenianos, y puede ocasionar embolia de vasos oftálmicos u otras ramas de la carótida interna (175). Hasta la fecha, han sido publicados al menos 16 casos de muertes por embolia grasa masiva asociadas a la realización de lipoinjertos administrados en región glútea (176). Esta complicación es debida a la lesión de vasos glúteos durante el procedimiento y la entrada de los injertos grasos a la circulación (176).

5.3 Justificación

Hasta el año 2016 sólo habían sido publicadas 4 series de pacientes intervenidos mediante laringoplastia de medialización de cuerdas vocales con infiltración de injertos de grasa autóloga obtenidos mediante liposucción. Hasta esa fecha, la tendencia principal era emplear grasa obtenida a modo de biopsia y fragmentada manualmente con bisturí. Además, hasta ese mismo año, no se había publicado ningún estudio en el que se emplearan injertos grasos procesados mediante centrifugación para la realización de este procedimiento.

Los buenos resultados reportados en la bibliografía con el empleo de este “nuevo” material de relleno para el tratamiento de la insuficiencia glótica, asociado a la posibilidad de conseguir por primera vez en este tipo de técnicas un relleno autólogo, sin posibilidad de rechazo, y permanente, condicionó el comienzo de la realización de este tipo de procedimientos en colaboración entre la Sección de Laringología y Oncología del Servicio de Otorrinolaringología y el Servicio de Cirugía Plástica y Quemados del Hospital La Fe.

La revisión de los resultados obtenidos por nuestros pacientes, supone un trabajo necesario para garantizar, por un lado, que la selección de las indicaciones está siendo adecuada, y que la técnica está realizándose correctamente. Además, el carácter pionero de esta técnica, con la utilización de grasa lipoaspirada y centrifugada, supone una innovación de este tipo de procedimientos, que podría mejorar los resultados de la cirugía de la voz.

Por otra parte, existe una cantidad limitada de estudios que se hayan centrado en la evaluación de los distintos métodos de procesamiento de la grasa lipoaspirada antes de su infiltración. La literatura existente es muy heterogénea, y los estudios publicados reportan resultados contradictorios, habiendo trabajos que han obtenido mejores resultados con el procesamiento de la grasa mediante centrifugación, decantación, filtrado, lavados, etc. Uno de los principales problemas de estos estudios es la ausencia de un método estandarizado de evaluación de resultados; lo que limita la posibilidad de realizar comparaciones entre los distintos trabajos. Otro inconveniente de las publicaciones existentes, es que sólo se han publicado tres estudios que hayan comparado a la vez más de tres tipos de procesamientos; por lo que las distintas metodologías aplicadas en cada trabajo hacen imposible la comparación simultánea de los resultados de esta literatura

científica. Por otra parte, además de existir una escasa cantidad de estudios centrados en evaluar la cantidad de células madre presentes en función del tipo de procesamiento, en cada uno de estos trabajos se han empleado marcadores celulares distintos para definir la célula madre mesenquimal derivada de tejido adiposo, y en algunos casos, se han incluido células de estirpe epitelial o vascular en los contajes.

Por los motivos anteriormente expuestos, resulta imprescindible la realización de nuevos estudios centrados en el procesamiento de las muestras de lipoaspirado para conocer de forma fehaciente si existen diferencias reales entre los distintos métodos, o si el método empleado no modifica la composición de la grasa o el resultado de la infiltración de forma significativa.

- Hipótesis y objetivos -

6. Hipótesis y objetivos

6.1 Hipótesis principales

El tratamiento de la disfonía por déficit de cierre glótico mediante infiltración de injertos grasos autólogos procesados mediante centrifugación y emulsificación, permite obtener una mejoría en la calidad de la voz.

En función del tipo de procesamiento aplicado sobre los injertos grasos obtenidos mediante lipoaspiración, su composición será distinta. Por tanto, se prevé que debe existir un tipo de procesamiento que proporcione una muestra con mejores características que los demás.

6.1.1 Hipótesis secundarias

Los pacientes que sufren disfonía por déficit de cierre glótico de etiología cicatricial, obtienen menos mejoría en las pruebas de calidad de voz que los casos de etiología no cicatricial, y son más susceptibles de precisar reintervenciones.

La exposición de los injertos grasos a lidocaína 2% no altera la viabilidad de las células presentes ni su capacidad de proliferación.

6.2 Objetivos

- Evaluar los resultados funcionales obtenidos tras la realización de laringoplastia de medialización mediante injertos de grasa autóloga procesada mediante centrifugación y emulsificación, en una serie de pacientes afectados de disfonía por déficit de cierre glótico.
- Detectar la existencia de diferencias en la mejoría de los parámetros funcionales de la voz de los pacientes tras la realización del procedimiento, en función de la etiología de la disfonía
- Estudiar las diferencias en cuanto a cantidad y viabilidad de las células de la fracción vascular estromal y la cinética de crecimiento en cultivo celular de las muestras de lipoaspirado, en función del tipo de procesamiento que es aplicado.
- Evaluar el efecto de la exposición del lipoaspirado a lidocaína 2% y la posible aparición de alteraciones de la proliferación o de la supervivencia celular.
- Determinar el método de procesamiento del lipoaspirado que permita obtener una mayor concentración de células madre derivadas de tejido adiposo (CMDA).

- Material y método -

7. Material y método

El trabajo reportado en este manuscrito consiste en la combinación de dos estudios.

- A) En la primera sección, se ha realizado una revisión de una serie retrospectiva/prospectiva de casos de pacientes con disfonía por insuficiencia glótica intervenidos mediante laringoplastia de medialización con inyección de injertos grasos procesados mediante centrifugación y emulsificación.
- B) En la segunda sección, hemos realizado un estudio experimental en el que se han evaluado las muestras de lipoaspirado obtenidas de pacientes voluntarios, procesadas mediante siete métodos distintos. Los parámetros evaluados en cada uno de estos métodos han sido: índices de proliferación celular, contajes de células, viabilidad adipocitaria y cuantificación de células madres mesenquimales procedentes de tejido adiposo (CMDA).

7.1 Serie de pacientes con disfonía por insuficiencia glótica tratados mediante laringoplastia de medialización con inyección de injertos grasos

7.1.1 Revisión bibliográfica

En primer lugar, se realizó una revisión bibliográfica de la literatura en las bases de datos Pubmed y Scopus, empleando la combinación de términos “vocal cord” AND “fat graft” AND/OR “liposuction”. Se seleccionaron artículos en lengua española o inglesa, sin restricción de fecha de publicación. Las referencias de los artículos seleccionados fueron empleadas para incluir de forma manual artículos adicionales que no habían sido recopilados en la búsqueda electrónica.

Se consideraron artículos elegibles los que presentaban series de casos de pacientes con disfonía por insuficiencia glótica de cualquier etiología, intervenidos mediante laringoplastia de medialización mediante infiltración de injertos de grasa autóloga en cuerdas vocales, independientemente del método de obtención y procesamiento de la grasa. Se excluyeron los trabajos que no presentaban evaluación de sus resultados postoperatorios enfrentados a los preoperatorios. También fueron excluidos los estudios que no describían la técnica quirúrgica empleada para la obtención de los injertos grasos; y los escritos en lenguas distintas al inglés y castellano.

7.1.2 Cuerpo del estudio. Revisión clínica

Se realizó una revisión retrospectiva y prospectiva desde el comienzo de este estudio, de las historias clínicas de 25 pacientes intervenidos mediante laringoplastia de medialización con infiltración de injertos de grasa autóloga en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, entre enero de 2015, y mayo de 2019. Este estudio cuenta con la aprobación del comité de ética de investigación con medicamentos (CEIM) del Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital La Fe.

En la primera visita, además de los datos demográficos de cada paciente, se registró la etiología de la disfonía. Tanto en la primera visita como en la revisión de los ocho meses, se realizaron dos grabaciones de voz: una realizando una fonación continua del sonido /e/, y otra leyendo los dos primeros párrafos del libro *Platero y yo* del escritor Juan Ramón Jiménez. Para la grabación, se colocó un micrófono a aproximadamente 15cm de la fuente de voz, para evitar la interferencia del aire emitido. El software y el dispositivo empleado para el análisis acústico de la voz fue el modelo 4500 de KayPentax (Pentax Medical, Tokyo, Japón). Todos los pacientes habían realizado rehabilitación supervisada por foniatría durante al menos un año sin obtener mejoras significativas en la calidad de la voz. Los pacientes firmaron de forma simultánea el consentimiento informado quirúrgico y el de participación en este estudio.

Como método subjetivo de valoración de la voz por parte del paciente, se utilizó la encuesta estandarizada Voice Handicap Index 10 (VHI-10) en su versión adaptada y validada al español (28). Como método de evaluación perceptual de voz se utilizó la escala GRABS, aplicada por dos especialistas en Otorrinolaringología de la Sección de Laringología y Oncología del Servicio de Otorrinolaringología del Hospital La Fe (177). Las grabaciones utilizadas para la determinación de la puntuación GRABS fueron en las que se leía el texto de *Platero y yo*, y fueron evaluadas de forma ciega respecto al momento de la grabación (el evaluador desconocía si eran preoperatorias o postoperatorias). Como métodos objetivos de evaluación de la voz, se midieron el tiempo máximo de fonación (TMF), shimmer, jimmer y razón armónico-ruido (RAR). El TMF, shimmer, jitter y RAR fueron evaluados, utilizando la grabación de la fonación continua del sonido /e/. En la valoración preoperatoria en consulta se realizó un estudio estroboscópico por parte de un especialista en otorrinolaringología de la Sección de Laringología y Oncología, además de la aplicación de la encuesta VHI-10, la escala GRABS; y el registro del TMF, jitter, shimmer y RAR. A los 8 meses de la intervención

se realizó una nueva evaluación mediante la encuesta VHI-10, escala GRABS, estroboscopia, registro del TMF, jitter, shimmer y RAR. Además, se registró mediante una escala subjetiva el grado de satisfacción con la comunicación por vía telefónica.

En cuanto al estudio estadístico, se calculó media, desviación estándar (DE) y error estándar de la media. En cuanto a la comparación de los valores preoperatorios de las variables de resultado con los valores postoperatorios, se realizó a través del test no paramétrico de Wilcoxon. Se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$ y muy significativa una $p < 0,001$. El software empleado para la ejecución del estudio estadístico fue SPSS Statistics IBM.

Técnica quirúrgica

El procedimiento es realizado bajo anestesia general e intubación orotraqueal. Se realiza infiltración de 100mL de solución (constituida por suero fisiológico, con adición de noradrenalina a una concentración de 1:1.000.000) en abdomen, a través de dos puertos de abordaje laterales. Bajo condiciones estériles, y tras esperar durante 15 minutos para obtener el efecto vasoconstrictor de la adrenalina, se inicia el proceso de lipoaspiración, utilizando una cánula de tipo Standard de 3mm de calibre, unida a una jeringa luer-lock de 20cc's, aplicando 10cc's de presión negativa para la extracción del lipoaspirado. Tras la extracción de la grasa, la muestra es procesada mediante centrifugación (Duografter-II®, Proteal, Soluciones Biorregenerativas, Barcelona) a 300g durante 3 minutos. Posteriormente, la muestra es emulsificada realizando 8 pases entre jeringas de 5mL a través de una llave de paso de vía periférica. A continuación, el lipoaspirado procesado es transferido a una jeringa de 1mL. Bajo laringoscopia directa en suspensión, y mediante microcirugía endolaríngea, se realiza infiltración directa de los injertos grasos a través de una aguja laríngea de 23G. Tras la realización de la infiltración, con una sobrecorrección del volumen objetivo de entorno al 20-40%, se utiliza una torunda de gasa para masajear la zona infiltrada y distribuir el injerto. Al terminar el procedimiento, se aplicó un vendaje adhesivo compresivo abdominal, que sería reemplazado posteriormente por una faja abdominal para la prevención de hematomas y optimización del control de las molestias postoperatorias. En el postoperatorio no se guarda reposo vocal ni se realiza tratamiento logopédico.

7.2 Estudio experimental de métodos de procesamiento de injertos grasos

7.2.1 Revisión bibliográfica

En primer lugar, se realizó una revisión bibliográfica de la literatura en las bases de datos Pubmed y Scopus, empleando la combinación de términos “fat graft” AND “processing” AND/OR “adipose derived stem cells”. Se seleccionaron artículos en lengua española o inglesa, sin restricción de fecha de publicación. Las referencias de los artículos seleccionados fueron empleadas para incluir de forma manual artículos adicionales que no habían sido recopilados en la búsqueda electrónica.

Se consideraron artículos elegibles los que estudiaran de forma comparativa al menos dos métodos diferentes de procesamiento de injertos grasos. Se incluyeron estudios in vitro, en animales, y en humanos. Los estudios centrados en métodos distintos al procesamiento del lipoaspirado, fueron excluidos. Además, se rechazaron estudios en los que se emplearan distintas técnicas de lipoaspirado entre los distintos grupos, o cuando se añadieron factores de crecimiento, células madre, u otro tipo de sustancias al lipoaspirado. También se descartaron los estudios que evaluaban dispositivos comerciales de procesamiento de grasa. Los reportes de casos y artículos de opinión de expertos fueron excluidos.

Los estudios fueron clasificados en base al tipo de sujetos empleados. Los estudios in vitro, se centraron en analizar la viabilidad adipocitaria, el número de CMDA, y la cuantificación de factores de crecimiento. Los estudios en animales se centraron en la retención de volumen (o peso del injerto) y en los hallazgos histológicos de la grasa trasplantada, como presencia de quistes, cuantificación de inflamación, fibrosis, vascularización y/o integridad. Los estudios humanos se centraron en emplear pruebas de imagen tridimensionales para medir el volumen retenido en distintos periodos, o la satisfacción evaluada a través de cuestionarios.

7.2.2 Cuerpo del estudio. Estudio de las muestras de grasa

Las muestras fueron estudiadas en la Facultad de Farmacia de la Universidad Cardenal Herrera, en colaboración con el grupo de investigación “Aplicación clínica de las células

mesenquimales procedentes de tejido adiposo” liderado por la Dra. Isabel Guillén Salazar.

Se analizaron las muestras de lipoaspirado extraídas de 16 pacientes voluntarios, que habían sido sometidos a procedimientos de injertos de grasa autóloga para el tratamiento de disfonía por déficit de cierre glótico o lipofilling mamario. Se excluyeron del estudio pacientes que hubieran sufrido cirugías abdominales previas o procedimientos estéticos que pudieran alterar la calidad de la grasa abdominal; además de pacientes que hubieran padecido pérdida masiva de peso o lipodistrofias de cualquier etiología.

La parte experimental del estudio se dividió en dos fases sucesivas, incluyéndose 5 pacientes en la primera fase, y 11 en la segunda, en las cuales se estudiaron diferentes parámetros de las muestras. La segunda fase surgió a consecuencia de los resultados obtenidos en la primera fase, para comprobar si los hallazgos encontrados se justificaban por la presencia de una mayor cantidad de células madre con los tipos de procesamiento en los que se observó una mayor proliferación celular.

Todas las muestras fueron obtenidas de la región abdominal, y la técnica quirúrgica de extracción aplicada, descrita a continuación y realizada por el mismo cirujano (ESG) en todos los casos. Todos los pacientes fueron intervenidos en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia. Las muestras de lipoaspirado de cada paciente fueron procesadas mediante siete métodos distintos:

- A.** Centrifugación a 300G durante 3 minutos, descartando las fases oleosa y acuosa
- B.** Centrifugación a 300G durante 3 minutos, descartando las fases oleosa y acuosa.
A continuación, se realizó emulsificación de la muestra, mediante 8 pases entre jeringas de 5mL unidas mediante una llave de paso de vía periférica.
- C.** Centrifugación a 300G durante 3 minutos, descartando las fases oleosa y acuosa.
A continuación, se realizó emulsificación de la muestra, mediante 20 pases entre jeringas de 5mL unidas mediante una llave de paso de vía periférica.
- D.** Centrifugación a 300G durante 6 minutos, descartando las fases oleosa y acuosa
- E.** Decantación durante 15 minutos, descartando la fase acuosa inferior
- F.** Decantación y realización de 3 lavados de la muestra con suero fisiológico, descartando la fase acuosa inferior tras pasar 10 minutos desde la adición de suero fisiológico

- G. Decantación durante 15 minutos, descartando la fase acuosa inferior, y combinación de la muestra con lidocaína 2%

7.2.2.1. Primera fase: Cuantificación, viabilidad y crecimiento

Inicialmente, las muestras de lipoaspirado fueron procesadas mediante exposición a colagenasa a una concentración de 10mg/mL, durante 90 minutos a una temperatura de 37°C en agitación continua, para liberar las células del estroma estructural del tejido adiposo. Posteriormente, fueron pasadas a través de un filtro celular (*Falcon*®) de 100 micras, y centrifugadas a 300G durante 10 minutos. Seguidamente, se vuelve a realizar un lavado con suero fisiológico, y centrifugación de nuevo a través del filtro celular.

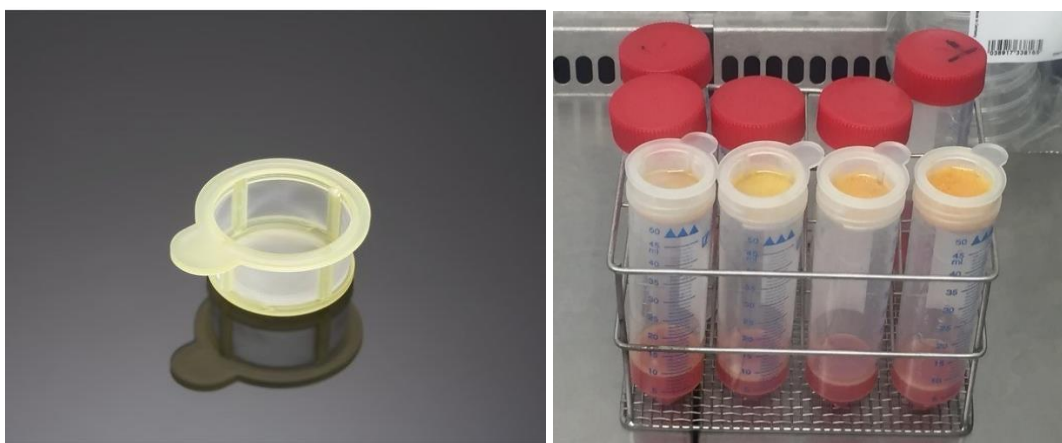


Figura 48. Izquierda: filtro celular de 100 micras (*Falcon*®). Derecha: viales con filtro celular, con muestra de lipoaspirado ya procesada mediante centrifugación. El sobrenadante corresponde a adipocitos y detritos del tejido adiposo y del intersticio.

A continuación, se realizó un estudio de la viabilidad celular mediante análisis a través de cámara de Neubauer de las 35 muestras de los 5 pacientes estudiados. Tras ello, las muestras fueron sembradas en medios celulares (DMEM 10%FBS), realizándose contaje celular y evaluación bajo microscopía tras tinción con hematoxilina y aceite rojo, tras 24 y 72 horas de cultivo. La cuantificación celular se realizó mediante observación a través de cámara de Neubauer por parte de la Dra. Isabel Guillen Salazar y María José Vázquez Tatay; y se realizaron cinco contajes por cada tipo de procedimiento, utilizando la media de los cinco resultados como la variable final.

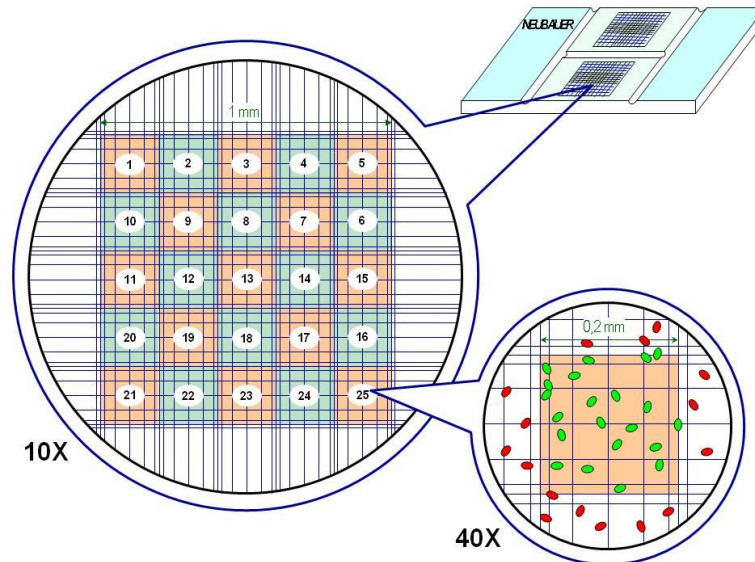


Figura 49. Se muestra el funcionamiento de la cámara de Neubauer. Es una plantilla cuadrículada que se coloca entre el visor del microscopio y la muestra, permitiendo dividir la muestra en campos y cuantificar el contenido de cada sección.

En cuanto al estudio estadístico, se empleó el software IBM SPSS statistics. Se realizaron en primer lugar dos test de Friedman para detectar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre la cantidad de células observada tras cada tipo de procesamiento a las 24h y 72h. Cuando se observaron diferencias estadísticamente significativas con este test en los grupos analizados a las 24h, se realizaron test de Wilcoxon múltiples bidireccionales para detectar qué muestras presentaban esas diferencias estadísticamente significativas.

7.2.2.2. Segunda fase: Cuantificación de células madre y viabilidad

Tras preparación del contenido celular de las muestras de lipoaspirado mediante exposición a colagenasa y filtración siguiendo el mismo protocolo de la 1ª fase, se realizó una contabilización de la presencia de células madre mesenquimales mediante citometría flujo (FACS-Canto II®, BD Biosciences, San José, Estados Unidos) en las 28 muestras de los 4 pacientes estudiados. Se consideraron células objetivo las que presentaban presencia simultánea de marcadores celulares asociados a células madre mesenquimales de estirpe adiposa (CD90, CD34, CD105), y ausencia de marcadores asociados a células de estirpe endotelial (CD31-) y mieloide (CD45-). Los anticuerpos monoclonales empleados fueron anti-CD105-PE, anti-CD90PerCP-eFluo710, anti-CD34APC (eBioscience Inc., San Diego, Estados Unidos) y anti-CD45-PE (BD Pharmingen, BD Biosciences, San Diego, Estados Unidos)

- Resultados -

8. Resultados

8.1 Serie de pacientes con disfonía por insuficiencia glótica tratados mediante laringoplastia de medialización con injertos grasos

8.1.1 Revisión bibliográfica

En total, se identificaron 274 trabajos a través de las búsquedas en las bases de datos. Después de la revisión de los resúmenes, 30 de los artículos fueron considerados elegibles para su inclusión en nuestro estudio. 244 trabajos fueron descartados por no tratar sobre pacientes intervenidos mediante laringoplastia de medialización con infiltración de injertos grasos. 4 artículos fueron excluidos debido a que no realizaban una evaluación comparativa preoperatoria y postoperatoria de sus resultados. 3 estudios fueron descartados por descripción limitada de la técnica quirúrgica, y 2 trabajos más se descartaron por estar escritos en chino. 8 artículos que sí cumplían los criterios de inclusión fueron localizados a través de la bibliografía de los artículos incluidos en el estudio. Por lo tanto, finalmente 29 estudios fueron incluidos en nuestra revisión.

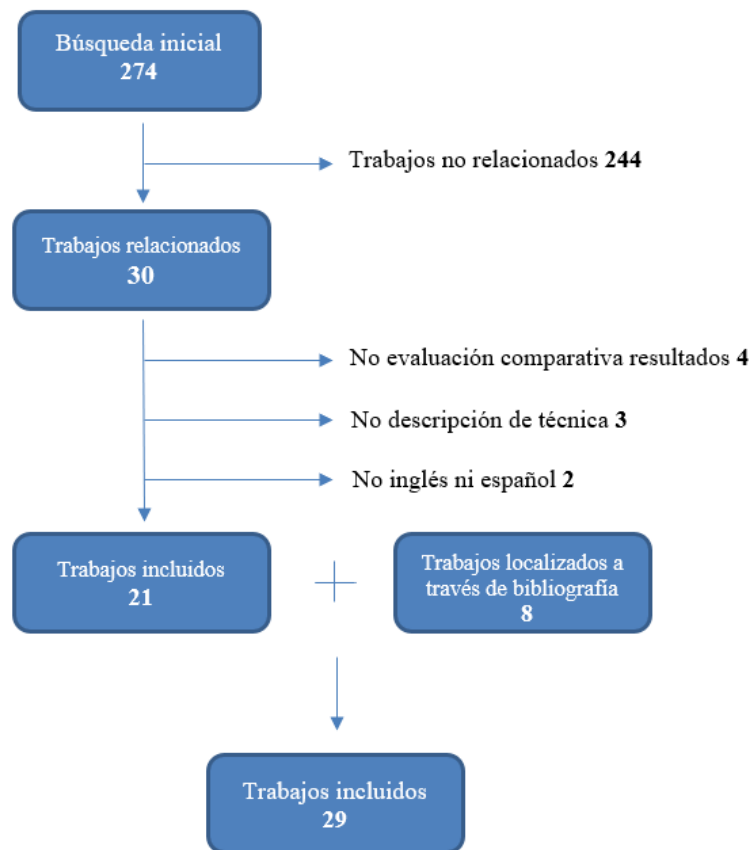


Figura 50. Diagrama de flujo de la revisión bibliográfica

Resultados

Autor	Año	Obtención	N	Edad (m(rank))	Etiología	Anestesia	Infil	Grasa inyectada (mL (media))	Evaluación resultado	Seguim. (meses)	Mejoran	No mejora	Recurrencia
Mikaelian D ⁴²	1991	Biopsia abd	3	64 (62-66)	Parálisis unilateral	General	1	-	TMF, J, Sh	12	TMF, J, Sh	-	-
Brandenburg J ⁴³	1992	Biopsia abd	12	(34-79)	P/u, Atrofia	General	1	-	TMF	5-42	TMF	-	No
Brandenburg J ⁵⁸	1996	Biopsia abd	10	(43-79)	P/u, Atrofia	General	1	-	RM	4-30	-	-	No
Shindo L ⁵⁹	1996	Biopsia abd	21	-	Parálisis unilateral	General	1	-	Subjetivo RM	6-12	-	-	4
Shaw G ¹⁹⁰	1997	Biopsia muslo	22	(28-81)	P/u, Atrofia	General	1	-	GRABS, J, Sh	12	GRBS, J, Sh	A	No
Neunschwander ¹⁷⁸	2001	Lipo	8	34,5	Cicatriz	General	-	-	GRABS	1-57	GRAS	B	No
Tucker H ¹⁸⁹	2001	Biopsia mentón	23	-	Parálisis unilateral	General	-	-	Subjetivo	6-24	-	-	1
Mc Culloch T ¹⁹³	2002	Biopsia abd	31	56 (14-88)	Parálisis unilateral	General	-	-	-	6-72	-	-	4
Havas T ¹⁹⁴	2003	Biopsia abd	45	(15-73)	Parálisis unilateral	General	1-2	-	TMF	2-96	TMF	-	4 (9%)
Umeno H ¹⁷⁹	2005	Lipo - Filtr	41	57 (25-78)	Parálisis unilateral	General	1-2	0,5-6 (2,6)	TMF	1-24	TMF	-	No
Hsiung M-W ¹⁹⁵	2006	Biopsia abd	101	-	P/u, sulcus	General	1	-	Subjetivo	5-38	-	-	30 (30%)
Hartl DM ¹⁹⁶	2009	Biopsia abd	46	-	Parálisis unilateral	General	1	-	J, Sh	24	J, Sh	-	6 (13%)
Sanderson JD ¹⁹⁷	2009	Biopsia abd	98	57,4	P/u, Sulcus, Presbi	General	-	-	-	-	-	-	No
Fang T-J ⁵⁶	2009	Biopsia abd	28	50 (33-67)	Parálisis unilateral	General	1	0,5-2 (1,2)	TC, TMF, J, Sh	12-26	TMF, J, Sh	-	No
Fang T-J ¹⁹¹	2010	Biopsia abd	33	45,9 (15-78)	Parálisis unilateral	General	1	0,5-2	TMF, J, Sh	12	TMF, J	Sh	No
Umeno H ¹⁸⁰	2012	Lipo	73	58 (25-78)	Parálisis unilateral	General	1-2	0,5-6 (2,7)	TMF	3-62	TMF	-	No
DeFatta RA ¹⁸¹	2013	Lipo - Lavado	60	-	P/u, Sulcus, Atrofia	General	1-3	-	Cierre glotico	3-34	Cierre glotico	-	-
Lodder WL ¹⁸	2014	Biopsia abd	33	-	P/u, Sulcus, Atrofia	General	1-2	0,1-0,9	VHI	3	VHI	-	-
Benninger M ⁴⁷	2015	Biopsia abd	43	57 (23-92)	P/u, Sulcus, Presbi	General	1	-	VHI, TMF	1-15	VHI, TMF	-	No
Tamura E ⁵⁷	2015	Biopsia bichat	8	54,7 (40-75)	Parálisis unilateral	General	1	0,8-1,2 (1,03)	TC	4-12	-	-	No
Pagano R ¹⁸²	2016	Lipo - Centr	18	61,5 (22-77)	Parálisis unilateral	General	1	0,15-1,5 (0,75)	GRABS-I VHI, TMF, J	12-58	GRAB, VHI, TMF, J	S-I	-
Khadivi E ¹⁸³	2016	Lipo - Centr	20	43,4 (20-57)	Parálisis unilateral	General	-	1,5-3	TMF, J, Sh	6-21	TMF, J, Sh	-	-
Hu H-C ¹⁸⁴	2016	Lipo - Filtr	9	56,7 (41-66)	Granuloma	Local	1-2	-	GRABS, VHI, TMF, J, Sh	3-38	A, TMF, J	GRBS, VHI, Sh	No
Tsou Y ¹⁹²	2016	Biopsia abd	17	53,5 (31-71)	Parálisis unilateral	General	1	1,5-2	GRABS, TMF, J, Sh	-	TMF	GRABS, J, Sh	-
Elbadan H ¹⁸⁵	2017	Lipo - Filtr	16	(23-66)	Parálisis unilateral	General	1	-	GRABS, TMF, J, Sh	12	GRABS, TMF, J, Sh	-	No
Maccarini AR ¹⁸⁶	2018	Lipo - Centr	22	60 (32-79)	Parálisis unilateral	Local	1	2,0-3	GRABS, VHI, TMF	6	GRAB, VHI, TMF	S	No
Cantarella G ⁶⁰	2019	Lipo - Centr	79	(16-82)	P/u, Cicatriz	General	1-2	0,2-3	GRABS, VHI, TMF, TC y RM	12-120	GRABS, VHI, TMF	-	No
Tran HV ¹⁸⁷	2019	Lipo - Centr	41	44 (25-66)	Parálisis unilateral	General	1-2	0,5-1	GRABS, VHI, TMF, J, Sh	6	GRABS, VHI, TMF, J, Sh	-	No
Dominguez L ¹⁸⁸	2019	Lipo	15	60,7	P/u, Atrofia	General	1	-	VHI	19	VHI	-	No

Tabla 2. Lista de estudios sobre series de pacientes intervenidos mediante laringoplastia de medialización con injertos grasos. Infil: Infiltraciones. abd: abdominal. Lipo: liposucción. Centr: centrifugación. Filtr: filtración. P/u: parálisis unilateral de cuerdas vocales. Presbi: presbilinge. TMF: tiempo máximo de fonación. J: jitter. Sh: shimmer. VHI: Voice Handicap Index. Seguim: seguimiento.

Características de los estudios

Los trabajos revisados fueron publicados entre 1991 y 2019. La población conjunta de la suma de todas las series publicadas es de 976, con un rango de pacientes que oscila entre 3 y 101. Las series de pacientes reportadas tenían como causa de la insuficiencia glótica parálisis unilateral de cuerdas vocales en 17 estudios; parálisis unilateral y alteraciones congénitas (sulcus) o adquiridas (cicatriciales) en 11 de los trabajos revisados, y secuelas cicatriciales únicamente en el artículo restante.

Los detalles de cada estudio, se encuentran resumidos en la tabla 2. Sólo se ha podido realizar un análisis descriptivo, debido a que las variables de resultado y los métodos empleados en cada estudio son demasiado heterogéneos como para realizar otro tipo de análisis.

Técnica quirúrgica (Obtención, procesamiento, infiltraciones)

De los 29 estudios, 17 de ellos obtuvieron los injertos grasos mediante biopsia, y 12 mediante liposucción. Antes del año 2016, sólo 4 (178-181) de los 20 estudios publicados hasta entonces emplearon grasa extraída mediante liposucción. Desde 2016 hasta la actualidad, 8 de los 9 estudios publicados en ese rango temporal emplearon grasa obtenida mediante lipoaspirado, observándose un claro cambio de tendencia (60,182-188). Los injertos grasos tomados como biopsia fueron obtenidos de región abdominal en 14 estudios, y en los 3 restantes, de mentón (189), bola de Bichat (57), y muslo (190) respectivamente. Los injertos obtenidos mediante liposucción, fueron procesados mediante centrifugación en 5 trabajos (182,183,186,187,60) (todos posteriores a 2015), filtración en 3 publicaciones (179,184,185), decantación en 3 (178,180,188), y lavado más decantación en el restante (181).

En 27 de los trabajos, los procedimientos fueron realizados bajo anestesia general e intubación orotraqueal, mientras que en 2 estudios se realizaron en consulta con anestesia local (184,186). En 16 estudios se realizó una infiltración única en cada paciente, en otros 7 se realizaron 1 o 2 infiltraciones en casos con escasa mejoría, en 1 estudio entre 1 y 3 infiltraciones, y en los 5 estudios restantes no se describe la cantidad de procedimientos realizados. La cantidad de grasa infiltrada osciló entre 0,1 y 6mL, no habiéndose reportado este dato en 17 de los estudios.

Evaluación de resultados

Los periodos de seguimiento en los estudios revisados oscilaron entre los 3 y los 120 meses. En cuanto a los métodos de evaluación de voz, el tiempo máximo de fonación (TMF) fue empleado en 16 estudios; la medición del jitter y el shimmer en 11 estudios; la escala GRABS en 9 estudios y la encuesta VHI-10 en 7 estudios. En cuanto a los estudios centrados en la medición del volumen de grasa prendida, 2 realizaron evaluación de resultado mediante TC (56,57), 2 mediante RM (58,59), y 1 combinó ambas pruebas (60). No obstante, las evaluaciones no estaban adecuadamente estandarizadas, y sólo en el estudio de Cantarella y cols. se realizaron pruebas preoperatorias y postoperatorias, aunque los tiempos en los que se realizaron las postoperatorias fueron heterogéneos (60). En 5 estudios, se utilizaron escalas subjetivas no estandarizadas, y en 3 se evaluó el cierre glótico.

En todos los estudios que incluyeron métodos estandarizados de evaluación de voz (escala GRABS, encuesta VHI, TMF, jitter, shimmer), se reportó una mejora estadísticamente significativa de los parámetros evaluados, a excepción de 6 estudios en los que algunas variables no obtuvieron mejoras significativas. En el trabajo de Shaw, no se observó una mejoría postoperatoria estadísticamente significativa en el parámetro Astenia de la escala GRABS (190); en el trabajo de Neuenschwander no mejoró el parámetro Rugosidad de la misma escala (178), en el estudio de Maccarini no mejoró el parámetro S (esfuerzo) (186), y en el de Fang tampoco se observó mejoría del shimmer (191). En el estudio publicado por Hu, no se observaron mejoras estadísticamente significativas en los parámetros GRBS, ni en la encuesta VHI-10, ni en el shimmer, aunque el tamaño muestral fue muy reducido (n=9), lo que puede haber condicionado no encontrar esas diferencias (184). El estudio de Tsou tampoco observó mejorías en la escala GRABS, jitter ni shimmer, pero igualmente, disponía de un tamaño muestral muy limitado (n=17) (192). Todos los demás parámetros del resto de estudios obtuvieron mejoras estadísticamente significativas.

Seis estudios reportaron recurrencias del grado de disfonía previo a la intervención durante los meses siguientes al procedimiento (59,189,193-196). Todos esos estudios fueron anteriores al 2009, y en todos ellos se había empleado grasa obtenida mediante biopsia. 17 estudios reportaron ausencia de recurrencia del grado de disfonía preoperatorio a lo largo del curso postoperatorio en toda su serie de pacientes. El resto de estudios no mencionaron este factor.

8.1.2 Cuerpo del estudio. Serie clínica de pacientes sometidos a laringoplastia

Se realizaron 30 procedimientos de laringoplastia de medialización mediante inyección de injertos grasos procesados mediante centrifugación y emulsificación en 25 pacientes entre julio de 2015 y mayo de 2019. Todas las intervenciones fueron realizadas en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe, en colaboración entre el Servicio de Cirugía Plástica y Quemados y la Sección de Laringología y Oncología del Servicio de Otorrinolaringología.

De los 25 pacientes, 20 eran varones y 5 mujeres. La edad media fue de 57,5 (18-80). 23 de ellos realizaron el seguimiento completo, sometiéndose a las pruebas de evaluación a los 8 meses del procedimiento. El tiempo medio de seguimiento en consulta fue de 21,3 meses (ds 11,5). 21 de los pacientes sufrían de disfonía por insuficiencia glótica a consecuencia de defectos de tejidos blandos, siendo la etiología por secuelas de resección de lesiones de las cuerdas vocales en 17 pacientes, y por sulcus vocalis en los 4 restantes. Además, 3 pacientes padecían parálisis de largo tiempo de evolución, y 1 distonía. La afectación fue unilateral en 18 pacientes, y bilateral en los 7 restantes. 5 pacientes que sufrían disfonía severa recibieron un procedimiento adicional de infiltración de injertos grasos ante la existencia de resultados poco satisfactorios a los 12 meses de la intervención.

Variables	
Género	
- Mujeres	5
- Hombres	20
Edad (ds)	57,5 (17,98)
Seguimiento (ds)	21,3 (11,45)
Etiología	
- Sulcus	4
- Cicatricial	17
- Parálisis	3
- Distonía	1
Volumen infiltrado	0,1-0,6
Nº intervenciones	
- 1	20
- 2	5
Lateralidad	
- Izquierda	12
- Derecha	5
- Bilateral	8

Tabla 3. Variables demográficas de los pacientes intervenidos mediante laringoplastia de medialización con injertos grasos

Resultados

Nº	Edad	Sexo	Etiología	Lado	VHI	G	R	A	B	S	TMF (s)	J (%)	Sh (%)	RAR (dB)	Seg (mes)	Nº Qx	Volumen (mL)	VHI	G	R	A	B	S	TMF (s)	J (%)	Sh (%)	RAR (dB)
1	47	H	Sulcus	Izq	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55	2	0,3	28	3	3	2	1	3	5,28	4,6	6,7	0,27
2	68	H	Cicatricial	Izq	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35	2	0,3	21	3	2	2	1	2	4,21	5,2	8,4	0,19
3	65	H	Cicatricial	Bilat	23	2	2	2	1	2	3,78	8,6	14,32	0,12	35	1	0,3	11	2	1	2	1	2	4	6,6	12,9	0,35
4	39	H	Sulcus	Izq	25	2	2	2	1	3	4,4	4,2	8,72	0,14	35	1	0,3	14	1	2	0	0	1	6,22	2,1	5,3	0,26
5	59	H	Cicatricial	Bilat	29	3	3	1	2	3	6,3	5,4	24,6	0,23	34	2	0,3	13	3	3	1	1	3	8,2	3,2	23,2	0,33
6	18	M	Sulcus	Bilat	17	2	2	1	0	1	7,3	6,1	12,1	0,32	32	1	D:0,1 l:0,2	12	2	1	0	0	1	12,1	4,2	9,6	0,41
7	49	H	Cicatricial	Dcha	23	2	2	1	1	3	5,2	3,4	6,64	0,19	32	1	0,3	11	1	1	1	0	2	8,31	2,1	4,3	0,24
8	63	H	Cicatricial	Izq	11	1	1	1	2	1	7,89	2,8	9,33	0,23	24	1	0,3	21	1	1	0	0	0	11,95	1,6	7,2	0,18
9	47	H	Cicatricial	Dcha	20	2	1	2	1	2	19,3	2,5	5	0,1	24	1	0,1	24	2	2	0	0	1	24,59	2	6,4	0,15
10	53	M	Cicatricial	Izq	27	3	1	3	3	0	6	6,7	11,17	0,45	24	2	0,1	27	2	1	3	3	0	12,54	3,4	5,2	0,2
11	23	H	Distonía	Bilat	16	2	2	2	1	2	7,13	2,3	3,54	0,13	23	1	0,2	8	1	1	2	1	2	19,3	1,8	2,7	0,16
12	50	H	Sulcus	Izq	28	3	3	2	1	3	5,28	2,4	4,32	0,11	23	2	0,3	12	2	2	2	1	2	9,71	1,7	4,1	0,14
13	70	H	Cicatricial	Izq	21	3	2	2	1	2	4,21	9,3	26,42	0,31	23	2	0,3	9	3	1	2	1	2	3,86	10,8	26,6	0,48
14	60	H	Cicatricial	Bilat	13	3	3	1	1	3	8,2	3,2	23,2	0,33	21	2	D:0,1 y l:0,2	15	2	2	0	0	2	10,86	6,4	20,7	0,34
15	29	H	Sulcus	Bilat	36	3	2	2	2	2	4,6	6,2	18,43	0,21	21	1	0,6	32	2	1	2	1	1	12,1	3,2	14,7	0,31
16	80	M	Cicatricial	Izq	25	2	2	1	2	1	3,42	8,3	9,41	0,16	21	1	D:0,3 y l:0,1	13	1	1	1	2	1	3,7	3,2	6,7	0,18
17	60	M	Cicatricial	Izq	26	2	1	1	2	0	8,75	7,6	10,62	0,41	21	2	D:0,4 y l:0,1	13	1	1	1	2	1	6,88	6,5	8,2	0,27
18	76	H	Cicatricial	Dcha	22	2	2	1	1	3	6,86	5,3	14,57	0,31	9	1	D:0,2 y l:0,1	10	1	1	0	0	1	15,92	4,6	16,2	0,37
19	66	H	Cicatricial	Izq	9	2	2	2	0	2	7,5	5,6	17,72	0,34	21	1	D:0,1 y l:0,5	13	2	2	1	1	2	7,42	9,9	20,5	0,69
20	61	H	Cicatricial	Izq	21	2	0	3	2	1	3,79	6,0	11,89	0,32	32	1	0,2	13	2	0	2	1	1	6,32	6,2	10,4	0,33
21	67	H	Cicatricial	Dcha	8	2	2	1	0	1	9,8	3,6	10,13	0,19	10	1	0,3	11	1	1	1	0	1	11,85	2,9	9,5	0,23
22	74	H	Cicatricial	Dcha	22	2	2	2	1	2	7	2,7	4,14	0,11	10	1	0,3	15	1	1	1	1	1	10,71	2,4	3,8	0,21
23	53	M	Cicatricial	Izq	27	2	1	3	3	2	12,54	3,4	5,27	0,2	10	2	0,3	33	2	1	2	2	2	17,52	5,5	11,9	0,4
24	20	H	Cicatricial	Dcha	27	1	0	1	2	1	4,82	3,9	6,04	0,13	9	1	0,8	9	1	0	1	1	0	10	1,5	4	0,09
25	80	H	Parálisis	Bilat	15	1	1	2	2	1	6,76	2,7	3,05	0,13	10	1	D:0,2 y l:0,3	12	1	1	1	1	1	12,33	2,1	3	0,19
26	59	M	Parálisis	Izq	27	2	1	2	2	1	6,52	2,9	11,5	0,19	9	1	0,4	7	1	1	1	0	0	10,3	2	2,2	0,14
27	74	H	Parálisis	Bilat	28	3	1	2	3	1	5,66	2,2	2,82	0,11	9	1	D:0,2 y l:0,3	14	2	1	2	2	1	8,8	2,1	2,9	0,1
28	77	H	Cicatricial	Izq	26	2	2	1	1	3	5,24	7,3	14,48	0,26	9	1	0,3	22	2	2	1	2	1	5,69	7,2	17,3	0,52
29	60	M	Cicatricial	Izq	13	1	1	1	2	1	6,88	6,5	8,28	0,27	9	2	D:0,2 y l:0,3	24	1	1	1	1	1	8,7	4,6	7,6	0,18
30	78	H	Cicatricial	Izq	27	3	2	2	1	2	12,6	6,3	17,64	0,37	9	1	0,3	15	2	1	1	1	2	14,2	5,8	13,8	0,39

Tabla 4. Tabla que muestra los procedimientos realizados en pacientes que padecían disfonía de diversa etiología, y los resultados previos al tratamiento (en la parte izquierda de la tabla) y ocho meses después de la infiltración (parte derecha de la tabla). VHI = voice handicap index. G R A B S = parámetros de escala GRABS. Fo = frecuencia fundamental. TMF = tiempo máximo de fonación. J = jitter. Sh = shimmer. RAR = razón armónico-ruído

En cuanto a complicaciones del procedimiento, una de las pacientes que recibió dos infiltraciones grasas reportó clínica disneica leve durante dos meses tras la segunda intervención, que remitió espontáneamente. No apareció ningún caso de hematoma que precisara drenaje, presentando la mayoría de los pacientes un grado mínimo de equimosis en la zona donante que remitió espontáneamente. En ninguno de los pacientes que presentaban buenos resultados a los 8 meses hubo regresión o empeoramiento de la disfonía.

La calidad de la voz en la serie de pacientes intervenidos mejoró poco después de la cirugía. La estabilidad de las mejoras obtenidas fue objetivada con la evaluación realizada a los 8 meses. El estudio estadístico mediante el test de Wilcoxon objetivó una mejoría estadísticamente significativa en todos los parámetros de la escala GRABS respecto a los valores preoperatorios (tabla 5). También se observó una mejoría estadísticamente significativa en la valoración subjetiva mediante la escala VHI-10 ($p < 0,002$). El parámetro de tiempo máximo de fonación obtuvo una mejora de un valor medio de 7,06 (ds 3,33) a 10,52 (ds 4,78), siendo estadísticamente significativas las diferencias observadas ($p < 0,001$). El jitter disminuyó de un valor medio de 5,06 (ds 2,44) a 4,16 (ds 2,51) ($p < 0,004$) y el shimmer de un valor medio de 11,26 (ds 6,56) a 10,07 (ds 6,83) ($p < 0,02$). La razón armónico-ruido aumentó de un valor medio de 0,23 (ds 0,1) a 0,28 (ds 0,14) ($p < 0,017$) (tabla 6).

De los 5 pacientes que fueron reintervenidos con una segunda infiltración de injertos grasos, tres de ellos obtuvieron mejoría en todos los parámetros evaluados, mientras que 2 de ellos obtuvieron mejorías discretas en los parámetros objetivos, y reportaron un empeoramiento subjetivo en la encuesta VHI-10. La etiología de cuatro de los cinco casos reintervenidos fue cicatricial tras resección de lesión tumoral, mientras que la del restante fue por sulcus vocalis grado III.

<i>Parámetro</i>	<i>Preoperatorio (media (ds))</i>	<i>Postoperatorio (8m) (media (ds))</i>	<i>p</i>
<i>Grade</i>	2,14 (0,65)	1,61 (0,63)	<0,001
<i>Roughness</i>	1,64 (0,78)	1,21 (0,63)	<0,002
<i>Asthenia</i>	1,68 (0,67)	1,14 (0,8)	<0,001
<i>Breathiness</i>	1,46 (0,84)	0,93 (0,81)	<0,002
<i>Strain</i>	1,75 (0,93)	1,25 (0,75)	<0,003

Tabla 5. Resultados en test GRABS preoperatorio y postoperatorio a los 8 meses. ds = desviación estándar

<i>Parámetro</i>	<i>Preoperatorio media (ds)</i>	<i>Postoperatorio (8m) media (ds)</i>	<i>p</i>
<i>VHI - 10</i>	21,86 (6,82)	15,46 (6,95)	<0,002
<i>TMF</i>	7,06 (3,33)	10,52 (4,78)	<0,001
<i>Jitter</i>	5,06 (2,44)	4,16 (2,51)	<0,004
<i>Shimmer</i>	11,26 (6,56)	10,07 (6,83)	<0,02
<i>RAR</i>	0,23 (0,1)	0,28 (0,14)	<0,017

Tabla 6. Resultados preoperatorios y postoperatorios a los 8 meses en las pruebas evaluadas. TMF = Tiempo máximo de fonación. VHI = Voice handicap index. RAR = Razón armónico-ruído

8.2 Estudio experimental de métodos de procesamiento de injertos grasos

8.2.1 Revisión bibliográfica

En total, se identificaron 232 trabajos. Después de la revisión de los resúmenes, 45 de los artículos fueron considerados elegibles para su inclusión en nuestro estudio. 15 artículos fueron excluidos debido a que no comparaban entre sí al menos dos métodos de procesamiento distintos. 6 estudios fueron descartados porque incluían la adición de factores biológicos al lipoaspirado. 6 estudios fueron excluidos porque emplearon dispositivos comerciales para el procesamiento de las muestras. 2 trabajos fueron descartados porque no realizaban evaluación de resultados. Por lo tanto, finalmente incluimos 20 estudios en nuestra revisión. 8 artículos que sí cumplían los criterios de inclusión fueron localizados a través de la bibliografía de los artículos incluidos en el estudio. Por lo tanto, finalmente 29 estudios fueron incluidos en nuestra revisión.

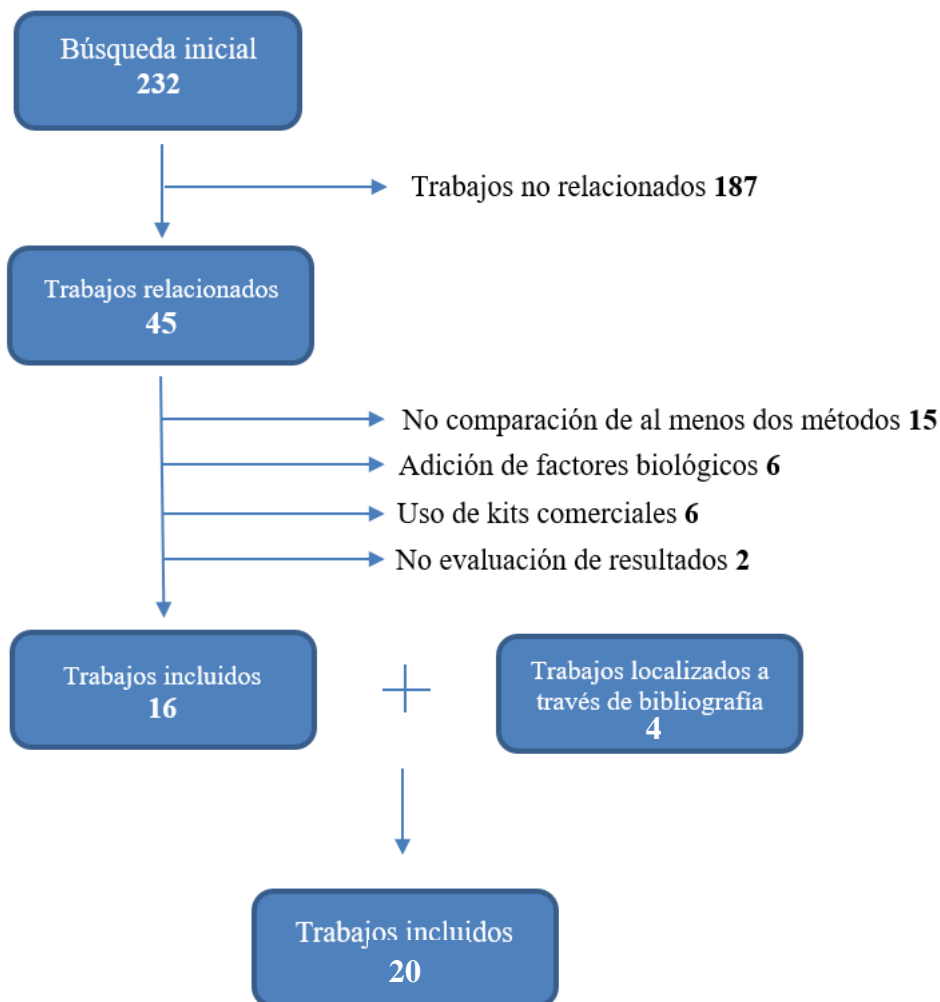


Figura 51. Diagrama de flujo de la revisión bibliográfica

<i>Primer autor</i>	<i>Año</i>	<i>N</i>	<i>Métodos</i>	<i>Características injerto</i>	<i>Evaluación de resultado</i>	<i>Mejor proceso</i>	<i>Influencia Lidocaína</i>	<i>Marcadores (CD's)</i>
<i>Butterwick KJ</i> ²¹⁹	2002	14	D,C	Autoinjerto	Encuesta paciente y observador	C	-	-
<i>Khater RH</i> ²²⁰	2008	30	L,C	Autoinjerto	Encuesta paciente y observador. H	L	-	-
<i>Khater RH</i> ²¹¹	2009	51	L,C	Autoinjerto	Encuesta paciente y observador. H	L	-	-
<i>Botti G</i> ²²²	2011	25	C,LF	Autoinjerto	Encuesta paciente	=	-	-
<i>Asilian A</i> ²²¹	2014	16	C,F	Autoinjerto	Encuesta paciente y observador	=	-	-
<i>Rohrich R</i> ²⁰⁷	2004	5	D,C	In vitro	Viabilidad Ad	=	-	-
<i>Rose JG</i> ²⁰²	2006	24	D,L,C	In vitro	Ad	D	-	-
<i>Conde-Green A</i> ²⁰³	2010	20	D,L,C	In vitro	CMDA, Ad	L	-	105,34,-45
<i>Conde-Green A</i> ²⁰⁴	2010	10	D,C	In vitro	CMDA, Ad	=	-	105,34,-45
<i>Zhu M</i> ²²⁴	2013	22	D,C,LF	In vitro	% fase agua/aceite. Viabilidad Ad	LF	-	-
<i>Tonnard P</i> ¹¹⁵	2013	3	F,E	In vitro	Citometría. Viabilidad Ad	F	-	34
<i>Pfaff M</i> ²⁰⁸	2014	5	C,F	In vitro	Citometría. Viabilidad Ad	F	-	105,90,73,44
<i>Palumbo P</i> ²²³	2015	5	D,C	In vitro	Citometría	=	-	105,90,-45
<i>Fisher C</i> ²¹³	2013	1	D,C,F	In vitro + Xenoinjerto (H-R)	FVE. % fase agua/aceite. H(1,5m)	F	-	-
<i>Salinas H</i> ²¹⁴	2014	9	CS,CI,F	In vitro + Xenoinjerto (H-R)	Citometría. % fase agua/aceite. H	=	-	73,90,-45,-105
<i>Canizares O</i> ²¹⁶	2017	45	D,C,F	In vitro + Xenoinjerto (H-R)	Citometría. Ad funcionantes. H	F	-	105,-45,-31
<i>Smith P</i> ¹¹⁷	2006	57	D,L,C,LC	Xenoinjerto (H-R)	Viabilidad Ad, H(2,5m), Peso inj	=	-	-
<i>Minn KW</i> ¹¹⁴	2010	18	C,F	Xenoinjerto (H-R)	Viabilidad Ad, H(2,5m), Peso inj	=	-	-
<i>Hoerau L</i> ²¹⁷	2013	36	D,CS,CI	Xenoinjerto (H-R)	Viabilidad Ad, H(1m), Citoquinas	CS	-	-
<i>Girard A</i> ²¹⁸	2015	2	D, L, C, LC. +Li y -Li	Xenoinjerto (H-R)	H (1mes)	LC > C > L > D	Negativa en D. Nada en resto	-

Tabla 7. Lista de estudios sobre métodos de procesamiento del lipoaspirado evaluados en la revisión bibliográfica. D: Decantación. C: Centrifugación. CS: Centrifugación suave. CI: Centrifugación intensa L: Lavados. F: Filtración. E: Emulsificación. Li: Lidocaína. H-R: De humanos a ratones. Ad: Adipocitos.

Características de los estudios

De los 20 estudios analizados, 8 de ellos estudiaron muestras de lipoaspirado humano in vitro. 7 estudios emplearon como sujetos de estudio a ratones inmunodeprimidos que recibieron injertos grasos humanos, y los 5 estudios restantes evaluaron injertos grasos autólogos infiltrados en humanos para distintas aplicaciones. Los tamaños de las poblaciones de cada estudio, y las técnicas de evaluación de resultado, están resumidos en la tabla 7. Sólo se ha realizado un análisis descriptivo, debido a que las variables de resultado y los métodos empleados en cada estudio son demasiado heterogéneos para realizar otro tipo de análisis.

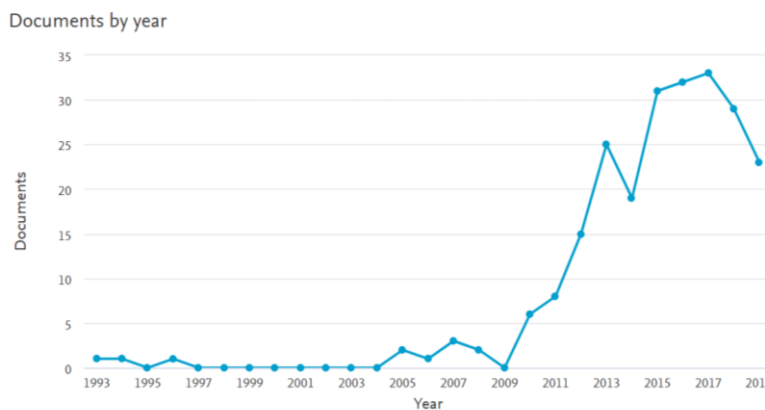


Figura 52. Se observa el aumento del interés por el ámbito de las células madre derivadas de tejido adiposo en los últimos años. Fuente: Scopus

Técnicas de procesamiento

19 de los estudios incluyeron el empleo de protocolos de centrifugación. No obstante, la velocidad fue diferente en prácticamente todos los estudios. Además, 11 de los estudios describían la velocidad de centrifugación en términos de rpm (revoluciones por minuto), sin definir la fuerza de centrifugación (g), ni el radio de la centrífuga (parámetro necesario para realizar la conversión de revoluciones por minuto a fuerza de centrifugación).

$$Fuerza\ g\ (RCF) = (rpm)^2 \times 1.118 \times 10^{-5} \times r$$

Donde: g = Fuerza centrífuga relativa; r = Radio del rotor (cm); rpm = Revoluciones por minuto

Conversión de las fuerzas medidas en g (RCF) a revoluciones por minuto (rpm) (145)

La decantación simple fue empleada en 11 estudios y la filtración con gasa o filtro metálico en 9. El lavado con decantación fue evaluado en 7 estudios.

Viabilidad celular in vitro

La centrifugación durante distintos periodos de tiempo (2,4,6 o 8 minutos) a 50g no afectó la viabilidad celular en un estudio (198).

En un trabajo publicado por Kim y cols. el número de células viables disminuyó al aumentar la fuerza centrífuga por encima de 6149g (199). En contraste, otros estudios no encontraron una correlación entre aumento de la velocidad de centrifugación por encima de 20.627g (200) ni a 4200g (201) y disminución de células viables. En otro estudio publicado por Ferraro y cols., la viabilidad tampoco fue alterada al aplicar fuerzas de centrifugación mayores. Sin embargo, se observaron más células apoptóticas a 1500g durante 3 minutos, en comparación con 50g durante 10 minutos o 250g durante 5 minutos (112).

Centrifugación frente a decantación

En varios estudios, la centrifugación se asoció a presencia de menos células intactas (202-204) y a más células alteradas (205) en comparación con la decantación. En contraste, un estudio publicado por Piasecki y cols. reportó una mejor viabilidad celular en muestras centrifugadas (a 228g durante 3 minutos) que en muestras decantadas (206), y un estudio publicado por Rohrich y cols., no observó diferencias entre centrifugación y un control decantado (207).

Filtración

Dos estudios reportaron un número significativamente superior de células viables empleando filtración con gasa, en comparación con centrifugación (a 1000 y 1500 rpm durante 3 minutos) (208,209). Otros dos estudios reportaron mejor viabilidad celular con la filtración respecto a la decantación (206,210). En otro estudio, realizado por Minn y cols, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a viabilidad entre centrifugación (1800g durante 3 minutos) y filtrado con gasa (114).

Lavado

En un estudio publicado por Khater y cols., en el estudio histológico de las muestras lavadas, se observó una mayor cantidad de preadipocitos que en las muestras centrifugadas (211). Aunque el procesamiento mediante lavado combinado con centrifugación mostró una viabilidad celular menor comparada con la decantación (202), lavado sin centrifugación (212,117), o centrifugación sola (212,117), esta diferencia no fue significativa en todos los estudios.

Células madre derivadas de tejido adiposo (CMDA)

Varios estudios se han centrado en cuantificar la presencia de CMDA y FVE en función de los métodos de procesamiento. Los resultados reportados hasta la fecha son heterogéneos y contradictorios. En los dos estudios de Conde-Green, se observó una cantidad de CMDA significativamente superior en el pellet del lipoaspirado centrifugado, respecto a la capa media de la muestra centrifugada (203,204). Sin embargo, el perfil de marcadores de membrana empleados en esos estudios resultó bastante limitado e inespecífico respecto a los marcadores asociados a CMDA. Los trabajos de Pfaff y Fisher reportaron resultados significativamente mejores mediante la filtración respecto a la centrifugación, en cuanto a número de CMDA (208) y FVE (213). Por otra parte, otro estudio que empleó un panel más riguroso de marcadores de CMDA, no encontró diferencias estadísticamente significativas entre la filtración con gasa y la centrifugación (214).

Modelos animales: Volumen de injerto persistente y estudio histológico

En todos los estudios animales se emplearon xenoinjertos (grasa humana trasplantada a ratas atímicas). Debe destacarse que ninguno de los 7 estudios realizó las biopsias con periodos de seguimiento superiores a 2,5 meses. Sólo un estudio encontró diferencias estadísticamente significativas entre métodos de procesamiento, observándose un mayor volumen de injerto mantenido con la filtración, con un 70% de media de retención en comparación con el 47% de los lipoaspirados centrifugados (213). A nivel histológico, las diferencias fueron mínimas. Un estudio encontró una disminución en la tasa de fibrosis en las muestras procesadas mediante filtración, frente a centrifugación (215). Sin embargo, el estudio de Minn y cols., no observó diferencias histológicas entre muestras

procesadas mediante filtración y centrifugación (206). El resto de estudios no encontraron diferencias estadísticamente significativas en ningún aspecto entre los distintos métodos de procesamiento (117,214,216-218).

Modelos humanos: Volumen de injerto y satisfacción subjetiva

Cinco estudios abordaron los métodos de procesamiento de injertos grasos en humanos. En cuatro de ellos se administraron en región facial, y en el restante, en manos. Los estudios de Butterwick y Ferraro y cols., reportaron mayor satisfacción asociada a las regiones que recibieron lipoaspirado centrifugado respecto a las que recibieron grasa procesada mediante decantación (112,219). En otros dos estudios, las encuestas de satisfacción favorecieron las muestras procesadas mediante lavados frente a las centrifugadas (211,220). Por último, los estudios publicados por Asilian y cols. y Botti y cols. no encontraron diferencias estadísticamente significativas en la satisfacción de pacientes en los que se administraron injertos de grasa procesados mediante centrifugación o filtración (221,222).

8.2.2 Cuerpo del estudio. Estudio y análisis de las muestras de grasa.

Las muestras de lipoaspirado fueron obtenidas de pacientes sometidos a laringoplastia de medialización mediante infiltración de injertos grasos (10 sujetos) y a lipofilling mamario (6 sujetos). Los pacientes firmaron el consentimiento informado previo a la intervención para donar el excedente de lipoaspirado no utilizado. 16 pacientes colaboraron en el estudio, de los cuales 9 eran mujeres, y 7 varones. Su edad media fue de 53,9 años (ds 17,9). El peso medio de los participantes fue de 71,3kg (ds 9,1), altura de 166,2cm (ds 6,5) e IMC de 25,8kg/m² (ds 2,8). Todas las muestras de lipoaspirado fueron obtenidas de la región abdominal. Cinco pacientes (3 mujeres y 2 varones) formaron parte de la primera fase del estudio, y 11 sujetos (6 mujeres y 5 varones) formaron parte de la segunda fase.

8.2.2.1. Primera Fase: Cuantificación, viabilidad y crecimiento

La media de edad de los 5 pacientes que participaron en la primera fase del estudio fue de 53,2 años (ds 18,7). Su peso medio fue de 72,2kg (ds 10,5), altura de 166,4cm (ds 6,3) e IMC de 26 (ds 2,6). En el estudio de viabilidad celular mediante cámara de Neubauer, se observó una supervivencia de más del 95% de las células presentes en todas las muestras, independientemente del tipo de procesamiento utilizado.

<i>Paciente</i>	<i>Edad</i>	<i>Sexo</i>	<i>Peso (kg)</i>	<i>Altura (cm)</i>	<i>IMC (kg/m²)</i>	<i>Proced.</i>	<i>Donante</i>	<i>Comorbilidades</i>
1	29	H	65,3	166	23,7	L. ccvv	Abdomen	Sulcus vocalis
2	76	H	87	171	29,8	L. ccvv	Abdomen	Cáncer de laringe, exfumador, HTA, DM, DL,
3	42	M	59,8	156	24,6	L. mama	Abdomen	Fumadora
4	53	M	72	172	24,3	L. mama	Abdomen	Cáncer de mama
5	66	M	77	167	27,6	L. ccvv	Abdomen	Cáncer de laringe, exfumador, FA, HTA, Depresión

Tabla 8. Datos demográficos y clínicos de pacientes de la primera fase del estudio de la grasa. Proced. = procedimiento. L. = Lipofilling. ccvv = cuerdas vocales. HTA = hipertensión arterial. DM = diabetes mellitus. DL = displipemia. AIT = accidente isquémico transitorio.

En la evaluación de la cinética de crecimiento de las distintas muestras, se observó una cantidad inicial de células (tras 24h de cultivo) superior en las muestras decantadas (E,F,G) que en las centrifugadas (A,B,C,D) (tablas 10). Al realizar la prueba de Friedman para comparación de muestras múltiples dependientes, se observó existencia de diferencias estadísticamente significativas dentro de los grupos evaluados (p<0,001). No

obstante, al realizar un test de Wilcoxon bilateral múltiple, sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los pares de procedimientos A-F, B-E, B-F, B-G, D-F; y tras aplicar la corrección de Bonferroni para ajuste de comparaciones múltiples, solo persistieron las diferencias estadísticamente significativas en el par B-F (Tabla X3).

No obstante, tras 72 horas de cultivo, se observó una proliferación mayor en las muestras centrifugadas que en las decantadas, llegando a equipararse los contajes celulares en ambos tipos de muestra (tablas 10). Al realizar el test de Friedman para detectar existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos a las 72h, no se observó existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,678$). Por lo tanto, no se observaron diferencias significativas entre las muestras centrifugadas sometidas a procedimientos adicionales como emulsificación, ni en las muestras decantadas sometidas a lavados con suero fisiológico. La lidocaína no afectó negativamente ni a la proliferación ni a la supervivencia celular.

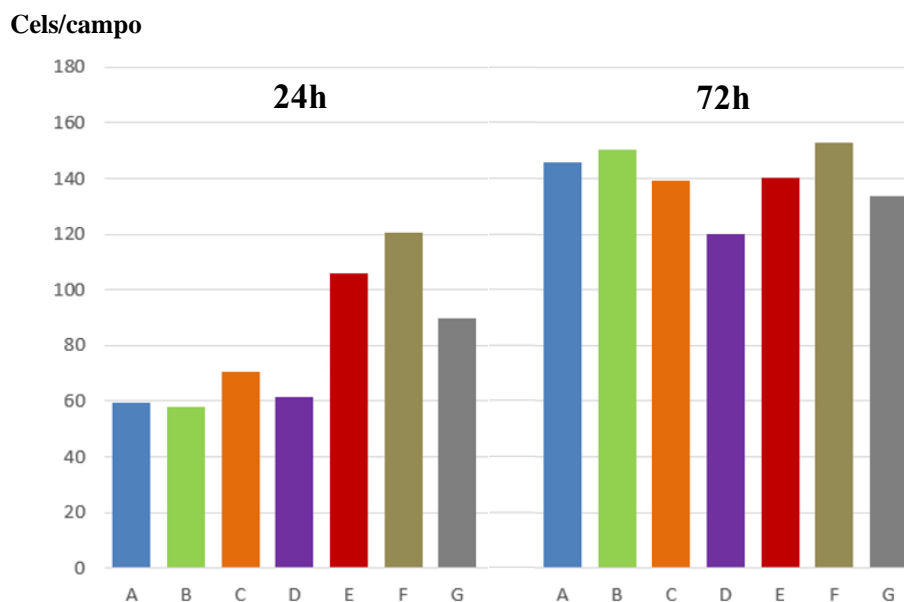


Figura 53. Contaje celular (en células por campo a 10x) según procedimiento aplicado (A, B, C, D centrifugación, E, F, G decantación) a las 24 horas y a las 72 horas de su siembra en cultivo

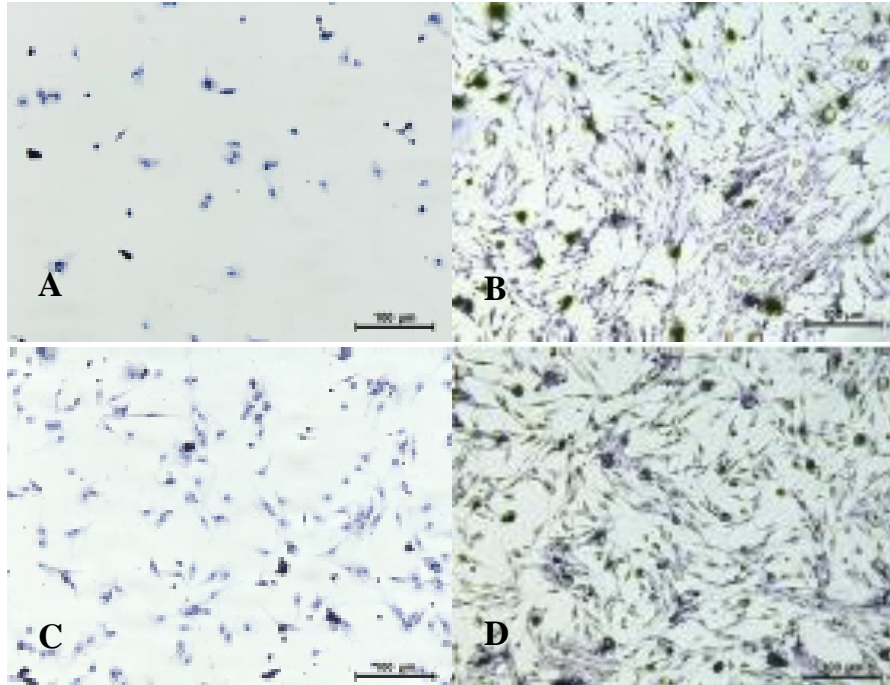


Figura 54. Técnica tinción: Hematoxilina-Eosina. **A.** Muestra centrifugada tras 24h de cultivo **B.** Muestra centrifugada tras 72h de cultivo **C.** Muestra decantada tras 24h de cultivo **D.** Muestra decantada tras 72h de cultivo

Comparaciones por parejas

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada ^a
B-D	1,000	1,764	,567	,571	1,000
B-A	-1,333	1,764	-,756	,450	1,000
B-C	2,667	1,764	1,512	,131	1,000
B-E	3,667	1,764	2,079	,038	,790
B-G	4,333	1,764	2,457	,014	,294
B-F	5,667	1,764	3,213	,001	,028
D-A	-,333	1,764	-,189	,850	1,000
D-C	-1,667	1,764	-,945	,345	1,000
D-E	2,667	1,764	1,512	,131	1,000
D-G	3,333	1,764	1,890	,059	1,000
D-F	4,667	1,764	2,646	,008	,171
A-C	1,333	1,764	,756	,450	1,000
A-E	2,333	1,764	1,323	,186	1,000
A-G	3,000	1,764	1,701	,089	1,000
A-F	4,333	1,764	2,457	,014	,294
C-E	1,000	1,764	,567	,571	1,000
C-G	1,667	1,764	,945	,345	1,000
C-F	3,000	1,764	1,701	,089	1,000
E-G	,667	1,764	,378	,705	1,000
E-F	2,000	1,764	1,134	,257	1,000
G-F	-1,333	1,764	-,756	,450	1,000

Tabla 9. Resultados de las comparaciones múltiples mediante test de Wilcoxon pareados entre los resultados de todos los tipos de procesamiento evaluados a las 24h de sembrar el lipoaspirado para cultivo. Se incluye el resultado tras aplicar corrección de Bonferroni

	24h	72h		24h	72h
A1	78,6	188,2	B1	56,7	162,7
A2	57,3	149,2	B2	61,8	154,8
A3	61,5	151,4	B3	78,2	-
A4	49,6	116,8	B4	45,2	147,2
A5	50,8	122,8	B5	47	135
Media	59,56	145,68	Media	57,78	149,92
DesvEst	11,7	28,3	DesvEst	13,3	11,8

	24h	72h		24h	72h
C1	57	127	D1	48,4	132,4
C2	-	-	D2	54,8	148,7
C3	49,5	132	D3	-	-
C4	99,4	136,6	D4	67,3	159,2
C5	76	161	D5	75,3	161
Media	70,47	139,15	Media	61,45	120,26
DesvEst	22,3	15,1	DesvEst	12,1	13,1

	24h	72h		24h	72h
E1	101,6	142,3	F1	126,4	154,1
E2	142	157	F2	98,2	134,6
E3	98,3	126,6	F3	92	128,4
E4	97	131,2	F4	176	214,4
E5	91,4	130,8	F5	109,5	132,5
Media	106,06	171,97	Media	120,42	152,8
DesvEst	20,4	12,3	DesvEst	33,7	35,8

	24h	72h
G1	108,2	131,7
G2	87,4	109,2
G3	95,3	136,4
G4	142	166
G5	89,8	125,4
Media	104,54	133,74
DesvEst	22,4	20,8

Tablas 10. Resultados (en nº de células por campo) tras estudio de muestras de lipoaspirado procesadas mediante cada uno de los métodos evaluados, cultivadas durante 24h y 72h respectivamente. A: Centrifugación a 300g 3 minutos. B: Centrifugación a 300g + emulsificación con 8 pases. C: Centrifugación a 300g + emulsificación con 20 pases. D: Centrifugación a 300g 6 minutos. E: Decantación. F: Decantación + 3 lavados con suero fisiológico. G: Decantación + Adición de lidocaína 2%

8.2.2.2. Segunda Fase: Cuantificación de células madre y viabilidad

La media de edad de los once pacientes que participaron en la segunda fase del estudio fue de 54,3 años (ds 18,5). Su peso medio fue de 71kg (ds 8,9), altura de 166,1cm (ds 6,9) e IMC de 25,7 (ds 3,1). En el estudio de viabilidad celular realizado por defecto por el citómetro de flujo, se observó una supervivencia celular superior al 95% ($p < 0,05$) en todas las muestras. En el estudio mediante citometría de flujo de las 62 muestras de los 11 pacientes, se obtuvieron los resultados expuestos en la tabla 12. Los resultados se exponen en porcentaje respecto al total de células analizadas en el citómetro de flujo, y se incluyen células que presentaban los marcadores CD34+, CD90+, CD105+, y ausencia de los marcadores CD31, CD45. Tras la realización del test estadístico de Friedman para comparaciones múltiples de muestras relacionadas, se observó que, en la población muestral estudiada existían diferencias estadísticamente significativas en cuanto a presencia de células madre mesenquimales ($p < 0,016$). Por lo tanto, a continuación, se realizó un test de Wilcoxon bilateral múltiple para detectar las parejas de procedimientos comparados que presentaran esas diferencias. Los resultados reflejados en la tabla 13, muestran detección de diferencias estadísticamente significativas entre los procedimientos C-G y C-B, que persisten tras aplicar la corrección de Bonferroni para ajuste de comparaciones múltiples.

Paciente	Edad	Sexo	Peso (kg)	Altura (cm)	IMC (kg/m²)	Procedimiento	Donante	Comorbilidades
1	28	H	74,3	168	26,2	L. ccvv	Abdomen	Sulcus vocalis
2	74	H	77,2	161	29,8	L. ccvv	Abdomen	Cáncer de laringe, HTA, exfumador, TVP
3	53	M	64,5	158	25,8	L. mama	Abdomen	Cáncer de mama, TEP unilateral leve
4	48	M	72	172	24,3	L. mama	Abdomen	Cáncer de mama
5	43	M	69	165	25,3	L. mama	Abdomen	
6	57	M	75	162	28,6	L. mama	Abdomen	Cáncer de mama, HTA
7	76	H	87,2	171	29,8	L. ccvv	Abdomen	Cáncer de laringe, HTA, DM, DL, FA
8	60	M	57,4	159	22,7	L. ccvv	Abdomen	Cáncer de laringe, IAM (stent)
9	77	H	74,8	165	27,5	L. ccvv	Abdomen	Cáncer de laringe, HTA, DL, exfumador, AIT
10	21	H	72,8	182	22	L. ccvv	Abdomen	Sulcus vocalis
11	60	M	56,3	164	20,9	L. ccvv	Abdomen	Parálisis laríngeo recurrente, nódulo tiroideo

Tabla 11. Datos demográficos y clínicos de pacientes de la segunda fase del estudio de la grasa. L. = Lipofilling. ccvv = cuerdas vocales. HTA = hipertensión arterial. DM = diabetes mellitus. DL = dislipemia. AIT = accidente isquémico transitorio.

Resultados

Paciente	A	B	C	D	E	F	G
1*	63,5	50,3	44,9	56,4	63	60	71
2*	59,6	63,3	57,4	63,6	66,2	54,8	61,9
3*	33,8	49,4	20	44,7	23,1	46	33,8
4*	35	49	21,8	24,2	34,3	19,4	38
5*	42	47	33,6	45	34,3	35,1	45,2
6*	44,5	55	40	38,1	42,9	47	62,3
7	88,8	89,4	-	-	72	81,9	-
8	83,1	76,2	-	-	50	64,2	-
9	80,7	86,4	-	-	68,8	86	-
10	90,3	72	-	-	85,8	78	-
11	86,7	69,7	-	-	80,6	61,8	-
Media	64,3	64,3	36,2	45,3	56,5	57,6	52
DesvEst	22,6	15,5	14,2	13,8	20,7	20,2	15,1

Tabla 12. Resultados de conteo de células madre procedentes de tejido adiposo (en % respecto a células totales) en citometría de flujo en las muestras obtenidas de los 11 sujetos, tras procesamiento mediante los 7 métodos evaluados. A: Centrifugación a 300g 3 minutos. B: Centrifugación a 300g + emulsificación con 8 pases. C: Centrifugación a 300g + emulsificación con 20 pases. D: Centrifugación a 300g 6 minutos. E: Decantación. F: Decantación + 3 lavados con suero fisiológico. G: Decantación + Adición de lidocaína 2%
* Muestras cultivadas antes de realizar estudio en citómetro de flujo

Comparaciones por parejas					
Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada ^a
C-F	-1,833	1,247	-1,470	,142	1,000
C-D	-2,333	1,247	-1,871	,061	1,000
C-E	-2,333	1,247	-1,871	,061	1,000
C-A	2,750	1,247	2,205	,027	,577
C-G	-4,083	1,247	-3,274	,001	,022
C-B	4,167	1,247	3,341	,001	,018
F-D	,500	1,247	,401	,688	1,000
F-E	,500	1,247	,401	,688	1,000
F-A	,917	1,247	,735	,462	1,000
F-G	-2,250	1,247	-1,804	,071	1,000
F-B	2,333	1,247	1,871	,061	1,000
D-A	,417	1,247	,334	,738	1,000
E-A	,417	1,247	,334	,738	1,000
D-B	1,833	1,247	1,470	,142	1,000
E-B	1,833	1,247	1,470	,142	1,000
D-E	,000	1,247	,000	1,000	1,000
D-G	-1,750	1,247	-1,403	,161	1,000
E-G	-1,750	1,247	-1,403	,161	1,000
A-G	-1,333	1,247	-1,069	,285	1,000
A-B	-1,417	1,247	-1,136	,256	1,000
G-B	,083	1,247	,067	,947	1,000

Tabla 13. Resultados de las comparaciones múltiples mediante test de Wilcoxon pareados entre los resultados de todos los tipos de procesamiento evaluados al estudiar el porcentaje de células madre presentes en las muestras. Se incluye el resultado tras aplicar corrección de Bonferroni

A continuación, se realizó una simulación del mismo estudio con un tamaño muestral del doble del realizado; asumiendo repetición de los resultados observados en esos hipotéticos nuevos 11 sujetos. Tras aplicar el test de Friedman se observa existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$). Al realizar la prueba de Wilcoxon bilateral múltiple, se observan diferencias estadísticamente significativas en los siguientes pares de comparaciones: A-C, B-D, B-C, B-E, B-F, C-D, C-E, C-F, C-G, F-G, D-G, E-G (tabla 14). Tras aplicar la corrección de Bonferroni, continúan siendo estadísticamente significativas las diferencias halladas entre los siguientes pares: C-A, C-B y C-G.

Comparaciones por parejas					
Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada ^a
C-F	-1,833	,882	-2,079	,038	,790
C-D	-2,333	,882	-2,646	,008	,171
C-E	-2,333	,882	-2,646	,008	,171
C-A	2,750	,882	3,118	,002	,038
C-G	-4,083	,882	-4,630	,000	,000
C-B	4,167	,882	4,725	,000	,000
F-D	,500	,882	,567	,571	1,000
F-E	,500	,882	,567	,571	1,000
F-A	,917	,882	1,039	,299	1,000
F-G	-2,250	,882	-2,551	,011	,225
F-B	2,333	,882	2,646	,008	,171
D-A	,417	,882	,472	,637	1,000
E-A	,417	,882	,472	,637	1,000
D-B	1,833	,882	2,079	,038	,790
E-B	1,833	,882	2,079	,038	,790
D-E	,000	,882	,000	1,000	1,000
D-G	-1,750	,882	-1,984	,047	,992
E-G	-1,750	,882	-1,984	,047	,992
A-G	-1,333	,882	-1,512	,131	1,000
A-B	-1,417	,882	-1,606	,108	1,000
G-B	,083	,882	,094	,925	1,000

Tabla 14. Resultados de las comparaciones múltiples mediante test de Wilcoxon pareados entre los resultados de todos los tipos de procesamiento evaluados, ante el escenario simulado de haber realizado el estudio en una muestra de sujetos con un tamaño muestral del doble, con características y resultados similares a los de los 11 pacientes estudiados. Se incluye el resultado tras aplicar corrección de Bonferroni

- Discusión -

9. Discusión

9.1. Discusión de los resultados de la función vocal

Respecto a los resultados de los estudios de voz realizados en los pacientes intervenidos mediante laringoplastia de medialización con injertos grasos, se observó una mejoría estadísticamente significativa en todos los parámetros evaluados (escala GRABS, encuesta VHI, y el tiempo máximo de fonación) a los ocho meses de la intervención, respecto a la evaluación preoperatoria.

Estos resultados coinciden con los publicados en los estudios más recientes, en los que se han empleado injertos grasos obtenidos mediante liposucción, y se han utilizado los mismos métodos de evaluación de resultados (47,57,60,182-188,192). Además, se trata del tercer estudio con mayor tamaño muestral de los publicados desde 2016, en los que se han utilizado injertos grasos obtenidos mediante aspiración. No obstante, nuestro estudio es el primero en el que se ha reportado el uso de lipoaspirado procesado mediante centrifugación y emulsificación. La ventaja que se obtiene añadiendo la emulsificación al procesamiento de la grasa es la consecución de un injerto formado por partículas más finas, lo que incrementa la precisión a la hora de ajustar la cantidad infiltrada. Por otra parte, al introducir partículas más finas se facilita la integración del injerto y su homogeneidad, disminuyendo la posibilidad de que se introduzcan fragmentos de mayor tamaño que puedan formar pequeños glóbulos y quistes (115). De esta manera se obtiene un relleno con una distribución más homogénea, que es esperable que permita recuperar unas cuerdas vocales con un tejido blando, pliable, y con una mejor calidad vibratoria.

Esta hipótesis es uno de los motivos que justifica que en los últimos cuatro años hayan dejado de emplearse los injertos grasos obtenidos mediante biopsia y fragmentación con bisturí (225). Los fragmentos de tejido adiposo introducidos de esa manera, consisten en pequeños conglomerados, que, al integrarse, forman un tejido compuesto por múltiples glóbulos de grasa que podrían alterar la pliability y homogeneidad necesaria para conseguir una vibración óptima de las cuerdas vocales (47,57,60,182-188,192). Un estudio publicado por Park y cols. en el que se evaluaron las características de injertos grasos obtenidos mediante ambas técnicas, observó una mayor tasa de proliferación y mejor viabilidad a largo plazo en los injertos extraídos mediante lipoaspiración frente a la biopsia (225).

La estabilidad de los resultados de mejoría de voz obtenidos mediante el uso de injertos de grasa autóloga a largo plazo es una realidad que dispone de un elevado nivel de evidencia, habiéndose reportado estabilidad de las mejoras alcanzadas durante periodos de seguimiento de hasta 10 años (60,182,184). En nuestro estudio, con un periodo de seguimiento medio de 21,3 meses (rango 9-55), tampoco hemos observado ningún paciente que refiriera empeoramiento respecto a su resultado postoperatorio a los 8 meses, aunque estos resultados no forman parte de este trabajo.

El volumen de injertos grasos infiltrados en nuestra serie (rango 0,1-0,6mL) ha sido inferior a la reportada en la mayoría de estudios (rango 0,3-6mL). Esto puede ser debido al mayor control y precisión de la infiltración al disponer de una muestra con un tamaño de partícula inferior a las empleadas tradicionalmente (biopsias o lipoaspirado centrifugado sin emulsificar), y a su mejor distribución en la zona injertada.

En nuestra serie, cinco pacientes precisaron ser reintervenidos por la consecución de resultados valorados como insuficientes por el paciente o su otorrinolaringólogo responsable. De esos cinco pacientes, todos sufrían una lesión cicatricial de alguna cuerda vocal, en cuatro de los casos tras resección tumoral, y en el restante por *sulcus vocalis*. Los cinco pacientes obtuvieron mejoría en alguno de los parámetros evaluados tras la segunda intervención (tanto objetivos como subjetivos). A pesar de ello, una paciente, tras el segundo procedimiento tampoco se encuentra satisfecha con su voz y se le ha propuesto una nueva infiltración con grasa. Estos datos son coincidentes con los descritos en la literatura, en la que se ha observado una peor tasa de mejora en las lesiones de cuerdas vocales de etiología cicatricial (60,182-187).

En un estudio publicado en 2012 por Umeno y cols. se realizó una evaluación comparativa de los resultados obtenidos mediante laringoplastia de medialización con injertos grasos y la tiroplastia de medialización (180). En dicho estudio, 41 pacientes fueron intervenidos mediante tiroplastia de medialización, y 73, mediante infiltración de injertos grasos. En él reportaron la obtención de mejoras significativas en la calidad de voz de los pacientes, sin existir diferencias entre los beneficios obtenidos por una técnica u otra (180). Domínguez y cols. publicaron en 2019 otro estudio comparativo entre ambas técnicas, que incluyó 20 pacientes intervenidos mediante tiroplastia de medialización y 15 mediante infiltraciones de injertos grasos (188). En este estudio, pese a disponer de un tamaño muestral más reducido, también se observó similitud de resultados funcionales en

los pacientes intervenidos mediante ambas técnicas (188). En otro trabajo publicado en 2009 por Hartl y cols., que incluyó 48 pacientes intervenidos mediante tiroplastia de medialización y 46 intervenidos mediante infiltración de injertos grasos, también se observaron resultados comparables en los estudios de voz realizados en ambos grupos, con estabilidad de los resultados a los 2 años de la intervención (196). No obstante, en este último estudio se reportó una mayor tasa de reintervención con la infiltración de injertos grasos (196). En 2016, Siu y cols. publicaron una revisión bibliográfica sobre las técnicas para el tratamiento de la insuficiencia glótica por parálisis unilateral de cuerdas vocales (tiroplastia de medialización, inyección, reinervación laríngea y aducción aritenoides), encontrando resultados favorables con todas las técnicas, sin observarse diferencias significativas entre ellas (226). Las diferencias entre ambas técnicas se refieren especialmente al capítulo de la mayor complejidad quirúrgica y las mayores complicaciones de la tiroplastia, siendo los resultados funcionales similares.

Así, en el capítulo de las complicaciones debemos enfatizar que, en general, éstas son más frecuentes y graves en las técnicas de tiroplastia (extrusión, desplazamiento, infección, hematoma, pudiendo, incluso, comprometer la vía aérea) que en las de infiltración (227). La extrusión de las prótesis de tiroplastia se produce entre el 1 y el 10% de los casos, casi siempre hacia la vía respiratoria, por tanto con posibilidad de compromiso respiratorio (228). En el caso de la infiltración, las complicaciones se minimizan aún más si la infiltración es de grasa autóloga como es nuestro caso (227). Además, según nuestra experiencia, la infiltración de grasa autóloga puede repetirse en caso necesario con escaso riesgo añadido.

Es por lo expuesto y argumentado en las líneas precedentes que nosotros abogamos por la laringoplastia mediante infiltración de grasa autóloga convenientemente procesada en la mayoría de los déficits de aducción clínicamente relevantes de las cuerdas vocales.

9.2. Discusión de los injertos de grasa

Para centrar la discusión revisaremos los resultados obtenidos en las dos fases de este subestudio. La primera fase del estudio realizado sobre los tipos de procesamiento de injertos grasos comenzó con la contabilización de células de la fracción vascular estromal del tejido adiposo, su viabilidad, y su evolución tras ser cultivadas durante 24 y 72 horas.

En la evaluación de la cinética de crecimiento de las muestras, se observó una cantidad inicial de células (tras 24h de cultivo) superior en las muestras decantadas que en las centrifugadas. Estos hallazgos fueron estadísticamente significativos en algunas de las comparaciones pareadas (centrifugación a 300g y emulsificación mediante 8 pases entre jeringas frente a decantación, lavado con suero fisiológico y decantación combinada con lidocaína; también para centrifugación a 300g durante 3 minutos frente a lavado y en el par centrifugación a 300g durante 6 minutos frente a lavado), pese a contar con un tamaño muestral de sólo 5 pacientes. Aunque desde el punto de vista estadístico la muestra es limitada, creemos que desde el punto de vista clínico tiene gran interés. No obstante, a las 72 horas, la cantidad de células presentes en los cultivos se equiparó, observándose una mayor proliferación en las muestras centrifugadas que en las decantadas, lo que derivó en la hipótesis de que las muestras centrifugadas podrían contener mayor cantidad de células precursoras.

Por este motivo, se planteó el desarrollo de la segunda fase del estudio, en la que se empleó citometría de flujo para cuantificar la presencia de células madre en cada muestra en función del procesamiento aplicado. Los marcadores seleccionados para definir la célula madre mesenquimal derivada de tejido adiposo fueron extraídos del consenso de criterios mínimos para la definición de célula madre mesenquimal derivada de tejido adiposo de la Sociedad Internacional sobre Terapia Celular (229). Los marcadores que se considera que deben estar presentes en este tipo celular son CD34, CD90 y CD105, todos ellos característicos de las células madre de estirpe mesenquimal, aunque no específicos (229). Además, se excluyeron las células que presentaban los marcadores CD45 (un marcador característico de células precursoras hematopoyéticas que podrían contaminar la muestra de lipoaspirado) y CD31 (característico de células endoteliales, también presentes en la fracción vascular estromal) (203).

En el estudio de citometría de flujo se observó una mayor cantidad media de células madre en las muestras centrifugadas a 300g durante 3 minutos, y en las centrifugadas a 300g durante 3 minutos con emulsificación mediante 8 pases entre jeringas. Los siguientes procesamientos que presentaron más cantidad de células madre fueron las muestras decantadas, las lavadas, y las decantadas con adición de lidocaína. Por último, las muestras centrifugadas a 300g durante 6 minutos y las centrifugadas a 300g 3 minutos con emulsificación con 20 pases entre jeringas. Con nuestra muestra de 11 sujetos, 3 de los pares de métodos comparados presentaron diferencias estadísticamente significativas.

No obstante, en una simulación realizada con una duplicación de la muestra del estudio, se observaron diferencias estadísticamente significativas en 12 de las comparaciones realizadas, por lo que es de esperar que la realización de un estudio con un tamaño muestral mayor podría confirmar la existencia de estas diferencias con una significación estadística suficiente.

En la revisión bibliográfica realizada sobre el ámbito de los injertos grasos, sólo 7 estudios incluyeron la evaluación in vitro de la presencia de células madre procedentes de tejido adiposo en muestras procesadas mediante distintos métodos (115,203,204,208,214,216, 223). De todos ellos, sólo el estudio de Conde-Green posee un tamaño muestral superior al de nuestro estudio con 20 sujetos (203). No obstante, en ninguno de esos trabajos se evaluaron más de 4 métodos de procesamiento por muestra, mientras que en el nuestro hemos estudiado 7 métodos de procesamiento distintos. En tres de los estudios, se reportó una mayor presencia de células madre en las muestras procesadas mediante filtración (115,208,216), en otro, en las muestras procesadas mediante lavado con suero fisiológico (203), sin observarse diferencias en los tres estudios restantes (204,214,223). Debe destacarse que, en todos ellos, las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas, debido probablemente a sus limitados tamaños muestrales. Por último, también fue heterogénea en estos 7 estudios la combinación de marcadores de superficie que se consideró identificativa de CMDA. En el estudio de Tonnard y cols. se utilizó únicamente el marcador CD34, un marcador de superficie presente en células madre mesenquimales, pero también en células precursoras hematopoyéticas y endoteliales (115). En los estudios de Conde-Green y cols., emplearon un perfil más parecido al recomendado por las guías internacionales, con presencia de CD105, CD34 y ausencia de CD45 (203,204). Palumbo y cols. también utilizaron un perfil parecido al de nuestro estudio, con presencia de CD105, CD90 y ausencia de CD45 (223). Canizares y cols. utilizaron los marcadores CD105, y ausencia de CD31 y CD45 (216). Pfaff y cols. emplearon los marcadores CD105, CD90, CD73 y CD44, y Salinas y cols., presencia de CD73, CD90 y ausencia de CD45 y CD105 (208,214). La variabilidad observada en estos estudios, da muestra de una de las limitaciones adicionales de este tipo de trabajos, y es que, aunque existan guías de consenso internacionales, la comunidad científica no dispone todavía de certeza suficiente para indicar que marcadores de superficie son identificativos inequívocos de CMDA.

Los estudios de Conde-Green reportaron el hallazgo de una elevada concentración de células madre en el pellet del tubo de centrifugación, lo cual se consideraba indicativo de la pérdida de células madre que se producía en el tejido adiposo procesado mediante este método (203,204). Sin embargo, un estudio realizado posteriormente por Palumbo y cols. no observó mayor concentración de células madre en el pellet de las muestras centrifugadas (223).

En cualquier caso, los resultados de este tipo de estudios, deben interpretarse con cautela, ya que, aunque se ha demostrado que la presencia de células madre en cantidades supra fisiológicas puede aumentar el prendimiento de los injertos grasos (144), todavía no existe ningún estudio que haya demostrado que la mayor presencia de células madre en los injertos grasos a niveles fisiológicos aumenten su tasa de prendimiento.

Tanto en la primera fase de nuestro estudio como en la segunda, se observó una viabilidad celular superior al 95% con todos los tipos de procesamiento; incluyendo los que incluían una exposición a una concentración elevada de lidocaína. Esta observación, contradice la afirmación tradicionalmente apoyada de que la lidocaína interfiere con la proliferación y probablemente, con el prendimiento de los injertos. El primer trabajo que detectó el supuesto papel deletéreo de la lidocaína fue publicado en 1995 por Moore y cols. (230). En este estudio, que se trataba de un estudio *in vitro*, se observó que la lidocaína inhibía el transporte de glucosa y el crecimiento de adipocitos en cultivos. No obstante, ese efecto persiste únicamente mientras la lidocaína esté presente, la cual puede ser lavada o retirada del lipoaspirado mediante centrifugación. Además, la semivida de la lidocaína infiltrada como anestésico local en un adulto es de 3,5-4 horas, por lo que su efecto inhibitorio cedería poco tiempo después de ser introducido en el cuerpo. Otro estudio publicado en 2005 por Shoshani y cols., en el que se empleó un modelo animal para evaluar el prendimiento de injertos grasos expuestos a lidocaína, no reportó diferencias entre las regiones que recibieron injertos expuestos a lidocaína y los no expuestos a ella (231). En 2013, Girard y cols. publicaron un trabajo en el que evaluaron el efecto *in vitro* de la lidocaína sobre la proliferación de células madre, observando que la exposición al anestésico durante 12-24h disminuía la tasa de proliferación de estas células. Sin embargo, la exposición durante menos de 12 horas, no demostró afectar la proliferación celular de forma estadísticamente significativa (232). En 2015, el equipo de Girard publicó un nuevo trabajo en el que inyectaron injertos grasos humanos procesados mediante decantación, lavados y centrifugación, expuestos a lidocaína y sin exposición a la misma, en ratones atímicos

(218). En este estudio, las muestras que contenían lidocaína y no fueron procesadas mediante lavados, presentaron peores características histológicas. No obstante, este estudio dispone de tres limitaciones considerables: un tamaño muestral de sólo 2 sujetos; la toma de las biopsias para evaluar histológicamente los injertos se realizó al mes de su infiltración; y que la observación de los hallazgos tuvo lugar en un modelo animal (que puede permitir la formación de nuevas hipótesis, pero proporciona un nivel de evidencia limitado) (218).

- Conclusiones -

10. Conclusiones

- Existe una mejoría estadísticamente significativa de la calidad de la voz, determinada mediante parámetros objetivos y subjetivos estandarizados, en pacientes que presentan disfonía por déficit de cierre glótico de diversa etiología, tras la realización de procedimientos de medialización de cuerdas vocales mediante infiltración de injertos grasos obtenidos a través de lipoaspiración y procesados mediante centrifugación y emulsificación.
- Los pacientes que presentan déficit de cierre glótico de etiología cicatricial, presentan mayor susceptibilidad de ser reintervenidos por obtener mejorías limitadas con un procedimiento de infiltración único.
- Las muestras de lipoaspirado procesadas mediante decantación, poseen inicialmente mayor cantidad de células de la fracción vascular estromal que las muestras centrifugadas. No obstante, se ha observado una mayor tasa de proliferación celular en las muestras centrifugadas, ya que en 72 horas llegan a igualar la cantidad de células presentes en las muestras decantadas.
- Los estudios de viabilidad celular revelan un porcentaje de integridad celular superior al 95% en todos los procedimientos.
- No existen diferencias en términos de proliferación celular de la fracción vascular estromal, ni en porcentaje de supervivencia celular, entre las muestras decantadas expuestas a lidocaína 2% y las no expuestas.
- Los métodos de procesamiento que proporcionan muestras de lipoaspirado con presencia de mayor cantidad de células madre derivadas de tejido adiposo (CMDA) en términos relativos son de mayor a menor: Centrifugación a 300g durante 3 minutos y emulsificación mediante 8 pases entre jeringas > Centrifugación a 300g durante 3 minutos > Decantación y 3 lavados con suero fisiológico > Decantación durante 15 minutos > Decantación y exposición a lidocaína 2% > Centrifugación a 300g durante 6 minutos > Centrifugación a 300g durante 3 minutos y emulsificación mediante 20 pases entre jeringas.

- Bibliografía -

11. Bibliografía

1. Hansa B, Varsha M, Digviyay S et al. (2011). Hoarseness of Voice: A Retrospective Study of 251 Cases. *International Journal of Phonosurgery and Laryngology*. 2011;1:21-27.
2. Anju P, Thomas L. Hoarseness and dysphonia. En: Scholes MA, Ramakrishnan VT, editores. *ENT Secrets*. 4ª ed. Chicago: Elsevier; 2016. p. 483-491
3. Lee Akst. Hoarseness and Laryngitis. En: Kellerman RD, Rakel DP, editores. *Conn's Current Therapy 2018*. Chicago: Saunders; 2018. p. 30-35
4. Céruse P, Ltaief-Boudrigua A, Buiret G, Cosmidis A, Tringali S. Anatomía descriptiva, endoscópica y radiológica de la laringe. *EMC – Otorrinolaringología*. 2012;41(3):1-26
5. Giovanni A, Lagier A, Henrich N. Fisiología de la fonación. *EMC - Otorrinolaringología*. 2014;43(3):1-16
6. Hirano M. Structure and vibratory pattern of the vocal folds. En: Sawashima N, Cooper FS, editores. *Dynamic aspects of the speech production*. Tokyo: University of Tokyo Press; 1977. p. 13-27.
7. Hirano M. Surgical anatomy and physiology of the vocal folds. En: Gould WJ, Sataloff RT, Spiegel J, editores. *Voice surgery*. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1993. p. 135-158.
8. Hirano M, Yoshida T, Kurita S, et al. Anatomy and behavior of the vocal process. En: Baer T, Sasaki C, Harris K, , editores. *Laryngeal function in phonation and respiration*. Boston: College-Hill Press; 1987. p. 1-13.
9. Sundberg J. The acoustics of the singing voice. *Sci Am*. 1977;236(3):82–91
10. Sataloff RT. The human voice. *Sci Am*. 1992;267:108-115
11. Gould WJ, Kamura H. Static lung volumes in singers. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1973;82: 89-95.
12. Hixon TJ, Hoffman C. Chest wall shape during singing. In: Lawrence V, editor. *Transcripts of the seventh annual symposium, care of the professional voice*. New York: The Voice Foundation; 1978;1:9-10.

13. Sundberg J, Leanderson R, von Euler C. Activity relationship between diaphragm and cricothyroid muscles. *J Voice*. 1989;3(3):225-32.
14. Marsal AC. Parálisis laríngeas: Diagnóstico y tratamiento foniátrico de las parálisis cordales. 2ª ed. Barcelona: Masson; 1993.
15. Suárez C, Gil-Carcedo LM. Tratado de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello. 3ª ed. Barcelona: Panamericana; 2001.
16. Itoh T, Kawasaki H, Morikawa I, et al. Vocal fold furrows. A 10-year review of 240 patients. *Auris Nasus Larynx* 1983;10:17-26.
17. Bouchayer M, Cornut G, Witzig E, et al. Epidermoid cysts, sulci, and mucosal bridges of the true vocal cord: a report of 157 cases. *Laryngoscope* 1985; 95(1):1087-1094.
18. Soni RS, Dailey SH. Sulcus Vocalis. *Otolaryngol Clin North Am*. 2019 Aug;52(4):735-743.
19. Ford CN, Inagi K, Khidr A, et al. Sulcus vocalis: a rational analytical approach to diagnosis and management. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1996;105(3):189-200.
20. Giovanni A, Chanteret C, Lagier A. Sulcus vocalis: a review. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007;264(4):337-344.
21. Selleck AM, Moore JE, Rutt AL, et al. Sulcus vocalis (type III): prevalence and stroboscoped laryngoscopy characteristics. *J Voice* 2015;29(4):507-511.
22. Sato K, Hirano M. Electron microscopic investigation of sulcus vocalis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1998;107(1):56-60.
23. Zwetsch I, Fagundes R, Russomano T y cols. Digital signal processing in the differential diagnosis of benign larynx diseases. *Sci Med*. 2006;16(3):109-114
24. Hirano M. Clinical examination of the voice. 3ª ed. New York: Springer Verlag, 1981.
25. Jacobson BH, Jonson A, Grywalski C, y cols. The Voice Handicap Index (VHI): development and validation. *Am J Speech Lang Pathol*. 1997; 6: 66-70
26. Franic DM, Bramlett RE, Bothe AC. Psychometric evaluation of disease specific quality of life instruments in voice disorders. *J Voice*. 2005; 19: 300-315

27. Rosen CA, Lee AS, Osborne J, et al. Development and validation of the voice handicap index-10. *Laryngoscope*. 2004; 114: 1549-1556
28. Nuñez-Batalla F, Corte-Santos P, Señaris-González B et al. Adaptación y validación del índice de incapacidad vocal (VHI-30) y su versión abreviada (VHI-10) al español. *Acta Otorrinolaringológica Española*. 2007; 58(7): 74954-74963.
29. Khouri RK Jr, K. R. (2017). Current Clinical Applications of Fat Grafting. *Plastic and Reconstructive Surgery Journal*, 140(3), 466-486.
30. Bruning W. Uber eine neue behandlungsmethode der rekurrenslahmung. *Ver Deutsch Laryng*. 1911;18:93-151.
31. Rosow DE. Trends in Utilization of Vocal Fold Injection Procedures. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015 Nov;153(5):812-814
32. Arnold GE. Alleviation of aphonia or dysphonia through intra-cordal injection of Teflon paste. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1963;72:384-395.
33. Dedo HH, Urrea RD, Lawson L. Intracordal injection of Teflon in the treatment of 135 patients with dysphonia. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1973;82:661-667
34. Levy RB. Experiences with vocal cord injection. *Ann Otol Rhino Laryngol*. 1976;85:440-449.
35. Lewy RB. Teflon injection of the vocal cord: complications, errors, and precautions. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol*. 1983;91:473-474
36. Rubin H. Misadventures with injectable Polytef (Teflon). *Arch Otolaryngol*. 1975;101:114-116.
37. Walsh FM, Castelli JB. Polytef granuloma clinically simulating carcinoma of the thyroid. *Arch Otolaryngol*. 1975;101:262-263
38. Rubin HJ. Misadventures with injectable Polytef (Teflon). *Arch Otolaryngol*. 1975;101:114-116

39. Stone JW, Arnold GE, Stephens CB. Intracordal Polytet (Teflon) injection. Histologic study of three further cases. *Arch Otolaryngol.* 1970;91:568-575
40. Remacle MJ, Marbaix E, Bertrand BM. The value of injectable collagen in vocal and glottic rehabilitation. *Arch Otorhinolaryngol.* 1986;243(4):233-237.
41. Dedo HH, Rowe LD. Laryngeal reconstruction in acute and chronic injuries. *Otol Clin North Am* 1983;16:373-89.
42. Mikaelian DO, Lowrey LD, Sataloff RT. Lipoinjection for unilateral vocal cord paralysis. *Laryngoscope* 1991;101:465-8.
43. Brandenburg JH, Kirkham W, Koschke D. Vocal cord augmentation with autogenous fat. *Laryngoscope* 1992;102:495-500
44. Ward PH, Hanson DG, and Abemayor E: Transcutaneous Teflon injection of the paralyzed vocal cord: a new technique. *Laryngoscope* 1985; 95: pp. 644
45. Mallur PS, Rosen CA. Vocal fold injection: review of indications, techniques, and materials for augmentation. *Clin Exp Otorhinolaryngol.* 2010 Dec;3(4):177-182
46. Rosen CA, Gartner-Schmidt J, Casiano R, et al: Vocal fold augmentation with calcium hydroxylapatite: twelve-month report. *Laryngoscope* 2009; 119: pp. 1033-1041
47. Benninger MS, Hanick AL, Nowacki AS. Augmentation autologous adipose injections in the larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2016 Jan;125(1):25-30.
48. Hertegård S, Hallén L, Laurent C, et al: Cross-linked hyaluronan used as augmentation substance for treatment of glottal insufficiency: safety aspects and vocal fold function. *Laryngoscope* 2002; 112: pp. 2211
49. Milstein CF, Akst LM, Hicks MD, et al: Long-term effects of micronized alloderm injection for unilateral vocal fold paralysis. *Laryngoscope* 2005; 115: pp. 1691-1696
50. Bless DM, Ford CN, and Loftus JM: Role of injectable collagen in the treatment of glottic insufficiency: a study of 119 patients. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992; 101: pp. 237
51. Rosen CA, Gartner-Schmidt J, Casiano R, et al: Vocal fold augmentation with calcium hydroxylapatite: twelve-month report. *Laryngoscope* 2009; 119: pp. 1033-1041

- 52.** Tanna N, Zalkind D, Glade RS, et al: Foreign body reaction to calcium hydroxylapatite vocal fold augmentation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2006; 132: pp. 1379-1382
- 53.** Zielins ER, Brett EA, Longaker MT, Wan DC. Autologous Fat Grafting: the Science Behind the Surgery. *Aesthet Surg J.* 2016 Apr;36(4):488-496.
- 54.** Simonacci F, Bertozzi N, Grieco MP, Grignaffini E, Raposio E. Procedure, applications, and outcomes of autologous fat grafting. *Ann Med Surg (Lond).* 2017 Jun 27;20:49-60.
- 55.** Serra-Renom JM. Aplicaciones de la inyección de grasa en Cirugía Plástica Reparadora y Estética. Nuestra evolución y estado actual. *Cir.plást. iberolatinoam.*-Vol. 39-Supl. 1-2013/Pag. S3-S7
- 56.** Fang TJ, Lee LA, Wang CJ. Intracordal fat assessment by 3-dimensional imaging after autologous fat injection in patients with thyroidectomy-induced unilateral vocal cord paralysis. *Surgery.* 2009 Jul;146(1):82-7.
- 57.** Tamura E, Tabata Y, Yamada C et al. Autologous fat augmentation of the vocal fold with basic fibroblast growth factor: Computed tomographic assessment of fat tissue survival after augmentation. *Acta Otolaryngol.* 2015;135(11):1163-1167
- 58.** Brandenburg JH, Unger JM, Koschke D. Vocal cord injection with autogenous fat: a long-term magnetic resonance imaging evaluation. *Laryngoscope.* 1996;106(2): 174-180.
- 59.** Shindo ML, Zaretsky LS, Rice DH. Autologous fat injection for unilateral vocal fold paralysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1996;105(8):602-606
- 60.** Cantarella G, Mazzola RF, Gaffuri M et al. Structural Fat Grafting to Improve Outcomes of Vocal Folds' Fat Augmentation: Long-term Results. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2018;158(1):135-143.
- 61.** Imaizumi M, Li-Jessen NY, Sato Y et al. Retention of Human-Induced Pluripotent Stem Cells (hiPS) With Injectable HA Hydrogels for Vocal Fold Engineering. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2017 Apr;126(4):304-314

- 62.** Nishio N, Fujimoto Y, Suga K et al. Autologous fat injection therapy including a high concentration of adipose-derived regenerative cells in a vocal fold paralysis model: animal pilot study. *J Laryngol Otol.* 2016 Oct;130(10):914-922.
- 63.** Tamura E, Tabata Y, Yamada C et al. Autologous fat augmentation of the vocal fold with basic fibroblast growth factor: Computed tomographic assessment of fat tissue survival after augmentation. *Acta Otolaryngol.* 2015;135(11):1163-1177
- 64.** McCaffrey TB, Lipton R. Transcutaneous Teflon injection for paralytic dysphonia. *Laryngoscope.* 1989; 99:497
- 65.** Ward PH, Hanson DG, Abemayor E. Transcutaneous Teflon injection of the paralyzed vocal cord: a new technique. *Laryngoscope.* 1985; 95:644
- 66.** Rees CJ, Mouadeb DA, Belafsky PC: Thyrohyoid vocal fold augmentation with calcium hydroxyapatite. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008; 138: 743-746
- 67.** Chheda NN, Rosen CA, Belafsky PC, et cols. Revision laryngeal surgery for the suboptimal injection of calcium hydroxylapatite. *Laryngoscope.* 2008; 118: 2260-2263
- 68.** Flint PW, Schindler JS, Cummings CW. Medialization thyroplasty. En: Flint PW, Haughey BH, Lund V, editores. *Cummings Otolaryngology.* 4^a ed. Chicago: Cummings; 2015. p. 936-945
- 69.** Isshiki N, O. H. (1975). Thyroplasty type I (lateral compression) for dysphonia due to vocal cord paralysis or atrophy. *Acta Otolaryngol,* 80, 465.
- 70.** D'Antonio LL, W. T. (1995). : Quantitative measures of laryngeal function following Teflon injection or thyroplasty type I. *Laryngoscope,* 105, 256.
- 71.** Isshiki N, T. T. (1989). Recent modifications in thyroplasty type I. *Ann Otol Rhinol Laryngol,* 98, 777.
- 72.** Montgomery WW, Blaugrund SM, and Varvares MA: Thyroplasty: a new approach. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1993; 102: pp. 571
- 73.** McCulloch TM, Hoffman HT, Andrews BT, et al: Arytenoid adduction combined with Gore-Tex medialization thyroplasty. *Laryngoscope* 2000; 110: pp. 1306

- 74.** Isshiki N, Taira T, Kojima H, et al: Recent modifications in thyroplasty type I. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989; 98: pp. 777
- 75.** Storck C, Brockmann M, Schnellmann E, et al: Functional outcome of vocal fold medialization thyroplasty with a hydroxyapatite implant. *Laryngoscope* 2007; 117: pp. 1118-1122
- 76.** Abraham MT, Gonen M, and Kraus DH: Complications of type I thyroplasty and arytenoid adduction. *Laryngoscope* 2001; 111: pp. 1322
- 77.** Woo P, Pearl AW, Hsiung MW, et al: Failed medialization for laryngoplasty; management by revision surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 124: pp. 615-621
- 78.** Neuber F. Fettransplantation. Bericht über die Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie. *Zbl Chir.* 1893;22:66.
- 79.** Czerny V. Plastischer Ersatz der Brustdrüse durch ein Lipom. *Zentral Chir.* 1895;27:72.
- 80.** Holländer E. *Berliner Klinischer Wochenschrift.* 1909;18.
- 81.** Holländer E. Die kosmetische Chirurgie. En: Joseph M, editor. *Handbuch der kosmetik.* 1ª ed. Leipzig: Verlag von Veit; 1912:690-691.
- 82.** Lexer E. Die freien transplantationen. 1ª ed. Stuttgart: Ferdinand Enke; 1919.
- 83.** Miller C. *Cannula Implants and Review of Implantation Techniques in Esthetic Surgery.* 1ª ed. Chicago: Oak Press; 1926.
- 84.** Peer LA. The neglected free fat graft, its behavior and clinical use. *Am J Surg.* 1956;92(1):40-47.
- 85.** Fournier PF. Reduction syringe liposculpturing. *Dermatol Clin.* 1990;8(3):539-551.
- 86.** Illouz YG. The fat cell “graft”: a new technique to fill depressions. *Plast Reconstr Surg.* 1986;78(1):122-123.
- 87.** Chajchir A, Benzaquen I. Fat-grafting injection for soft-tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg.* 1989;84(6):921-935.

- 88.** Coleman SR. Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations. *Aesthetic Plast Surg.* 1995;19:421-42
- 89.** Leong DT, Hutmacher DW, Chew FT, y cols. Viability and adipogenic potential of human adipose tissue processed cell population obtained from pump-assisted and syringe-assisted liposuction. *J Dermatol Sci.* 2005;37:169-176.
- 90.** Katz AJ, Llull R, Hedrick MH y cols. Emerging approaches to the tissue engineering of fat. *Clin Plast Surg.* 1999; 26 587-603.
- 91.** Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2004; 89(6): 2548-2556
- 92.** Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism.* 2007;293(2):444-452.
- 93.** Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological Reviews.* 2004;84 (1): 277-359.
- 94.** Busiello RA, Savarese S, Lombardi A. Mitochondrial uncoupling proteins and energy metabolism. *Frontiers in Physiology.* 2015;6(36): 36
- 95.** Virtanen KA, Lidell ME, Orava J y cols. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *The New England Journal of Medicine.* 2009;360 (15): 1518-1525.
- 96.** Kakagia D, Pallua N. Autologous fat grafting: in search of the optimal technique. *Surg Innov.* 2014;21:327-336.
- 97.** Pu LL, Coleman SR, Cui X y cols. Autologous fat grafts harvested and refined by the Coleman technique: a comparative study. *Plast Reconstr Surg.* 2008;122:932-937.
- 98.** Fagrell D, Enestrom S, Berggren A y cols. Fat cylinder transplantation: an experimental comparative study of three different kinds of fat transplants. *Plast Reconstr Surg.* 1996;98:90.
- 99.** Qin W, Xu Y, Liu X y cols. Experimental and primary clinical research of core fat graft. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2012;26:576-582.

- 100.** Pu LL, Cui X, Fink BF y cols. The viability of fatty tissues within adipose aspirates after conventional liposuction: a comprehensive study. *Ann Plast Surg.* 2005;54:288-292.
- 101.** Ozsoy Z, Kul Z, Bilir A. The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: a quantitative analysis. *Aesthet Surg J.* 2006;26:287-289.
- 102.** Campbell G-L, Laudenslager N, Newman J. The effect of mechanical stress on adipocyte morphology and metabolism. *Am J Cosmet Surg.* 1987;4:89-94.
- 103.** Erdim M, Tezel E, Numanoglu A y cols. The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009;62:1210-1214.
- 104.** Klein JA. Tumescent technique for local anesthesia improves safety in large volume liposuction. *Plast Reconstr Surg.* 1993;92:1085-1098.
- 105.** Illouz YG, de Villers YT. *Body Sculpturing by Lipoplasty.* 2ª ed. Churchill Livingstone: New York; 1989. p.120-126.
- 106.** Kasem A, Wazir U, Headon H. Breast lipofilling: a review of current practice. *Arch Plast Surg.* 2015;42:126-130.
- 107.** Dasiou-Plakida D. Fat injections for facial rejuvenation: 17 years experience in 1720 patients. *J Cosmet Dermatol.* 2003;2:119-125.
- 108.** Mazzola RF. *Fat Injection: from Filling to Regeneration.* 2ª ed. Quality Medical Publishing; St. Louis: 2009. p.373-422.
- 109.** Crawford JL, Hubbard BA, Colbert BA y cols. Fine tuning lipoaspirate viability for fat grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2010;126:1342-1348.
- 110.** Gause TM, Kling RE, Sivak WN y cols. Particle size in fat graft retention: a review on the impact of harvesting technique in lipofilling surgical outcomes. *Adipocyte.* 2014;3:273-279.
- 111.** Mojallal A, Foyatier JL. The effect of different factors on the survival of transplanted adipocytes. *Ann Chir Plast Esthet.* 2004;49:426-436.
- 112.** Ferraro GA, De Francesco F, Tirino V y cols. Effects of a new centrifugation method on adipose cell viability for autologous fat grafting. *Aesthet Plast Surg.* 2011;35:341-348.

- 113.** Strong AL, Cederna PS, Rubin JP y cols. The current state of fat grafting: a review of harvesting, processing, and injection techniques. *Plast Reconstr Surg.* 2015;136:897-912.
- 114.** Minn KW, Min KH, Chang H y cols. Effects of fat preparation methods on the viabilities of autologous fat grafts. *Aesthet Plast Surg.* 2010;34:626-631.
- 115.** Tonnard P, Verpaele A, Peeters G y cols. Nanofat grafting: basic research and clinical applications. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132(4):1017-1026.
- 116.** Conde-Green A, Wu I, Graham I. Comparison of 3 techniques of fat grafting and cell-supplemented lipotransfer in athymic rats: a pilot study. *Aesthet Surg J.* 2013;33:713-721.
- 117.** Smith P, Adams WP, Lipschitz AH. Autologous human fat grafting: effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117:1836-1844.
- 118.** Ramon Y, Shoshani O, Peled IJ. Enhancing the take of injected adipose tissue by a simple method for concentrating fat cells. *Plast Reconstr Surg.* 2005;115:197-201.
- 119.** Ozsoy Z, Kul Z, Bilir A. The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: a quantitative analysis. *Aesthet Surg J.* 2006;26:287-289.
- 120.** Erdim M, Tezel E, Numanoglu A. The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009;62:1210-1214.
- 121.** Choo A, Ngo AS, Ding V y cols. Autogeneic feeders for the culture of undifferentiated human embryonic stem cells in feeder and feeder-free conditions. *Methods Cell Biol.* 2008;86:15-28.
- 122.** Hiew VV, Simat SFB, Teoh PL. The advancement of biomaterials in regulating stem cell fate. *Stem Cell Rev.* 2018;14:43-57.
- 123.** Lv FJ, Tuan RS, Cheung KM y cols. Concise review: The surface markers and identity of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells.* 2014;32:1408-1419.

- 124.** Wei X, Yang X, Han ZP y cols. Mesenchymal stem cells: A new trend for cell therapy. *Acta Pharmacol Sin.* 2013;34:747-754.
- 125.** Liras A. Future research and therapeutic applications of human stem cells: General, regulatory, and bioethical aspects. *J Transl Med.* 2010;8:131.
- 126.** Stanko P, Kaiserova K, Altaneroova V y cols. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from dental pulp, bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord tissue by gene expression. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2014;158:373-377.
- 127.** Choudhery MS, Badowski M, Muise A y cols. Donor age negatively impacts adipose tissue-derived mesenchymal stem cell expansion and differentiation. *J Transl Med.* 2014;12:8.
- 128.** Cagliani J, Grande D, Molmenti EP y cols. Immunomodulation by mesenchymal stromal cells and their clinical applications. *J Stem Cell Regen Biol.* 2017;3:1-26.
- 129.** Xiao S, Liu Z, Yao Y y cols. Diabetic human adipose-derived stem cells accelerate pressure ulcer-healing by inducing angiogenesis and neurogenesis. *Stem Cells Dev.* 2019;4.
- 130.** Vicenti G, Bizzoca D, Caruso I y cols. New insights into the treatment of non-healing diabetic foot ulcers. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2018;32(6):15-21.
- 131.** Rivera-Izquierdo M, Cabeza L, Láinez-Ramos-Bossini A y cols. An updated review of adipose derived-mesenchymal stem cells and their applications in musculoskeletal disorders. *Expert Opin Biol Ther.* 2019;17.
- 132.** Delanois RE, Etcheson JI, Sodhi N y cols. Biologic Therapies for the Treatment of Knee Osteoarthritis. *J Arthroplasty.* 2018;17(18):31183-31185.
- 133.** Nahar S, Nakashima Y, Miyagi-Shiohira C y cols. Cytokines in adipose-derived mesenchymal stem cells promote the healing of liver disease. *World J Stem Cells.* 2018; 26(11):146-159.
- 134.** Ren ZW, Zhou JG, Xiong ZK, y cols. Effect of exosomes derived from MiR-133b-modified ADSCs on the recovery of neurological function after SCI. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019;23(1):52-60.

- 135.** Serrero M, Grimaud F, Philandrianos C y cols. Long-term safety and efficacy of local microinjection combining autologous microfat and adipose-derived stromal vascular fraction for the treatment of refractory perianal fistula in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2019;18(19):30092-30097.
- 136.** Cantarella G, Mazzola RF, Gaffuri M y cols. Structural Fat Grafting to Improve Outcomes of Vocal Folds' Fat Augmentation: Long-term Results. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2018;158(1):135-143.
- 137.** Raposio E, Caruana G, Petrella M y cols. A standardized method of isolating adipose-derived stem cells for clinical applications. *Ann Plast Surg*. 2016;76:124-126.
- 138.** Raposio E, Caruana G, Bonomini S y cols. A novel and effective strategy for the isolation of adipose-derived stem cells: minimally manipulated adipose-derived stem cells for more rapid and safe stem cell therapy. *Plast Reconstr Surg*. 2014;133:1406-1409.
- 139.** Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D y cols. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol*. 2006;208:64-76.
- 140.** Tang W, Zvev D, Suh JM y cols. White fat progenitor cells reside in the adipose vasculature. *Science*. 2008;322:583-586.
- 141.** Kapur SK, Katz AJ. Review of the adipose derived stem cell secretome. *Biochimie*. 2013;95:2222-2228.
- 142.** Salgado AJ, Reis RL, Sousa NJ y cols. Adipose tissue derived stem cells secretome: soluble factors and their roles in regenerative medicine. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2010;5:103-110.
- 143.** Matsumoto D, Sato K, Gonda K y cols. Cell-assisted lipotransfer: supportive use of human adipose-derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection, *Tissue Eng*. 2006;12:3375-3382.
- 144.** Kølle SF, Fischer-Nielsen A, Mathiasen AB y cols. Enrichment of autologous fat grafts with ex-vivo expanded adipose tissue-derived stem cells for graft survival: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2013;382(9898):1113-1120.
- 145.** Coleman SR. *Structural Fat Grafting*. 2^a ed. St Louis; Quality Medical: 2004.

- 146.** Cigna E, Ribuffo D, Sorvillo V y cols. Secondary lipofilling after breast reconstruction with implants. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2012;16:1729-1734.
- 147.** Simonacci F, Bertozzi N, Grieco MP y cols. Autologous fat transplantation for breast reconstruction: a literature review. *Ann Med Surg.* 2016;12:94-100.
- 148.** Pinsolle V, Chichery A, Grolleau JL y cols. Autologous fat injection in Poland's syndrome. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008;61:784-791.
- 149.** Gutowski KA. Current applications and safety of autologous fat grafts: a report of the ASPS fat graft task force. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124:272-280.
- 150.** Khouri RK, Smit JM, Cardoso E y cols. Percutaneous aponeurotomy and lipofilling: a regenerative alternative to flap reconstruction? *Plast Reconstr Surg.* 2013;132:1280-1290.
- 151.** Klinger M, Marazzi M, Vigo D, y cols. Fat injection for cases of severe burn outcomes: a new perspective of scar remodeling and reduction. *Aesthet Plast Surg.* 2008;32:465-469.
- 152.** Caviggioli F, Villani F, Forcellini D. Scar treatment by lipostructure. *Update Plast Surg.* 2009;2:51-53.
- 153.** Klinger M, Caviggioli F, Klinger FM y cols. Autologous fat graft in scar treatment. *J Craniofac Surg.* 2013;24:1610-1615.
- 154.** Mojallal A, Lequeux C, Shipkov C y cols. Improvement of skin quality after fat grafting: clinical observation and an animal study. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124:765-774.
- 155.** Arno A, Smith AH, Blit PH y cols. Stem cell therapy: a new treatment for burns? *Pharmaceuticals.* 2011;4:1355-1380.
- 156.** Bruno A, Delli SG, Fasciani L y cols. Burn scar lipofilling: immunohistochemical and clinical outcomes. *J Craniofac Surg.* 2013;24:1806-1814
- 157.** Mori A, Lo-Russo G, Agostini T y cols. Treatment of human immunodeficiency virus-associated facial lipoatrophy with lipofilling and submalar silicone implants. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2006;59:1209-1216.

- 158.** Coleman SR. Facial recontouring with lipostructure. *Clin Plast Surg.* 1997;24:347-367.
- 159.** Gosain AK, Klein MH, Sudhakar PV y cols. A volumetric analysis of soft-tissue changes in the aging midface using high-resolution MRI: implications for facial rejuvenation. *Plast Reconstr Surg.* 2005;115:1143-1152.
- 160.** Le-Louarn C. Midface region: functional anatomy, ageing process, indications and concentric malar lift. *Ann Chir Plast Esthet.* 2009;54:411-420.
- 161.** Serra-Renom JM, Serra-Mestre JM. Periorbital rejuvenation to improve the negative vector with blepharoplasty and fat grafting in the malar area. *Ophthal Plast Reconstr Surg.* 2011;27:442-446.
- 162.** Hoang D, Orgel MI, Kulber DA. Hand rejuvenation: a comprehensive review of fat grafting. *J Hand Surg Am.* 2016;41:639-644.
- 163.** Jakubietz R, Grünert JG, Kloss DF y cols. Aging and aesthetic ideal of the hand. *Hautarzt.* 2009;60:220-225.
- 164.** Streker M, Reuther T, Krueger N y cols. Stabilized hyaluronic acidbased gel of non-animal origin for skin rejuvenation: face, hand, and décolletage. *J Drugs Dermatol.* 2013;12:990-994.
- 165.** Kao WP, Lin YN, Lin TY y cols. Microautologous fat transplantation for primary augmentation rhinoplasty: long-term monitoring of 198 Asian patients. *Aesthet Surg J.* 2016;36:648-656.
- 166.** Bircoll M. Cosmetic breast augmentation utilizing autologous fat and liposuction techniques. *Plast Reconstr Surg.* 1987;79:267-271.
- 167.** Pu LL, Yoshimura K, Coleman SR. Future perspectives of fat grafting. *Clin Plast Surg.* 2015;42:389-394.
- 168.** Leuchter I, Schweizer V, Hohlfeld J y cols. Treatment of velopharyngeal insufficiency by autologous fat injection. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2010;267:977-983.
- 169.** Norderval S, Lundby L, Hougaard H y cols. Efficacy of autologous fat graft injection in the treatment of anovaginal fistulas. *Tech Coloproctol.* 2018;22(1):45-51.

- 170.** Ouyang B, Sun X, Han D y cols. Human urine-derived stem cells alone or genetically-modified with FGF2 Improve type 2 diabetic erectile dysfunction in a rat model. *PLoS One*. 2014;9(3):92825.
- 171.** Crane DM, Oliver KS, Bayes MC. Orthobiologics and Knee Osteoarthritis: A Recent Literature Review, Treatment Algorithm, and Pathophysiology Discussion. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2016;27(4):985-1002.
- 172.** Delay E, Garson S, Tousson G y cols. Fat injection to the breast: technique, results, and indications based on 880 procedures over 10 years. *Aesthet Surg J*. 2009;29:360-376.
- 173.** Illouz YG, Sterodimas A. Autologous fat transplantation to the breast: a personal technique with 25 years of experience. *Aesthet Plast Surg*. 2009;33:706-715.
- 174.** Agha RA, Fowler AJ, Herlin C y cols. Use of autologous fat grafting for breast reconstruction: a systematic review with metaanalysis of oncological outcomes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2015;68:143-161.
- 175.** Park SH, Sun HJ, Choi KS. Sudden unilateral visual loss after autologous fat injection into the nasolabial fold. *Clin Ophthalmol*. 2008;2:679-683.
- 176.** Bayter-Marin JE, Cárdenas-Camarena L, Aguirre-Serrano H y cols. Understanding Fatal Fat Embolism in Gluteal Lipoinjection: A Review of the Medical Records and Autopsy Reports of 16 Patients. *Plast Reconstr Surg*. 2018;142(5):1198-1208.
- 177.** Nemr K, Simões-Zenari M, Cordeiro GF y cols. GRBAS and Cape-V scales: high reliability and consensus when applied at different times. *J Voice*. 2012;26(6):17-22.
- 178.** Neuenschwander MC, Sataloff RT, Abaza MM y cols. Management of Vocal Fold Scar with Autologous Fat Implantation: Perceptual Results. *Journal of Voice*. 2001;15(2):10.
- 179.** Umeno H, Shirouzu H, Chitose S-I y cols. Analysis of voice function following autologous fat injection for vocal fold paralysis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005;132(1):103-7.
- 180.** Umeno H, Chitose S-I, Sato K, y cols. Long-Term Postoperative Vocal Function after Thyroplasty Type I and Fat Injection Laryngoplasty. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2012;121(3):185-91.

- 181.** DeFatta RA, DeFatta RJ, Sataloff RT. Laryngeal Lipotransfer: Review of a 14-Year Experience. *Journal of Voice*. 2013;27(4):512-5.
- 182.** Pagano R, Morsomme D, Camby S y cols. Long-term Results of 18 Fat Injections in Unilateral Vocal Fold Paralysis. *Journal of Voice*. 2017;31(4):505.e1-505.e9.
- 183.** Khadivi E, Akbarian M, Khazaeni K y cols. Outcomes of Autologous Fat Injection Laryngoplasty in Unilateral Vocal Cord Paralysis. *Iran J Otorhinolaryngol*. 2016 May;28(86):215-219.
- 184.** Hu H-C, Hung Y-T, Lin S-Y y cols. Office-based Autologous Fat Injection Laryngoplasty for Vocal Process Granuloma. *Journal of Voice*. 2016;30(6):7-11.
- 185.** Elbadan HEM, Hussein WKA, Elmaghraby RM. Transcervical fat injection laryngoplasty for unilateral vocal fold paralysis: an easy way to do the job. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2017;274(12):4161-4167.
- 186.** Maccarini AR, Stachinni M, Mozzanica F y cols. Efficacia della laringoplastica iniettiva fibroendoscopica trans-nasale con grasso autologo centrifugato nel trattamento dell'insufficienza glottica da paralisi cordale monolaterale. *Acta Otorhinolaryngologica Italica*. 2018;(3):204-213.
- 187.** Tran HV, Tran-Le PT, Nguyen TV. Treatment of vocal cord paralysis by autologous fat injection: Our experience with 41 patients. *Clin Otolaryngol*. 2019;44(1):76-80.
- 188.** Dominguez L, Villarreal R, Simpson CB. Voice Outcomes of Lipoinjection Versus Medialization Laryngoplasty for Nonparalytic Glottic Insufficiency. *The Laryngoscope*. 2019;129(5):1164-1168.
- 189.** Tucker HM. Direct Autogenous Fat Implantation for Augmentation of the Vocal Folds. *Journal of Voice*. 2001;15(4):565-569.
- 190.** Shaw GY, Szewczyk MA, Searle J y cols. Autologous Fat Injection into the Vocal Folds: Technical Considerations and Long-Term Follow-up. *Laryngoscope*. 1997;107(2):177-86.
- 191.** Fang T-J, Li H-Y, Gliklich RE y cols. Outcomes of Fat Injection Laryngoplasty in Unilateral Vocal Cord Paralysis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;136 (5):457.

- 192.** Tsou Y-A, Liu Y-W, Chang W-D y cols. Using Innovative Acoustic Analysis to Predict the Postoperative Outcomes of Unilateral Vocal Fold Paralysis. *BioMed Research International*. 2016;2016:1-9.
- 193.** McCulloch TM, Andrews BT, Hoffman HT y cols. Long-Term Follow-up of Fat Injection Laryngoplasty for Unilateral Vocal Cord Paralysis: The Laryngoscope. 2002; 112(7):1235-8.
- 194.** Havas TE, Priestley KJ. Autologous fat injection laryngoplasty for unilateral vocal fold paralysis. *ANZ J Surg*. 2003;73(11):938-943.
- 195.** Hsiung M-W, Pai L. Autogenous fat injection for glottic insufficiency: Analysis of 101 cases and correlation with patients' self-assessment. *Acta Oto-Laryngologica*. 2006;126(2):191-196.
- 196.** Hartl DM, Hans S, Crevier-Buchman L y cols. Long-Term Acoustic Comparison of Thyroplasty versus Autologous Fat Injection. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2009;118(12):827-32.
- 197.** Sanderson JD, Simpson CB. Laryngeal complications after lipoinjection for vocal fold augmentation. *Laryngoscope*. 2009;119(8):1652-1657.
- 198.** Boschert M, Beckert BW, Puckett CL y cols. Analysis of lipocyte viability after liposuction. *Plast Reconstr Surg*. 2002;109:761-765.
- 199.** Kim IH, Yang JD, Lee DG y cols. Evaluation of centrifugation technique and effect of epinephrine on fat cell viability in autologous fat injection. *Aesthetic Surg J* 2009;29:35- 39.
- 200.** Pulsfort AK, Wolter TP, Pallua N. The effect of centrifugal forces on viability of adipocytes in centrifuged lipoaspirates. *Ann Plast Surg*. 2007;66:292-295.
- 201.** Kurita M, Matsumoto D, Shiguera T y cols. Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation. *Plast Reconstr Surg*. 2008;121:1033-1041.
- 202.** Rose JG, Lucarelli MJ, Lemke BN y cols. Histologic comparison of autologous fat processing methods. *Ophtal Plast Reconstr Surg*. 2006;22:195-200.

- 203.** Conde-Green A, Baptista LS, de Amorin NF y cols. Effects of centrifugation on cell composition and viability of aspirated adipose tissue processed for transplantation. *Aesthetic Surg J.* 2010;30:249-255.
- 204.** Conde-Green A, de Amorin NF, Pitanguy I. Influence of decantation, washing and centrifugation on adipocyte and mesenchymal stem cell content of aspirated adipose tissue: a comparative study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63:1375-1381.
- 205.** Rubino C, Mazzarello V, Faenza M y cols. A scanning electron microscope study and statistical analysis of adipocyte morphology in lipofilling: comparing the effects of harvesting and purification procedures with different techniques. *Ann Plast Surg.* 2015;74:718-721
- 206.** Piasecki JH, Gutowski KA, Lahvis GP y cols.: An experimental model for improving fat graft viability and purity. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119:1571-1583.
- 207.** Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA. In search of improved fat transfer viability: a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. *Plast Reconstr Surg.* 2004;113:391-395.
- 208.** Pfaff M, Wu W, Zellner E, y cols. Processing technique for lipofilling influences adipose-derived stem cell concentration and cell viability in lipoaspirate. *Aesthetic Plast Surg.* 2014;38:224-229.
- 209.** Kamel AH, Kamal A, Abou-Elghait AT. A quantative analysis of the effects of different harvesting, preparation, and injection methods on the integrity of fat cells. *Eur J Plast Surg.* 2014;37:469-478.
- 210.** Gonzalez AM, Loboeki C, Kelly CP y cols. An alternative method for harvest and processing fat grafts: an in vitro study of cell viability and survival. *Plast Reconstr Surg.* 2007;120:285-294.
- 211.** Khater R, Atanassova P, Anastassov Y y cols. Clinical and experimental study of autologous fat grafting after processing by centrifugation and serum lavage. *Aesthetic Plast Surg.* 2009;33:37-43.

- 212.** Huss FR, Kratz G. Adipose tissue processed for lipoinjection shows increased cellular survival in vitro when tissue engineering principles are applied. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 2002;36:166-171.
- 213.** Fisher C, Grahovac TL, Schafer ME y cols. Comparison of harvest and processing techniques for fat grafting and adipose stem cell isolation. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132:351-361.
- 214.** Salinas HM, Broelsch GF, Fernandes JR y cols. Comparative analysis of processing methods in fat grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2014;134:675-683.
- 215.** Ramon Y, Shoshani O, Peled IJ y cols. Enhancing the take of injected adipose tissue by a simple method for concentrating fat cells. *Plast Reconstr Surg.* 2005 115:197-201.
- 216.** Canizares O Jr, Thomson JE, Allen RJ Jr y cols. The Effect of Processing Technique on Fat Graft Survival. *Plast Reconstr Surg.* 2017;140(5):933-943.
- 217.** Hoareau L, Bencharif K, Girard AC y cols. Effect of centrifugation and washing on adipose graft viability: a new method to improve graftefficiency. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013;66(5):712-719.
- 218.** Girard AC, Mirbeau S, Gence L y cols. Effect of Washes and Centrifugation on the Efficacy of Lipofilling With or Without Local Anesthetic. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2015;3(8):496.
- 219.** Butterwick KJ. Lipoaugmentation for aging hands: A comparison of the longevity and aesthetic results of centrifuged versus noncentrifuged fat. *Dermatolog Surg.* 2002;28:987-991.
- 220.** Khater RH, Atanassova PK, Anastassov YK. Autologous fat transplantation in the facial region-clinical and morphological studies of 30 cases. *Folia Med (Plovdiv).* 2008;50:29-34,
- 221.** Asilian A, Siadat AH, Iraj R. Comparison of fat maintenance in the face with centrifuge versus filtered and washed fat. *J Res Med Sci.* 2014;19:556-561.
- 222.** Botti G, Pascali M, Botti C y cols. A clinical trial in facial fat grafting: filtered and washed versus centrifuged fat. *Plast Reconstr Surg.* 2011;127:2464-2473.

- 223.** Palumbo P, Miconi G, Cinque B y cols. In vitro evaluation of different methods of handling human liposuction aspirate and their effect on adipocytes and adipose derived stem cells. *J Cell Physiol.* 2015;2308:1974-1981
- 224.** Zhu M, Cohen SR, Hicok KC, et al. Comparison of three different fat graft preparation methods: gravity separation, centrifugation, and simultaneous washing with filtration in a closed system. *Plast Reconstr Surg.* 2013;1314:873-880
- 225.** Park H, Williams R, Goldman N y cols. Comparison of effects of 2 harvesting methods on fat autograft. *Laryngoscope.* 2008 Aug;118(8):1493-1499.
- 226.** Siu J, Tam S, Fung K. A comparison of outcomes in interventions for unilateral vocal fold paralysis: A systematic review. *Laryngoscope.* 2016 Jul;126(7):1616-1624.
- 227.** Lagier A, Marie JP. Cirugía de las parálisis laríngeas. *EMC - Cirugía otorrinolaringológica y cervicofacial* 2015;16(1):1-22
- 228.** Rosen CA. Complications of phonosurgery: results of a national survey. *Laryngoscope.* 1998;108:1697-1703
- 229.** Dominici M y cols. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8(4):315-317
- 230.** Moore JH, Kolaczynski JW, Morales LM y cols. Viability of fat obtained by syringe suction lipectomy: effects of local anesthesia with lidocaine. *Aesthetic Plast Surg.* 1995;19(4):335-339.
- 231.** Shoshani O, Berger J, Fodor L y cols. The effect of lidocaine and adrenaline on the viability of injected adipose tissue - an experimental study in nude mice. *J Drugs Dermatol.* 2005;4(3):311-316.
- 232.** Girard AC, Atlan M, Bencharif K y cols. New insights into lidocaine and adrenaline effects on human adipose stem cells. *Aesthetic Plast Surg.* 2013;37(1):144-152.

- Anexo -

12. Anexo

12.1. Autorización del Comité Ético



FPNT-CEIB-04 (B)

DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

Dña. María Tordera Baviera, titular de la Secretaría Técnica del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Hospital Universitario y Politécnico La Fe,

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado en su sesión de fecha **9 de mayo de 2018**, el Proyecto de Investigación:

Título: "TRATAMIENTO DE LA DISFONÍA POR DÉFICIT DE CIERRE GLÓTICO MEDIANTE LARINGOPLASTIA DE MEDIALIZACIÓN CON INJERTOS DE GRASA AUTÓLOGOS. REVISIÓN DEL PROCEDIMIENTO Y SUS RESULTADOS EN UNA SERIA DE CASOS."

Nº de registro: **2018/0111**

Versión/fecha de la memoria del proyecto: **20 de febrero de 2018**

Versión/fecha de la Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado: **2/ 18 de marzo de 2018**

Que dicho proyecto se ajusta a las normativas éticas sobre investigación biomédica con sujetos humanos y es viable en cuanto al planteamiento científico, objetivos, material y métodos, etc, descritos en la solicitud, así como la Hoja de Información al Paciente y el Consentimiento Informado.

En consecuencia, este Comité acuerda emitir **INFORME FAVORABLE** de dicho Proyecto de Investigación que será realizado en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe por el/la **Dr. / Dra. Enrique Salmerón González** del servicio/unidad/grupo de investigación de **QUEMADOS** como Investigador Principal.

Que el CEIm del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento, y que la composición del CEIm del Hospital Universitario y Politécnico La Fe es la indicada en el anexo I, teniendo en cuenta que, en el caso de que algún miembro participe en el estudio o declare algún conflicto de interés, no habrá participado en la evaluación ni en el dictamen de la solicitud de autorización del estudio clínico.

Lo que firmo en Valencia, a 9 de mayo de 2018



Fdo.: Dra. María Tordera Baviera
Secretaría Técnica del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos



FPNT-CEIB-04 (B)

ANEXO I COMPOSICIÓN CEIm

Presidente:

Dra. Adela Cañete Nieto (Oncología Pediátrica)

Vicepresidente:

Dr. Salvador Aliño Pellicer (Catedrático Farmacólogo Clínico)

Secretaría Técnica:

Dra. María Tordera Baviera (Farmacéutica del Hospital)

Miembros:

Dr. Bonaventura Casanova Estruch (Neurología)

Dra. M^a Isabel Izquierdo Macián (Neonatología)

Dr. Luis Vicente Martínez Dolz (Cardiología)

Dra. Paula Ramírez Gallego (Medicina Intensiva - Miembro de la Comisión de Investigación)

Dra. Sara Brugger Frigols (Radiodiagnóstico)

D. Serafin Rodríguez Capellán (Licenciado en derecho - Ajeno a las profesiones sanitarias)

Dña. María Victoria Paricio Gómez (Enfermería)

Dr. José María Canelles Gamir (Farmacéutico de Atención Primaria)

Dr. Matteo Frasson (Cirugía General y Aparato Digestivo)

Dr. José Vicente Solanas Prats (Atención Primaria)

Dña. Pilar Robles Villalba (Vicepresidenta de la asociación de Miastenia - Miembro ajeno a las profesiones sanitarias)

Dr. Javier Lluna González (Cirugía Pediátrica - Miembro del Comité de Ética Asistencial - Formación acreditada en Bioética)

D. Miguel Ángel Cano Torres (Secretario de ASLEUVAL - Miembro Lego - Ajeno a las profesiones sanitarias)



Dirección General, José María Millán Salvador



Dr. Enrique Salmerón González
Servicio de Quemados

Valencia, 11 de junio de 2018.

Asunto: Autorización Inicio de estudio.

Adjunto le remito copia de los Informes Científico y Ético de Investigación, en el que se acuerda informar **favorablemente** sobre el Proyecto de Investigación titulado "Tratamiento de la disfonía por déficit de cierre glótico mediante laringoplastia de medialización con injertos de grasa autólogos. Revisión del procedimiento y sus resultados en una serie de casos", por usted presentado.

A la vista de los dictámenes emitidos, dicho Proyecto, puede iniciarse y llevarse a cabo.

Atentamente,

Dña. Mónica Almiñana Riqué
PD (Acuerdo Patronato 16 de mayo de 2018)

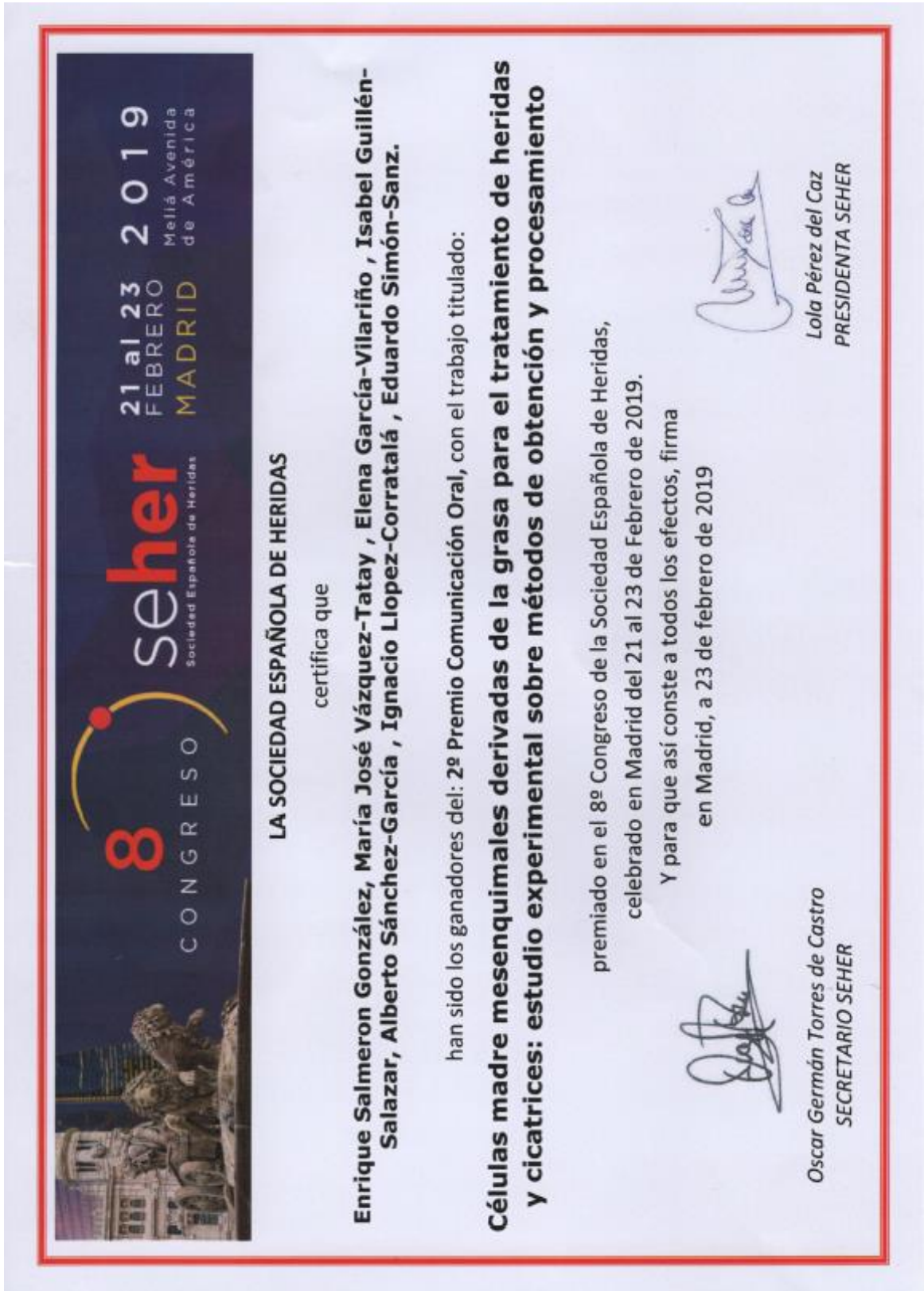
Dña. Rosaura Folch Marl

12.2. Premios recibidos

Premio de investigación de la Real Academia de Medicina de Cataluña “Dr. Francesc Salvà i Campillo” al “mejor trabajo de investigación sobre ciencias básicas, clínicas, médicas o quirúrgicas”



2º Premio a mejor comunicación oral en Congreso Sociedad Española de Heridas



8 CONGRESO **seher** Sociedad Española de Heridas
21 al 23 FEBRERO 2019
Mellá Avenida de América MADRID

LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE HERIDAS
certifica que


Enrique Salmerón González, María José Vázquez-Tatay, Elena García-Vilariño, Isabel Guillén-Salazar, Alberto Sánchez-García, Ignacio Llopez-Corratalá, Eduardo Simón-Sanz.


han sido los ganadores del: **2º Premio Comunicación Oral**, con el trabajo titulado:

Células madre mesenquimales derivadas de la grasa para el tratamiento de heridas y cicatrices: estudio experimental sobre métodos de obtención y procesamiento

premiado en el 8º Congreso de la Sociedad Española de Heridas,
celebrado en Madrid del 21 al 23 de Febrero de 2019.

Y para que así conste a todos los efectos, firma
en Madrid, a 23 de febrero de 2019


Oscar Germán Torres de Castro
SECRETARIO SEHER


Lola Pérez del Caz
PRESIDENTA SEHER

12.3. Presentaciones en congresos

Congreso de Sociedad Española de Cirugía Plástica, Reparadora y Estética



CERTIFICADO

*Enrique Salmerón-González
María José Vázquez-Tatay
Elena García-Vilariño
Isabel Guillén Salazar
Diego Collado Martín
Eduardo Simón-Sanz*

ha participado en el 53º Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cirugía Plástica, Reparadora y Estética (SECPRE) celebrado los días 22, 23 y 24 de mayo de 2019 en Madrid, con con la Comunicación Oral titulada:

**ESTUDIO EXPERIMENTAL COMPARATIVO DE SIETE MÉTODOS DE
PROCESAMIENTO DE INJERTOS
DE GRASA AUTÓLOGA: CUANTIFICACIÓN DE CÉLULAS MADRE Y CINÉTICA
ADIPOCITARIA**

Madrid, 24 de mayo de 2019



Dr. Ramón Calderón Nájera
Presidente SECPRE



Dra. Carmen Iglesias Urraca
Presidenta del Comité
Organizador



Dr. Carlos del Cacho García
Presidente de la Fundación
Docente SECPRE

Secretaría Técnica: BN&Co Congress and Event Management
Paseo de la Castellana 179, entreplanta, 28046 Madrid. Tel. +34 91 571 93 90 - Fax +34 91 571 92 06
E-mail: c.lazaro@bnyco.com

Congreso de Sociedad Española de Heridas



CERTIFICADO DE PRESENTACIÓN

Por medio del presente certifico que

Enrique Salmeron González, María José Vázquez-Tatay, Elena García-Vilariño, Isabel Guillén-Salazar, Alberto Sánchez-García, Ignacio Llopez-Corratalá, Eduardo Simón-Sanz

han presentado la comunicación Comunicación ORAL

(O-13) titulada:

Células madre mesenquimales derivadas de la grasa para el tratamiento de heridas y cicatrices: estudio experimental sobre métodos de obtención y procesamiento

en el 8º Congreso de la **SOCIEDAD ESPAÑOLA DE HERIDAS**,
en Madrid del 21 al 23 de febrero de 2019.

María Dolores Pérez del Caz
PRESIDENTA DEL CONGRESO SEHER 2019

Comunicaciones del Congreso publicadas con ISSN 2530-9218 (edición online)

Congreso de Sociedad Valenciana de Cirugía Plástica, Reconstructiva y Estética



C003

Valencia, 16 de Noviembre de 2018

Por la presente certificamos que:

Salmerón-González, Enrique; Vázquez-Tatay, María José; García-Vilariño, Elena; Guillén Salazar, Isabel; Simón Sanz, Eduardo; Tejerina Botella, Carlos

han presentado una **COMUNICACIÓN** en el *XVI Congreso de la Sociedad de Cirugía Plástica, Reparadora y Estética de la Comunidad Valenciana (SCPRECV)*, celebrado en el Hotel Huerto del Cura, en Elche, los días 16 y 17 de Noviembre de 2018, con título:

Estudio experimental comparativo de 7 métodos de procesamiento de injertos de grasa autóloga: Cuantificación de células madre y cinética adipocitaria

Y para que conste donde convenga, firmamos la presente en fecha y lugar arriba indicados.

Secretaría Técnica
Clave Congresos



scprecv2018.es

Secretaría Técnica Clave Congresos 963764364 cirugiaplastica@clavecongresos.com