



Artículo original/Original article

Efectos de las Radiaciones Laser de Baja Potencia sobre tumores de glándulas submandibulares de rata: Estudios histopatológico e histomorfométrico

Effects of Low Power Laser Radiation on Rat Submandibular Gland Tumors: Histopathological and Histomorphometric Studies

Zanotti Federico, Plavnik Luis M

Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.

*Correspondencia a/Corresponding to:

Dr. Federico Zanotti

Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba

Correo electrónico/E-mail: federico.zanotti@unc.edu.ar

DOI: 10.25014/revfacodont271.2023.33.1.38

<https://revistas.unc.edu.ar/index.php/RevFacOdonto>

Received 17 October 2022; Received in revised form 15 December 2022 Accepted 3 February 2023

Citation: Zanotti F, Plavnik LM. Efectos de las Radiaciones Laser de Baja Potencia sobre tumores de glándulas submandibulares de rata: Estudios histopatológico e histomorfométrico. Rev Fac Odont (UNC). 2023; 33(1):38-46.

Abstract

Salivary gland neoplasms affect the patient's quality of life. Treatments for these tumors are quite restricted and present side effects. The cancer present, mutation with producing an unrestrained cellular proliferation. Studies about the effects of Low Power Laser Therapy (LPLT) on salivary glands showed an apoptosis increase. So, LLT could be a recommended therapy. Objective: to study histopathologic and histomorphometric the effects of higher RLBP doses on malignant tumors induced with DMBA on the submandibular glands of rats. Materials and Methods: Sixty (60) male Wistar rats with a corporal weight of ± 120 g was divided into two groups of thirty (30) a Control Group (CG) and an Experimental Group (EG). Each animal was anesthetized to surgically expose the submandibular glands which were injected with 50 μ L of DMBA. The rats from the CG were kept alive for 150 days post injection and those from EG after 150 days post injection the glands were exposed and then were irradiated with a LPR for 6.5 minutes, and necropsied 12 hours post radiation, and the submandibular glands were extracted. 30 were fixed, following routine procedure and tinted with hematoxylin-eosin stains. The tissues were histopathologically and histomorphometrically studied Results: All the tumors, were myoepithelial carcinoma cells. In the experimental groups, an increase of tumorous apoptotic cells in relation to the control group were detected. These indications were corroborated with the statistics histomorphometric analysis Conclusion: the results of the current study allow us to claim that the effect of RLBP on submandibular glands is y increasing the apoptotic process.

Key words: laser-rats-submandibular-tumors

Resumen

Las neoplasias de glándulas salivales afectan la calidad de vida del paciente. Los tratamientos son restringidos y poseen numerosos efectos secundarios. En el cáncer, aparecen mutaciones que producen una proliferación celular desenfrenada Estudios del efecto de altas densidades de Radiaciones Laser de Baja Potencia (RLBP) sobre glándulas salivales mostraron

aumento de la apoptosis, siendo estas radiaciones un tratamiento alternativo. Objetivo: Estudiar histopatológica e histomorfométricamente los efectos que las RLBP, en densidades de energía altas, producen sobre tumores malignos inducidos con DMBA, en glándulas submandibulares de rata. Materiales y métodos: Se utilizaron sesenta ratas macho Wistar de ± 120 g de peso corporal distribuidos en dos grupos de 30 animales: Grupo control (GC) y Grupo experimental (GE). Ambos grupos fueron anestesiados y se expusieron las glándulas submandibulares, inyectándoseles 50 μ l de DMBA. Las del GC se mantuvieron vivas durante 150 días post inyección; y las del GE también 150 días post inyección y luego, se les aplicó laser de He-Ne durante 6,5 minutos, sacrificándolas a las 12 horas post irradiación. Finalizado el tiempo experimental se extirparon las glándulas submandibulares. Las glándulas derechas fueron fijadas en formol al 10% tamponado y procesadas según la técnica de rutina, obteniéndose cortes seriados teñidos con Hematoxilina-Eosina para estudios histopatológicos e histomorfométricos. Resultados: Todos fueron carcinomas a células mioepiteliales. Histopatológica e histomorfométricamente se observó que en GE aumentaron las células tumorales apoptóticas en relación al GC. Conclusión: Estos hallazgos indican que las RLBP sobre tumores de glándulas submandibulares de ratas, modifican el ciclo celular exacerbando el proceso apoptótico.

Palabras Clave: Láser-Ratas-Submandibular-Tumores.

Introducción

Las glándulas salivales, son sumamente importantes, porque la saliva, tiene un rol fundamentalmente en el mantenimiento de las condiciones biológicas y medio ambientales del ecosistema de la cavidad bucal. Estas glándulas son sensibles a diversos factores (drogas, enfermedades sistémicas, radiaciones, etc.) que pueden causar alteraciones a nivel estructural, sobre la síntesis y secreción salival que conducen a trastornos funcionales en la lubricación y por lo tanto en la masticación, en la deglución y percepción del gusto, un alto índice de caries, ardor y lesiones de los tejidos blandos de la cavidad bucal, etc.^{1,2}

Las neoplasias de glándulas salivales, de baja frecuencia entre los tumores de cabeza y cuello (1%) son los de más alto índice de mortalidad y morbilidad.³ Las neoplasias malignas de las glándulas salivales constituyen más del 0,5-1% de todos los tipos de cáncer y, aproximadamente, de 3 a 5% de todos los de la cabeza y el cuello. Ya sean lesiones benignas (80%), o malignas (0,5%) producen modificaciones funcionales de las mismas.

La transformación de células normales en tumorales puede ser inducida por distintos agentes carcinogénicos: químicos, físicos o infecciosos (drogas, medicamentos, radiaciones, virus, bacterias, etc.), que provocan anomalías en el material genético de las células durante la replicación normal del ADN. Entender la conducta de las células cancerosas significa conocer los procesos biológicos que regulan el ciclo celular y la apoptosis, que conlleva a la activación de mecanismos

específicos que indican a la célula que se produzca una muerte celular programada a través de una serie de eventos que culminan con una destrucción celular ordenada y silenciosa.⁴ Las alteraciones morfológicas de la muerte celular apoptótica que afectan tanto al núcleo como al citoplasma son notablemente similares en todos los tipos de células y especies.^{5,6} Las características morfológicas de la apoptosis son la condensación de cromatina y la fragmentación nuclear, que se acompañan de un redondeo de la célula, una reducción del volumen celular (picnosis) y una retracción de los pseudópodos. La condensación de cromatina comienza en la periferia de la membrana nuclear, formando una estructura en forma de media luna o anillo. La cromatina se condensa aún más hasta que se rompe dentro de una célula con una membrana intacta, característica descrita como cariorrexis. La membrana plasmática está intacta durante todo el proceso. En la etapa posterior de la apoptosis, algunas de las características morfológicas incluyen la formación de ampollas en la membrana, la modificación ultraestructural de los orgánulos citoplásmicos y la pérdida de la integridad de la membrana. En términos generales, se pueden observar tres tipos principales de cambios bioquímicos en la apoptosis: 1) activación de caspasas, 2) degradación de ADN y proteínas y 3) cambios de membrana y reconocimiento por células fagocíticas.⁷

En el cáncer, aparecen mutaciones que dan lugar a la activación de ciertos genes estimulantes o bien a la inactivación de genes supresores de la carcinogénesis. De este modo el equilibrio se rompe y la balanza se inclina hacia la

proliferación desenfrenada y la inmortalización de la célula.

Las posibilidades de tratamiento actuales para este tipo de patologías, ya sean quirúrgicos o radioterapia son bastante restringidas y poseen un elevado índice de efectos secundarios.⁸ Surge así la necesidad de encontrar nuevas alternativas terapéuticas que minimicen esos efectos secundarios indeseables, y que brinden una calidad de vida superior a lo que ofrecen los tratamientos convencionales.

Está ampliamente comprobado que densidades de energía bajas de RLBP (2-8 Joul/cm²) inducen una activación y estimulación de diferentes tipos celulares y sus funciones tales como: síntesis y secreción de proteínas, crecimiento diferenciación y motilidad celular, potenciales de membrana, afinidad a ligandos, liberación de neurotransmisores, fagocitosis, síntesis de prostaglandinas, etc. Generando una acción bioestimulante. Cuando se depositan densidades altas de energía (9 Joul/cm² en adelante) su efecto es inhibitorio o produce destrucción tisular.

Plavnik et al 2003⁹ estudiando el efecto de las radiaciones Láser de baja potencia de He-Ne sobre glándulas salivales normales de cobayos observaron que, lejos de provocar un efecto estimulante del parénquima glandular, indujo procesos apoptóticos del epitelio secretor. Estos resultados se podrían explicar teniendo en cuenta que agentes que actúan permeabilizando la membrana mitocondrial permitirían la salida del citocromo c, que se asocia a la activación de las caspasas y por lo tanto al proceso apoptótico.¹⁰ Lo cual fue establecido con estudios in vitro donde RLBP con diodos producían una disminución de la proliferación tanto en líneas de células epiteliales no-neoplásica como neoplásicas bronquiales. Se verificó además con otras investigaciones un efecto proapoptótico significativo sólo en células de carcinoma.¹¹ Estos estudios utilizaron altas densidades de RLBP de He-Ne las cuales inducían apoptosis en adenocarcinomas de pulmón humanos.

Plavnik et al. 2011¹² en un estudio preliminar sobre el efecto de RLBP sobre tumores inducidos con DMBA en glándulas submandibulares de rata, observaron, que estas radiaciones producían inhibición del crecimiento de células tumorales.

Si consideramos al cáncer como una enfermedad genético-molecular con fuertes modificaciones en el funcionamiento celular, y

considerando las modificaciones que sobre él pueden ejercer las RLBP nos proponemos:

El objetivo de este trabajo fue estudiar histopatológica e histomorfométricamente el efecto que las RLBP, en densidades de energía altas, producen sobre tumores malignos inducidos con DMBA, en glándulas submandibulares de rata.

Materiales y métodos

Se utilizaron sesenta (60) ratas macho Wistar de ± 120 g de peso corporal. El manejo de los animales se realizó siguiendo los lineamientos del National Institute of Health (NIH) y de la reglamentación para el cuidado y uso de animales de experimentación de la Facultad de Ciencias Médicas y Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba.

Los resultados de Brunotto et al. (2006)¹³, como los obtenidos por nosotros¹² a varios tiempos experimentales determinaron que a los 150 días de tiempo experimental post inyección de DMBA en glándulas submandibulares de ratas, se desarrollaban tumores malignos de manera inequívoca.

Por otro lado, Plavnik et al. 2003, 2011^{9,12} demostraron que a las 12 horas post irradiación con RLBP sobre glándulas submandibulares de rata se producían las mayores modificaciones a nivel estructural, ultraestructural y funcional. Considerando estos resultados¹³, los animales se distribuyeron en dos grupos y se planteó el siguiente modelo experimental:

Grupo 1 control (GC): n= 30 ratas a las cuales se les inyectó en el día 0 DMBA en glándulas submandibulares. Se las mantuvieron vivas durante 150 días post inyección.

Grupo 2 experimental (GE): n=30 ratas a las cuales se les inyectó DMBA en glándulas submandibulares. Se las mantuvieron vivas durante 150 días post inyección. Pasado este tiempo experimental, se les aplicó RLBP con densidad de energía alta. Los animales de este grupo se sacrificaron 12 horas post irradiación. Las ratas fueron anestesiadas con una solución de 1.28mg Xilazine / 8mg Ketamine / 100mg de peso corporal inyectada por vía intraperitoneal. Posteriormente se realizó una incisión, exponiendo ambas glándulas submandibulares. Se inyectaron 50 μ l del agente carcinogénico 9,10-dimetil 1,2 benzantraceno (DMBA) disuelto en acetona al 0,5% en la zona media de cada glándula y se suturó. Los animales

controles se sacrificaron a los 150 días post inyección de DMBA.

A los animales del Grupo Experimental (GE) a los 150 días post inyección de DMBA, se irradiaron los tumores con un láser de baja potencia de Helio-Neón de 7mW de potencia con un diámetro de 0.2mm de modo continuo en una sola sesión durante 6,5 minutos, depositándose 50 Joul/cm².¹⁴

Treinta (30) muestras de tumor y glándula residual del lado derecho fueron fijadas en formol al 10% taponado pH 7. El material se procesó según la técnica de rutina y los cortes seriados se tiñeron con Hematoxilina-Eosina. Con estas muestras se evaluaron los cambios histopatológicos y se midieron histomorfométricamente con el programa Image-Pro Plus.

Se midieron:

- Cantidad de células gigantes tumorales que presentaron las siguientes características: células redondeadas, acidófilas de citoplasma homogéneo y de gran tamaño. Se observan en el grupo control ya que forman parte de este tipo de tumor y en el experimental para visualizar si presentan procesos apoptóticos (cromatina periférica condensada) o no.
- Cantidad de células tumorales fusiformes y redondeadas pequeñas. Se observan en el grupo control ya que forman parte de este tipo de tumor y en el experimental para visualizar si presentan procesos apoptóticos o no (cromatina periférica condensada). Se utilizaron dos métodos para cuantificarlas: sin grilla y con grilla con divisiones de 50 μm² contando la cantidad de células que se encuentre por campo.
- Diámetros y cantidad de vasos sanguíneos por campos: se identificaban vasos y diámetros mayores y menores de los mismos.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con la Prueba de Wilcoxon, para muestras independientes y valores de p<0,05 se consideraron significativos.

Resultados

En todos los casos estudiados se observó que el DMBA producía en las glándulas el mismo tumor: carcinoma de células mioepiteliales. En el estudio histopatológico se observó una gran heterogeneidad morfológica, coexistiendo frecuentemente varios tipos celulares (fusiformes, epitelioides, gigantes acidófilas, etc.) y distintos patrones arquitecturales (multinodular, nidos y cordones). Las células se disponían en el seno de un estroma hialinizado y se apreciaban zonas de necrosis. Para confirmar la diferenciación mioepitelial (Fig. 1) se realizaron pruebas inmunohistoquímicas de la expresión en las células tumorales de citoqueratinas (Fig. 1 arriba) y vimentina (Fig. 1 abajo). Ambas marcaciones confirmaron la diferenciación mioepitelial.

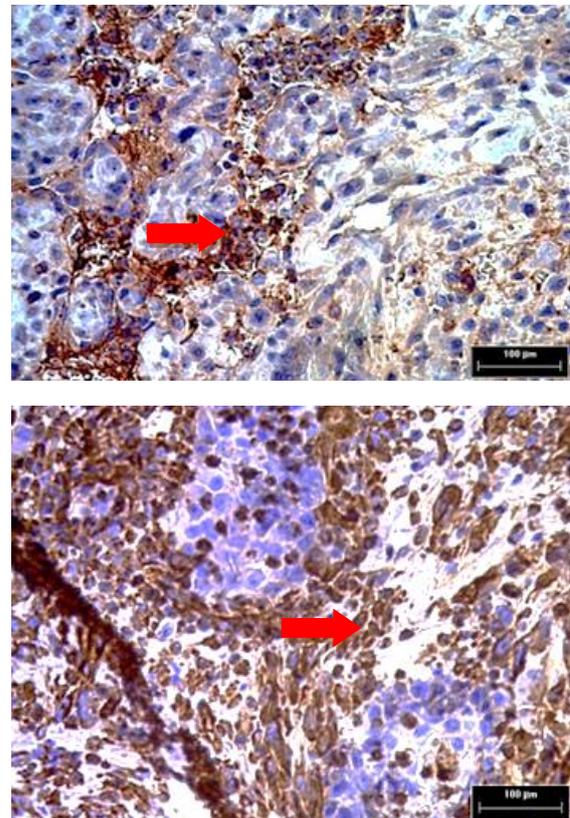


Figura 1. Flecha roja: Inmunomarcaciones específicas para carcinomas de células mioepiteliales: citoqueratinas (arriba) y vimentina (abajo) Magnificación 100

Estudio Histopatológico

Grupo Control: se observaron restos de glándula residual rodeados de células fusadas distribuidas en nidos o cordones (Figura 2 arriba). Estas células neoplásicas eran algunas

gigantes, otras más pequeñas en su mayor parte fusadas y otras epitelioides.

Las células gigantes, son multinucleadas, con núcleos pleomórficos, nucléolos prominentes y citoplasma eosinófilo. En algunas áreas se observan frecuentes mitosis. (Fig. 2 abajo).

Las células fusadas tienen escaso citoplasma eosinófilo, en otro sector hay una clara transición entre células fusadas y gigantes. El aspecto es sarcomatoide. En general se distribuyen una al lado de la otra, pero tienen áreas infiltrativas de los tejidos vecinos. Tienen una vascularización irregular. En otras zonas se pueden observar fenómenos necróticos. Muy poco frecuentes fueron las imágenes de cariólisis.

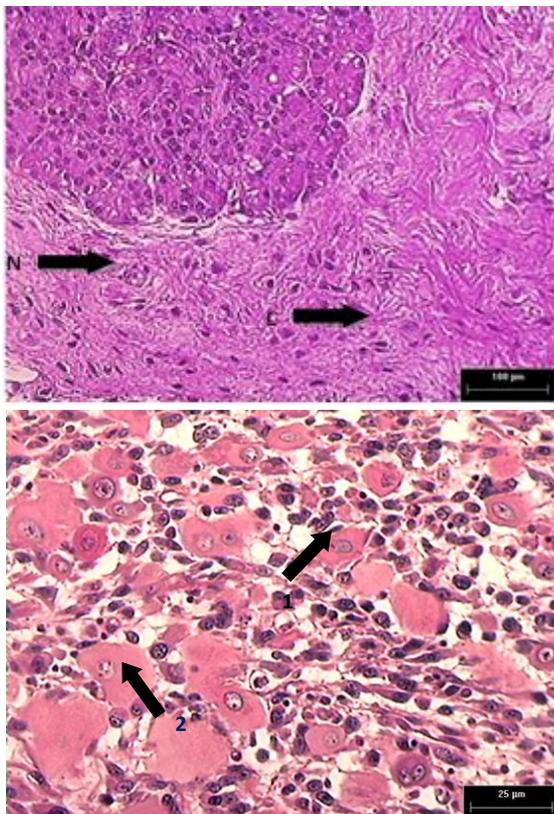


Figura 2. Grupo control Carcinoma de células mioepiteliales, Arriba observamos células fusadas distribuidas en nódulos (N) y cordones (C) Magnificación 100. Abajo se visualiza como estos carcinomas están formados por células epitelioides y fusadas (1) y células gigantes (2). Magnificación 450

Grupo Experimental: Si bien en general son semejantes a las anteriores, el pleomorfismo citológico es mucho mayor.

En amplias áreas predominan células pequeñas o fusadas. Se observan amplias zonas de necrosis por coagulación junto con vasos

congestivos y células tumorales (Fig. 3 arriba). En este grupo además de las zonas de necrosis, observamos células tumorales ahusadas con presencias de gránulos cromatínicos (C) condensados o cuerpos apoptóticos que no se observaban en el grupo control, y células epitelioides con cariólisis, y estallido nuclear (Fig. 3 abajo). El crecimiento es francamente expansivo e infiltrativo, predominando la microtrombosis.

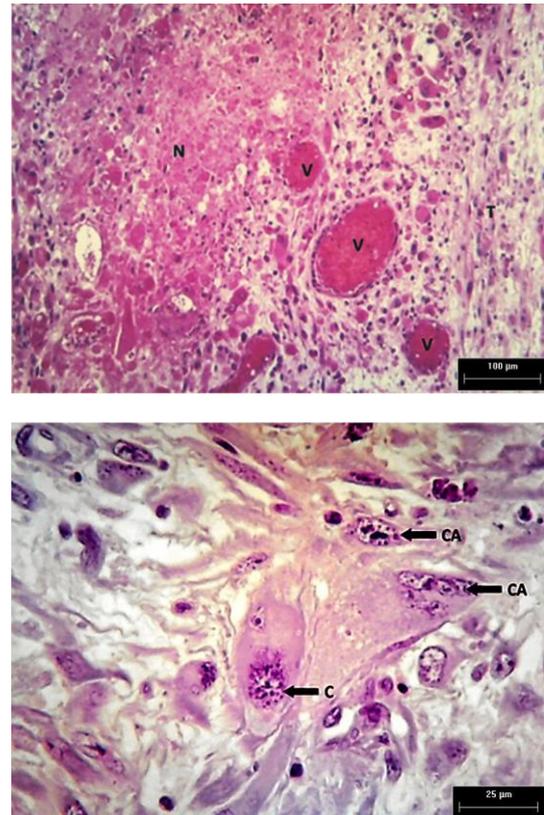


Figura 3. Grupo experimental. Se observan amplias zonas de necrosis por coagulación junto con vasos congestivos y células tumorales (Arriba) Magnificación 100. También se visualizan células tumorales ahusadas con presencias de gránulos cromatínicos (C) condensados o cuerpos apoptóticos que no se observaban en el grupo control, y células epitelioides con cariólisis, y estallido nuclear. (Abajo). Magnificación 450

Estudio histomorfométrico

Se realizaron las siguientes mediciones:

1. Cantidad de células gigantes tumorales redondeadas, acidófilas: que a pesar de que en el grupo E había un promedio mayor de células, esto no resultó estadísticamente significativo. (Fig. 4).
2. Cantidad de células pequeñas apoptóticas células ahusadas o redondeadas y núcleos

con cromatina condensada periféricamente. se realizó el estudio estadístico de las medias, desviación estándar y mediana de ambos grupos estudiados: control y experimental observándose en todos los casos valores mayores en el grupo experimental y siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0061$), (Fig. 4).

3. Diámetros y cantidad de vasos sanguíneos por campos.

Los vasos sanguíneos por campo estudiado, fueron 6 por imagen (3 para cada grupo), se determinó mayor cantidad de vasos sanguíneos en el grupo control que en el experimental, aunque no existían diferencia estadísticamente significativa (Fig. 4).

Con respecto al tamaño vascular hubo entre los dos grupos se observó una mayor vasodilatación en el grupo experimental, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Fig. 4).

Discusión

Las neoplasias de glándulas salivales son una de las causantes de la destrucción glandular. Si bien son de baja frecuencia entre los tumores de cabeza y cuello (1%) son los de más alto índice de mortalidad y morbilidad³. Los tumores de las glándulas salivales representan un grupo heterogéneo morfológica y clínicamente de neoplasias. Comparativamente entre las tres principales glándulas salivales, el desarrollo de tumores de glándulas submandibulares tiene el peor pronóstico.

Según algunas investigaciones, DMBA indujo diferentes tipos de tumores con alteraciones tempranas de fenotipos en la oncogénesis en glándulas submandibulares de ratas.^{13,15} En este trabajo observamos que los carcinomas que se desarrollaban por efecto del DMBA estaban siempre asociados a células mioepiteliales, al igual que lo informado por otros autores.^{16,17,18} Estos hallazgos se corroboraron con estudios histopatológicos e inmunomarcaciones con vimentina y citoqueratinas.

Estas respuestas diferentes parecen estar relacionadas con la forma en que cada tipo de tejido responde a los agentes cancerígenos, así como a la multicausalidad de la formación de tumores y sugieren que son necesarias al menos dos mutaciones genéticas para la inducción de

carcinomas de células mioepiteliales (MEC) en glándula submandibular de rata.^{13,16}

En el grupo experimental observamos un aspecto similar al control, pero las células predominantes fueron las fusadas, y las epiteloideas que presentaban cariólisis, estallido nuclear y presencia de cuerpos apoptóticos; también observamos vasos congestivos y zonas de necrosis. Los hallazgos histopatológicos en este trabajo confirman los resultados de Carcinoma MEC de glándula submaxilar. Estos resultados coinciden con los de Bascones Encinas et al. 2014¹⁹ que mostraron una proliferación neoplásica de límites infiltrantes, que crece formando nidos y cordones, constituida por células de citoplasmas amplios y morfología plasmocitoide y epiteloide. Los núcleos son atípicos con moderado pleomorfismo y nucléolo prominente. Las células se disponen en el seno de un estroma hialinizado. Sin embargo, estos investigadores no observaron apoptosis, zonas de necrosis por coagulación ni vasos congestivos, como en este trabajo, posiblemente porque no se utilizaron RLBP, infiriendo entonces que ellas son la causa de estas características histopatológicas. Cantidad de células pequeñas apoptóticas: son células ahusadas o redondeadas que presentaban núcleos con cromatina condensada periféricamente.

Los resultados histomorfométricos de este trabajo demostró a través del análisis estadístico de las medias, desviación estándar y mediana de ambos grupos estudiados que: los grupos control y experimental expresaron en todos los casos valores mayores en el grupo experimental siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0061$) lo que está indicando que las RLBP indujeron de manera altamente significativa a la apoptosis de las células tumorales.

El mismo autor propone en cuanto al tratamiento, la cirugía con amplios márgenes de seguridad como el más efectivo en el manejo de los carcinomas mioepiteliales. Diferentes investigadores^{19,20,21,22} afirman que en general el tratamiento de tumores de glándulas salivales es quirúrgico debiendo realizarse la recesión de alguna de ellas. La radioterapia constituye una importante alternativa terapéutica en circunstancias en que los márgenes quirúrgicos son positivos, cuando el grado de malignidad es elevado, cuando hay compromiso de algún nervio o se detectan ganglios positivos y también cuando puede producirse siembra del

tumor durante la cirugía por ruptura de la cápsula. Pero ambos tratamientos producen efectos indeseados asociados (xerostomía, estomatitis, etc.). En nuestra experiencia los resultados de la utilización de RLBP sugieren que estas radiaciones ejercen una acción de freno del crecimiento desenfrenado de las células tumorales y estimularon la apoptosis de las mismas. Esto es coincidente con los trabajos de Plavnik et al. (2003)⁹ estudiando el efecto bioestimulante de las radiaciones láser de baja potencia de He-Ne sobre glándulas salivales normales de cobayos en los que observaron que, se indujo a procesos apoptóticos del epitelio secretor. Estos resultados también coinciden con los de Volker Hans Schartinger et al. (2012)¹⁰ que establecieron en estudios in vitro que las RLBP con diodos producían una disminución de la proliferación tanto en líneas de células epiteliales no-neoplásica como en neoplásicas bronquiales. Observamos además un efecto proapoptótico significativo sólo en células del carcinoma al igual que Schartinger et al, 2012)¹⁰ y Fang Wang et al. (2005)¹¹ quienes confirmaron estos datos midiendo la dinámica de actividad de Caspasa 3 en células vivas y durante la apoptosis inducida por las RLBP.

Está ampliamente comprobado que densidades de energía bajas de estas radiaciones (2-8 Joul/cm²) inducen una activación y estimulación de diferentes tipos celulares y sus funciones, por lo contrario, cuando se depositan densidades altas de energía (9 Joul/cm² en adelante) su efecto es inhibitorio o produce destrucción tisular.

Otros autores sugieren que independientemente de la densidad de energía aportada, las RLBP producirían una estimulación celular.²³ La estimulación o inhibición de las funciones fotorreceptoras, que forman parte de la cadena de respiración celular, determina la magnitud de la proliferación celular.

En este contexto cobra importancia en el análisis del efecto de las RLBP sobre el cáncer, el modelo sobre el cual se evaluará sea este in vivo o in vitro. La mayoría de los estudios sobre la acción del RLBP sobre células tumorales que indican aumento de la proliferación celular se realizan sobre cultivos celulares.¹⁰ Sin embargo, este estudio como el de Plavnik et al. (2011) en un estudio preliminar sobre el efecto de RLBP sobre tumores inducidos con un carcinógeno químico el DMBA en glándulas submandibulares de rata, observaron, que estas

radiaciones producían inhibición del crecimiento de células tumorales. Estos datos evidencian que los resultados in vitro de los efectos de las RLBP sobre líneas celulares aisladas, no pueden ser extrapolados en forma directa ya que dejan de lado los procesos biológicos complejos involucrados en el desarrollo del cáncer, por lo que refuerza la necesidad del desarrollo en modelos experimentales in vivo.

Existe controversia en cuanto a si los estudios morfológicos con microscopía óptica de luz sobre apoptosis son suficientes para un diagnóstico certero. Algunos autores piensan que el estudio con microscopía electrónica de transmisión (gold standard) y además los análisis bioquímicos y de biomarcadores son los más confiables. Otros consideran que, aunque los cambios bioquímicos explican en parte algunos de los cambios morfológicos en la apoptosis, es importante tener en cuenta que los análisis de la fragmentación del ADN o la activación de caspasas no deben usarse para definir exclusivamente la apoptosis, ya que ésta puede ocurrir sin fragmentación del ADN oligonucleosómico y puede ser caspasa independiente.⁶ El Comité de Nomenclatura sobre Muerte Celular (NCCD) ha propuesto que la clasificación de las modalidades de muerte celular dependa exclusivamente de criterios morfológicos porque no existe una equivalencia clara entre los cambios ultraestructurales y características de muerte celular bioquímica.²⁴

Conclusiones

Considerando los resultados encontrados en este estudio se propone que:

- En todos los casos estudiados la inducción de tumores con DMBA en glándulas submandibulares de rata condujeron al desarrollo de tumores malignos epiteliales-células mioepiteliales.
- Las RLBP produjeron sobre las células tumorales modificaciones histopatológicas e histomorfométricas que indicaron un freno al ciclo celular de las células tumorales.
- Los hallazgos presentados nos permiten postular que el efecto de las RLBP sobre tumores de glándulas submandibulares de ratas, inducidos con DMBA, es el de modificar el ciclo celular de la célula

tumoral aumentando el proceso apoptótico en ellas.

Este trabajo indica y en cierta manera propone de manera clara que este tipo de radiaciones deberían ensayarse con mayor profundidad en el tratamiento de tumores malignos de glándulas salivales.

Conflicto de intereses/Conflict of interest

Todos los autores declaran que no existen conflictos potenciales de interés con respecto a la autoría y / o publicación de este artículo.

All authors declare no potential conflicts of interest with respect to the authorship and/or publication of this article.

Referencias

- Son E., Panwar A, Mosher C.H., and Lydiatt D. Cancers of the Major Salivary Gland.. *Journal of Oncology Practice*. 2018. 14 (2).
- Sana F., Muhammad M, Aqsa R, Kaleem Ullah Muhammad K, Saima M, Saqib Ali, Muhammad Waqar and Aiman. Composition and Function of Saliva: A review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2020; 9(6): 1552-1567
- Mehanna H; Paleri V; West C; Nutting C. Epidemiology, presentation, and prevention. *BMJ*. 2010; 20; 341:c4684.
- Kumar Vinay; Abbas Abul; Aster Jon. Robbins basic pathology, 10th Ed. Elsevier. Philadelphia Pennsylvania. 2018. Cap 2 pp. 31-56.
- Goldar S; Khaniani MS; Derakhshan SM; Baradaran B. Molecular Mechanisms of Apoptosis and Roles in Cancer Development and Treatment. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015; 16(6):2129-44.
- Galluzzi L et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death Cell Death & Differentiaon. 2018;25(3):486-541.
- Obeng E. Apoptosis (programmed cell death) and its signals - A review. *Brazilian Journal of* 2020. 81 (4), <https://doi.org/10.1590/1519-6984.228437>
- Silvestre-Donat FJ; Puente Sandoval A. 2008 *Av. Odontostomatol*; 24 (1): 111-121.
- Plavnik LM; Crosa M; Malberti A. Effect of low power radiation (He-Ne) upon submandibular glands. *J Clinical Laser Med Surg*. 2003; 21: 219-225.
- Schartinger VH; Galvan O; Riechelmann H; Dudás J. Differential responses of fibroblasts, non-neoplastic epithelial cells, and oral carcinoma cells to low-level laser therapy. *Support Care Cancer*. 2012; 20(3):523-9.
- Wang F; Chen TS; Xing D; Wang JJ; Wu YX. Measuring Dynamics of Caspase-3 Activity in Living Cells Using FRET Technique During Apoptosis Induced by HighFluence Low-Power Laser Irradiation. *Lasers Surg Med*. 2005;36(1):2-7.
- Plavnik LM; Malberti A; Fontana S. Efecto de las radiaciones laser de baja potencia (RLBP) de helio neón sobre tumores de glándulas submandibulares de ratas inducidos con DMBA. *Cúspide* 2011; 23: 21-24
- Brunotto M; Malberti A; Zárata AM; Barra JL; Calderón O; Piñas E; Plavnik L; Crosa M Early phenotypic and genotypic alterations in submandibular gland oncogenesis in rats. *Acta Odontol Latinoam*. 2006; 19(1):13-21.
- Hernández Díaz Adel; Orellana Molina Alina. Dosimetria en Laseres de Baja Potencia. Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN) XV, 2012;194.
- Brunotto M, Zárata AM. Mecanismos genético-proteicos en la carcinogénesis experimental de glándulas salivales submandibular y parótida. *Rev Fac Odont*. 2019; 29(2)
- Ogawa Y; Wan F; Toyosawa S; Ijuhin N. Induction of adenocarcinoma containing myoepithelial cells in rat submandibular gland by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. *Virchows Arch*. 2000;437(3):314-24.
- Mantesso A; Loducca S V L; Jaeger RG; Décio S P J; Araújo V C. Analysis of epithelial-myoepithelial carcinoma based on the establishment of a novel cell line. *Oral Oncology*. 2003, 39(5):453-458.
- Massimo P.; Massimo Robiony; A., Claudio; Orsaria M. Epithelial-myoepithelial carcinoma of the parotid gland Clinicopathological aspect, diagnosis and surgical consideration. *Ann Maxillofac Surg*. 2014; 4(1): 99-102.
- Bascones Encinas Alejandro; Escribano Adam Natalia; delaSena Oscar; Falahata Falahat; Martín-Granizoa Rafael; Berguer Alberto. Carcinoma mioepitelial de glándula submaxilar.Caso clínico y revisión de la literatura.. *Rev Esp Cir Oral Maxilo fac*. 2014. pp 1-6
- Bell Bryan; Dierks Eric; Homer Louis; Potter Bryce. Management and Outcome of Patients with Malignant Salivary Gland Tumors. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005; 63:917-928.
- Yang S; Li L; Zeng M; Zhu X; Zhang J; Chen X. Myoepithelial carcinoma of intraoral minor salivary glands: a clinicopathological study of 7 cases and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010;110(1):85-93.
- Soberanis-Piña, Fernández-Ferreira R; Buerba-Vieregge H.H.; Varela-Santoyo E.; Rodriguez-Cid J.R.; Macari-Jorge A.; Dorantes-Heredia R. Myoepithelial Carcinoma Arising in a Plasmacytoid Myoepithelioma of the Parotid Gland Synchronized with Melanoma: A Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Oncol* 2021; 14:173–183.

23. Barbosa Pinheiro Antonio Luiz; Carneiro do Nascimento Silene; de Barros Vieira Alessandro Leonardo; Barros Rolim Aluizio; Soriano da Silva Pedro; Pinheiro Aldo Brugnera Jr., Does LLLT Stimulate Laryngeal Carcinoma Cells? An In Vitro Study. *Braz Dent J.* 2002; 13(2): 109-112.
24. Kroemer G; El-Deiry W S; Golstein P; Peter M E; Vaux D, Vandenabeele P; Zhivotovsky B; Blagosklonny M V; Malorni W; Knight R A; Piacentini M; Nagata S; Melino G. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature

Committee on Cell Death. *Cell Death and Differentiation* volume 2005, 12: 1463-1467.



Publisher's Note: This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

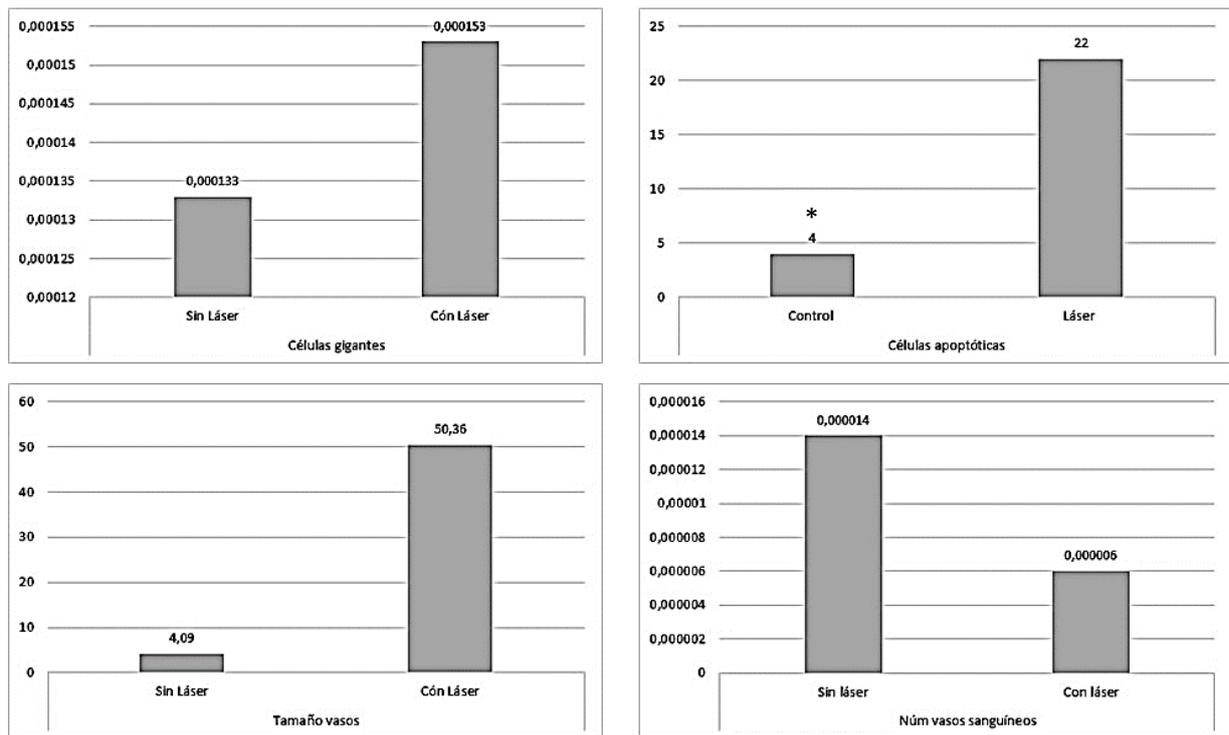


Figura 4. Estudio histomorfométrico de animales tratados con láser (n=4) y controles (sin láser; n=7). En todas las gráficas el eje y (ordenada) representa el valor de la mediana en cada variable estudiada. Mediciones: Tamaño vasos sanguíneos (mm); Cantidad vasos sanguíneos (número); Células apoptóticas (número) *p=0,0061; Células gigantes (número). La variabilidad de las variables tamaño de vasos sanguíneos, cantidad de vasos sanguíneos y número de células gigantes fue muy alta por lo cual no se observaron diferencias significativas. P-valor<0,05 indica significación estadística.