

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



**Módulo 3D para la detección de Fluoresceína Sódica a bajo costo útil en
la Neurocirugía guiada por Fluorescencia**

Por

DRA. MIRIAM DELGADO -BRITO

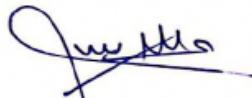
“Como requisito para obtener el grado de”

ESPECIALIDAD EN NEUROCIRUGÍA

FEBRERO 2024

**Módulo 3D para la detección de Fluoresceína Sódica a bajo costo útil en
la Neurocirugía guiada por Fluorescencia**

Aprobación de la tesis:



Dr. Jesús Alberto Morales Gómez

Director de tesis



Dr. med Ángel Martínez Ponce de León

Co-director de Tesis

Jefe del Centro Universitario para las Enfermedades Neuroquirúrgicas

“Dr. Román Garza Mercado”



Dr. med Felipe Arturo Morales Martínez

Subdirector de Estudios de Posgrado

COLABORADORES

Dr. Alejandro Mayagoitia Ponce ¹

Dr. Omar Castañeda Navarrete ¹

¹ Centro Universitario para las Enfermedades Neuroquirúrgicas “Dr. Román Garza Mercado”.

Hospital Universitario, “Dr. José Eleuterio González”.

Universidad Autónoma de Nuevo León.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres:

Vicente Delgado López y Rosalba Brito Rosillo

Mi hermana gemela:

Montserrat Delgado Brito

Son los pilares de mi vida

y

Julián, Omar y Alejandro

Sin ustedes no hubiera sido posible

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla 1. Costos por manufactura	69

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
Figura 1. Lentes ZEISS OPMI Vario S88, ZEISS OPMI Pentero.....	48
Figura 2. Boceto de marco óptico.....	49
Figura 3. Plano y dimensiones de marco óptico	50, 51
Figura 4. Vista 3D de marco óptico	52, 53
Figura 5. Software Ultimaker Cura 2+. Formato de STL	54
Figura 6. Proceso de impresión 3D	55
Figura 7. Modelo físico en 3D de marco óptico	56, 57
Figura 8. Boceto de módulo de detección de fluorescencia	58
Figura 9. Filtro óptico de paso de banda azul.....	60
Figura 10. Gráfico de longitud y velocidad de transmisión	60
Figura 11. Filtro óptico de paso largo amarillo-naranja	61
Figura 12. Gráfico de longitud y velocidad de transmisión	61
Figura 13. Modelo físico del módulo de detección de fluorescencia.....	62
Figura 14. Proceso de ensamble de módulo de detección de fluorescencia al microscopio quirúrgico.....	63
Figura 15. Configuración intraoperatoria de marco óptico 3D	64
Figura 16. Demostración del fenómeno de fluorescencia experimental y en un modelo in vivo.....	68

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
I. RESUMEN.....	4
II. INTRODUCCIÓN.....	8
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	26
IV. JUSTIFICACIÓN.....	28
V. HIPÓTESIS	31
VI. OBJETIVOS	33
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	35
VIII. RESULTADOS.....	38
IX. DISCUSIÓN.....	70
X. CONCLUSIONES.....	75
XI. PERSPECTIVAS	77
XII. BIBLIOGRAFÍA	79
XIII. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO.....	35

Capítulo I

RESUMEN

Dra. Miriam Delgado Brito

Febrero de 2024.

Candidato para el grado de **Especialidad en Neurocirugía**

Universidad Autónoma de Nuevo León

Hospital Universitario, “Dr. José Eleuterio González”

Centro Universitario para las Enfermedades Neuroquirúrgicas “Dr. Román Garza Mercado”

Título del estudio: **Módulo 3D para la detección de Fluoresceína Sódica a bajo costo útil en la Neurocirugía guiada por Fluorescencia.**

Área de estudio: **Ciencias de la Salud**

INTRODUCCIÓN. En el ámbito neuroquirúrgico el desarrollo y la implementación de las propiedades espectrales de la fluorescencia a la par con introducción del microscopio a la sala de operaciones han un cambio de paradigma en los enfoques neuroquirúrgicos de las patologías neurooncológicas y cerebrovasculares.

La evolución de los sistemas de detección de fluorescencia ha sido revolucionados por la industria y se ha logrado la integración de módulos de fluorescencia a los microscopios quirúrgicos de última generación, sin embargo, es conocido que su adquisición implica un costo inalcanzable para países en vías de desarrollo.

OBJETIVO. Desarrollar un módulo 3D para la detección de Fluoresceína Sódica a bajo costo útil en la Neurocirugía guiada por Fluorescencia.

MÉTODOS. Se desarrollo un estudio de tipo de desarrollo tecnológico e invención con base en los niveles de maduración tecnológica de un alcance descriptivo.

RESULTADOS. Se obtuvo el diseño, innovación y se estandarizó el proceso de manufactura de un módulo universal a partir de la tecnología 3D para la detección de fluoresceína sódica a bajo costo para su uso en la Neurocirugía guiada por fluorescencia.

Se logró la validación tecnológica en condiciones de un entorno relevante (condiciones que simulan un condiciones existentes en un entorno real) en un modelo experimental, el cual corresponde a un nivel TRL 5. Se obtuvo una buena calidad en la imagen, adecuada iluminación, percepción de colores y adecuada discriminación entre la señal fluorescente y los tejidos circundantes.

CONCLUSIONES. Se logró el desarrollo y la validación experimental de un módulo de detección de fluorescencia para fluoresceína sódica a partir de la tecnología 3D a bajo costo en el Centro Universitario para las Enfermedades Neuroquirúrgicas “Dr. Román Garza Mercado” a través del modelo propuesto según los niveles de maduración tecnológica.

Capítulo II

INTRODUCCIÓN

El desarrollo tecnológico de las imágenes de fluorescencia en el último siglo ha revolucionado el campo de la investigación básica en la visualización de biomoléculas y células y a la par su potencial uso en la investigación clínica (1) (2) (3).

El uso de la fluorescencia en el ámbito quirúrgico se remota a 1947 cuando se utilizó por primera vez como guía en la resección de un tumores cerebrales (4) desde entonces, la fluorescencia representa un pilar importante dentro del entorno clínico y la investigación.

Principios ópticos y físicos de la fluorescencia

Cuando cualquier objeto se ilumina con luz blanca, que incluye todas las longitudes de onda del espectro visible (400-700 nm), el objeto absorberá ciertas longitudes de onda de luz y otras serán dispersadas dependiendo de las diferentes estructuras de los distintos tejidos. Las longitudes de onda reflejadas corresponden al color percibido. La luz es absorbida principalmente por los llamados cromóforos; moléculas que definen el color del tejido debido a diferentes propiedades de absorción (y no absorción), como el contenido de agua, lípidos o proteínas, entre estos últimos se encuentra la hemoglobina, posteriormente la luz absorbida transporta energía que se transfiere a los átomos y moléculas de las células y se transforma en parte en calor o en parte se reemite como fluorescencia.

El mecanismo de absorción se ilustra mejor utilizando un diagrama de Jablonski simplificado. Tras la exposición a la luz, la molécula absorbente, o cromóforo, se excita desde su estado electrónico fundamental (S_0) a un estado electrónico excitado (S_1). La longitud de onda de la luz absorbida (λ_{abs}) corresponde a la brecha de energía entre S_0 y S_1 , una propiedad intrínseca del cromóforo. Luego, el cromóforo puede regresar al estado

fundamental liberando energía en forma de calor. Por ejemplo, los cromóforos del asfalto se excitan a S1 al absorber todas las longitudes de onda de la luz solar.

La fuente de luz más utilizada en el quirófano es la luz blanca procedente del techo o de una lámpara de luz. Tras la iluminación del parénquima cerebral, el tejido expuesto puede percibirse de color amarillo. Esto se debe a la propiedad inherente del tejido cerebral de absorber la luz azul violeta y reflejar la luz amarilla. Si un tejido se tiñe con azul de metileno, al iluminarse con luz blanca, se absorbe luz roja (600-700 nm) y las longitudes de onda de luz restantes se reflejan, detectan e interpretan como azul.

La fluorescencia se produce cuando la luz incidente excita los electrones de las moléculas del tejido para que alcancen un nivel de energía más alto, dicho resultado es sólo temporal (normalmente en milisegundos), a diferencia del proceso de fosforescencia (minutos u horas), que es más lento debido a otro comportamiento de los electrones en su estado excitado. Los electrones excitados regresarán del nivel superior a su estado fundamental y luego liberarán la energía en forma de luz, ahora en una longitud de onda más larga (correspondiente a una energía más baja) que la luz originalmente excitante. Los tejidos tienen espectros de absorción y emisión específicos y en algunas longitudes de onda de luz la absorción se reduce, es decir, la excitación. Las sustancias capaces de esto se llaman fluoróforos.

Sondas fluorescentes

Un fluoróforo o fluorocromo es un tipo de colorante fluorescente usado para marcar proteínas, células y tejidos con una etiqueta fluorescente para examen microscópico. Trabaja por medio de absorción de energía en determinada región de longitud de onda, referido comúnmente como rango de excitación y, reemitiendo dicha energía en otro rango de excitación conocido como rango de emisión. En general, un fluoróforo será excitado (absorberá energía) por iluminación de alta frecuencia (longitudes de onda en la región del espectro ultravioleta, violeta o azul) y emitirá energía en frecuencias discretamente menores (longitudes de onda en la región del espectro verde, rojo o infrarrojo cercano. Cada fluoróforo tiene una longitud de onda a la cual absorberá energía de forma más eficiente (Pico de excitación λ), y una longitud de onda correspondiente a la cual el máximo de energía absorbida es reemitida (Pico de emisión λ). (5)

Los fluoróforos pueden ser endógenos o exógenos. Las sustancias administradas exógenamente pueden mejorar las propiedades fluorescentes de los fluoróforos endógenos.

Sus aplicaciones técnicas han sido muy amplias, incluyen desde su uso en la guerra (pilotos que eran forzados a amarizar utilizaban fluroesceína de sodio para solicitar rescate) hasta la industria de los combustibles (detección de fugas en tuberías submarinas de aceite o gas). Sin embargo, su aplicación en medicina inició desde 1946, específicamente en cáncer gástrico, donde una inyección del compuesto permitía discernir entre tejido tumoral y tejido sano bajo iluminación con luz violeta. (6)

Los fluoróforos se utilizan para proporcionar contraste entre el objetivo de interés y el tejido circundante. Si bien se han investigado y desarrollado muchas sondas de fluorescencia muy pocas se utilizan de forma rutinaria hoy en día. (7).

En esta sección nos centramos en 3 agentes porque son moléculas aprobadas por la Federación de Drogas y Alimentos (FDA), además son de uso común en la literatura neuroquirúrgica y miembros representativos de clases importantes de moléculas fluorescentes que los neurocirujanos puede encontrar en estudios preclínicos y ensayos clínicos.

Ácido 5-aminolevulínico (5-ALA)

Las porfirinas y sus derivados están omnipresentes en los sistemas biológicos, en diferentes células, en enzimas o en las mitocondrias.

El ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) es un componente endógeno en la vía de síntesis del hemo. Fue aprobado por primera vez como Gliolan (medac GmbH, Wedel, Alemania) en la UE en 2007 y por la FDA en los EE. UU. en 2017.

Se administra por vía oral a pacientes en una dosis de 20 mg/kg 3 h antes de la cirugía y se convierte naturalmente en PpIX (Protoporfirina IX), un precursor fluorescente del hemo que se acumula en las lesiones de origen glial debido al aumento de la permeabilidad local de la barrera hematoencefálica (BHE) y a la síntesis de PPIX (8) (9).

La PpIX acumulada tiene una fuerte absorción en el rango espectral violeta (380 a 420 nm) y emite fluorescencia roja (620 a 710 nm) con picos a 635 y 704 nm en tejido. Al

mismo tiempo, existe una banda ancha de fluorescencia endógena con un máximo de 520 nm.

Bajo el filtro de luz azul del microscopio operatorio se puede observar una luminiscencia roja en el tumor. El tejido cerebral normal se percibirá de color azul. El cirujano debe diferenciar entre fluorescencia roja "sólida" y "vaga", que significa "fuerte" y "débil" respectivamente. La fluorescencia intensa se puede resear de forma segura fuera de las áreas elocuentes, mientras que la fluorescencia débil parece coincidir con la zona marginal del tumor, lo que potencialmente lleva al cirujano a dominios de tejido funcionales (10) (11).

Una de sus limitaciones su baja señal de fluorescencia en algunos tumores de bajo grado y en los márgenes del tumor debido a la acumulación reducida de fluoróforo, que suele ser inferior a 0,1 µg/mL. Además, la PpIX es menos brillante que otros fluoróforos, como el verde de indocianina (por sus siglas en inglés ICG), que es 27 veces más brillante, y la fluoresceína sódica (FS), que es 180 veces más brillante. El uso de 5-ALA podría causar efectos secundarios menores, como sensibilización de la piel.

Verde Indocianina (ICG)

Es un colorante de cianina hidrofóbico que se une firmemente a las proteínas plasmáticas, confinándolo al espacio intravascular y, por lo tanto, puede usarse para angiografía, cirugía cerebrovascular, drenaje de ganglios linfáticos y definición de la vasculatura intracerebral durante la resección de tumores cerebrales.

Es el primer fluoroforo infrarrojo aprobado por la FDA está indicado para determinar el gasto cardíaco, la función hepática y el flujo sanguíneo hepático, angiografía oftálmica y evaluar la perfusión tisular.

Durante el período de 24 h, el ICG se acumula dentro del tejido tumoral debido a una (12) (13) microambiente tumoral hipóxico.

Además , tiene una tasa muy baja de reacciones adversas (<0,1%). Se ha descrito en el que se utilizan dosis altas de ICG (5,0 mg/kg) administrado 24 h antes de la cirugía, en lugar de una dosis más baja (2,5 mg/kg) administrada intraoperatoriamente.

En un modelo de roedor de glioblastoma multiforme (GBM), la señal de fluorescencia alcanzó su punto máximo 1 h después de la administración, disminuyó rápidamente durante las siguientes 6 h y alcanzó un meseta que persistió durante al menos 48 h. Los ensayos en humanos demostraron relaciones señal-fondo a las 24 h que fueron consistentes con las predicciones de los estudios en animales.

La estabilidad de la señal de fluorescencia dentro de esta “segunda ventana” sostenida puede producir características de señal comparables incluso entre pacientes con GBM, lo que potencialmente permite para una visualización de fluorescencia más consistente de los tumores.

Fluoresceína sódica (FS)

La fluoresceína sódica (FS) es un fluoróforo de xantina de color amarillo verdoso bien tolerado que está indicado para angiografía oftálmica y tinción corneal, y puede usarse en procedimientos cerebrovasculares y para detectar fístula de líquido cefalorraquídeo (LCR).

La fluoresceína es un agente pasivo y se extravaza de la vasculatura a los tejidos. Donde se alterada la BHE, que no están restringidas definitiva ni exclusivamente al tejido tumoral y pueden encontrarse en áreas de edema o lesión quirúrgica. Además, la acumulación de FS dentro del tumor depende de la degradación de la BHE y de la permeabilidad vascular, que puede no ser consistente observado en todos los tipos de tumores.

Aplicaciones quirúrgicas de la fluoresceína

La cirugía guiada por fluorescencia (FGS) se basa en la acumulación de un fluorescente administrado tinte y visualización de la señal de fluorescencia durante la cirugía, dicho enfoque tiene una particular utilidad en cirugía oncológica, donde la extensión exacta de las lesiones neoplásicas puede no ser evidente sin embargo una resección máxima segura es esencial (7).

En el ámbito neuroquirúrgico el desarrollo y la implementación de las propiedades espectrales de la fluorescencia a la par con introducción del microscopio a la sala de operaciones han permitido el desarrollo incluso de diferentes subespecialidades en el campo de la neurocirugía entre las que se encuentran la Neurocirugía Oncológica y Vascular.

En su forma más simple, un sistema guiado por fluorescencia constará de una fuente de luz con filtros adjuntos para la excitación del agente de contraste (fluororo) que a menudo se administra antes del inicio de la cirugía, posteriormente la señal emitida por el fluororo se recopila eliminando las señales no deseadas, como la luz de excitación y la escencia de fluorescencia, al pasar a través de un filtros de emisión apropiados, seguidos de ópticas de recolección para enfocar la señal a través de un filtro detector para su visualización (7) (14).

Integración de sistemas de fluorescencia al microscopio quirúrgico

El uso de agentes de visualización en neurocirugía, p. el empleo de tintes, infundidos en el tejido objetivo, se remonta a más de medio siglo cuando se informó por primera vez del uso de fluoresceína como guía para la localización de tumores cerebrales (4).

En 1948 George E. Moore introdujo el concepto a la neurocirugía, cuando publicó una serie de casos, operados bajo luz violeta; sin embargo, la tinción de tejido con características neoplásicas que se obtuvo en dicho estudio en esa época no pudo ser explicada racionalmente (5).

En agosto de 1957, Theodore Kurze, en la Universidad del Sureste de California, se convirtió en el primer neurocirujano en utilizar un microscopio en el quirófano (en una resección de un Neurilemoma del VII nervio craneal en un paciente pediátrico). Entrenó por un año previo a esta operación y creó el primer laboratorio de microneurocirugía del mundo en 1960. Kurze participó de manera continua en innovación de este instrumento, fue él quien introdujo el método para vestir el microscopio y realizaba esterilización de sus partes con óxido de etileno (5) (15) (16).

Antes de que el sistema de fluorescencia se integrara en los microscopios quirúrgicos, dichos sistemas debían utilizarse individualmente. El proceso de integración al campo quirúrgico consistía en retirar el microscopio quirúrgico para colocar el sistema de fluorescencia, compuesto por un filtro óptico de paso largo para la observación de la fluorescencia y este último debía sostenerse manualmente. Por lo que desde el siglo pasado se han propuesto diferentes mejoras a dichos sistemas bajo el principio de la cirugía por

fluorescencia con el fin de mejorar la ergonomía y simplificar su uso en el campo neuroquirúrgico.

La integración de los sistemas de fluorescencia al campo quirúrgico se remota a los estudios de Kabuto y colaboradores en 1997 quien realizó estudios clínicos y experimentales posteriormente W. Stummer y colaboradores en 1998 (17).

Por su parte Kuroiwa y colaboradores en 1998 adaptaron a un sistema de microscopio quirúrgico un filtro de interferencia de vidrio como filtro de excitación y un filtro Kodak Wratten No. 12 como filtro de observación. El cambio entre los modos de luz blanca y fluorescencia se realizó mediante un aparato de conmutación en el que se pueden insertar los filtros, dicho sistema demostró ser útil en la resección de lesiones de origen glial (18).

En el 2016 Elliott y colaboradores personalizaron un módulo de iluminación e imágenes que permite obtener imágenes de fluorescencia a partir de en un microscopio quirúrgico comercial. En este sistema se empleó un diodo láser de onda continua de 760 nm como fuente de luz de excitación, y un espejo dicróico en combinación con un filtro de paso largo para permitir que solo luz por encima de 780 nm ingrese al sensor de la cámara del canal de fluorescencia. Dicho sistema se probó en un modelo murino experimental (19).

En el 2017 Richter y colaboradores combinaron una sonda portátil basada en espectroscopia de fluorescencia con un microscopio quirúrgico de resección guiado por fluorescencia para la identificación y resección de tumores. El microscopio quirúrgico adoptado en este sistema fue el Leica M720 OH5 con el módulo de fluorescencia FL400. El sistema de sonda portátil incluía un láser de excitación de 405 nm y un espectrómetro que operaba en el rango de 240 a 850 nm para la detección de fluorescencia PpIX inducida por

5-ALA en tejido cerebral. Los resultados clínicos mostraron una mejor sensibilidad de la sonda y una mejor especificidad del módulo de fluorescencia integrado en el microscopio quirúrgico (20).

Sistemas de fluorescencia y su ámbito comercial

El advenimiento de la microscopía al campo quirúrgico fue precedido por la magnificación con lupas. La compañía Carl Zeiss se introdujo en el campo de la investigación creando un microscopio específicamente diseñado para disección en el laboratorio y su uso en la Oftalmología para la evaluación de la cámara anterior del ojo, produciendo los primeros trabajos científicos en este campo, uno de los cuales, inspiró a un otorrinolaringólogo de la Universidad Clínica de Estocolmo llamado Carl Nylen quién concibió el primer microscopio quirúrgico en 1921, aplicando su uso al primer caso en humanos en el otoño de ese mismo año (21).

El desarrollo de la microscopía quirúrgica en humanos continuó en el área de la patología del oído medio lo cual permitió su florecimiento como instrumento quirúrgico, esto aunado a los avances técnicos que se realizaron en su diseño a principios de 1950 cuando Hans Littman de la compañía Carl Zeiss desarrolló el diseño óptico para cambiar la magnificación sin modificar la longitud focal. Estos avances terminaron en el desarrollo de la primera serie de microscopios quirúrgicos en el mercado, conocida como Zeiss OPMI 1 (Operating Microscope Number One).

Desde entonces, las características de los microscopios han ido incrementando de forma progresiva y ampliando la variedad de acuerdo con el avance tecnológico en turno disponibles en el ámbito comercial.

En el 2013 por la empresa Carl Zeiss se integró el filtro Yellow 560 nm al microscopio “Pentero 900” (Zeiss); se inició su prueba clínica por Roberto Rey-Dios y Aaron Cohen Gadol, siendo utilizado en esta ocasión para malformación arteriovenosa, aneurisma y metástasis cerebral; dicho filtro tiene la capacidad de detectar la fluorescencia de la fluoresceína en un rango entre 540 y 690 nm. A este trabajo inicial le siguieron otros muchos con enfoque dirigido principalmente a la resección total de gliomas de alto grado, cuya resección completa confirmada por bordes libres de tumor histopatológicos llegó al año siguiente (2014) (22). Actualmente, las últimas generaciones de microscopios quirúrgicos Zeiss, desde el Pentero Clásico hasta el KINEVO 900 incorporan el filtro Blue 400 el cual permite una excitación entre 400-410 nm de longitud de onda y exhibe un rango de 620- 710 nm de longitud de onda, asociado al fluoróforo Protoporfirina IX continúa como una herramienta para su uso en cirugía de lesiones de origen glial de alto grado (23).

Tumores astrocíticos

Los tumores astrocíticos son los gliomas derivados del tejido neuroepitelial representan la forma más común de neoplasia del sistema nervioso central (SNC) que incluyen las lesiones gliales de alto grado, neoplasia con mayor grado de malignidad entre los tumores del sistema nervioso central del adulto (24).

La tumores gliales se clasifican de acuerdo con los criterios establecidos con la quinta edición por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2021, basada en la cuarta edición actualizada en 2016, en los numerosos avances en el campo que siguieron a la clasificación de 2016 y en las recomendaciones del consorcio para informar los enfoques moleculares y prácticos de la taxonomía de tumores del SNC. Sin embargo permanece arraigado en otros enfoques establecidos para la caracterización de tumores, incluida la histología y la inmunohistoquímica. El CNS5 de la OMS ha adoptado un nuevo enfoque para clasificar los gliomas, los tumores glioneuronales y los tumores neuronales, y dividirlos en 6 familias diferentes:

1. Gliomas difusos de tipo adulto (la mayoría de los tumores cerebrales primarios en la práctica de neurooncología de adultos, ej., glioblastoma, IDH de tipo salvaje).
2. Gliomas difusos de bajo grado de tipo pediátrico (se espera que tengan buen pronóstico)
3. Gliomas difusos de alto grado de tipo pediátrico (se espera que se comporten de manera agresiva).
4. Gliomas astrocíticos circunscritos (“circunscritos” en referencia a su patrón de crecimiento más sólido, a diferencia de los tumores inherentemente “difusos” de los grupos 1, 2 y 3.

5. Tumores glioneuronales y neuronales (un grupo diverso de tumores que presentan diferenciación neuronal).
6. Ependimomas (ahora clasificados por sitio y por características histológicas y moleculares). Los tumores del plexo coroideo, con sus marcadas características epiteliales, se separan de la categoría de gliomas, tumores glioneuronales y tumores neuronales.

En la clasificación de la OMS de 2016, los tumores astrocíticos difusos con mutación enzima deshidrogenasa de isocitrato (IDH) se asignaron a 3 tipos de tumores diferentes (astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y glioblastoma) según los parámetros histológicos. Sin embargo, en la clasificación actual, todos los tumores astrocíticos difusos con mutación IDH se consideran un solo tipo (astrocitoma, mutación IDH) y luego se clasifican como grado 2, 3 o 4 de la OMS del SNC. Además, la clasificación ya no es completamente histológica, ya que la presencia de delección homocigótica de CDKN2A/B da como resultado un grado 4 de la OMS en el SNC, incluso en ausencia de proliferación microvascular o necrosis (25).

Habitualmente según el sistema de clasificación actual de la OMS, los grados altos incluyen lesiones de grado III y IV los mismos que son de mal pronóstico y se asocian con sobrevida corta (26) (27).

A pesar de décadas de investigación sobre su patobiología las lesiones gliales de alto grado todavía posee un pronóstico ominoso, con una mediana de supervivencia de 15 a 18 meses (28) (29).

En Estados Unidos y Europa los estudios epidemiológicos sobre las lesiones de alto grado se basan en registros nacionales, actualmente ausentes en varios países latinoamericanos, en donde su frecuencia se reporta del análisis de series obtenidas de centros de referencia de segundo o tercer nivel de atención (26).

En lo que concierne a México en el estudio epidemiológico desarrollado por Aguirre-Cruz y colaboradores en el 2016 reportó la distribución de 12 796 de tumores en el SNC atendidos en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de México (INNN) en un periodo de 50 años, se reportó que 33% de la totalidad fueron los del tejido neuroepitelial, 67% de los cuales corresponden a tumores de origen glial (27).

Es conocido que la naturaleza inherentemente infiltrativa de las lesiones gliales través del parénquima cerebral circundante plantea un desafío particular para los neurocirujanos y neurooncólogos.

El tratamiento de las lesiones gliales incluye un equipo multidisciplinario donde inicialmente la resección quirúrgica radical es la piedra angular de la mayoría de las lesiones gliales (30) seguido de quimioterapia y radioterapia adyuvante (29) (31) (32).

Se han descrito varios factores que afectan positivamente el pronóstico de los pacientes diagnosticados con lesiones gliales de alto grado: estas incluyen edad temprana, ubicación del tumor, características radiológicas, recurrencia y la oportunidad de realizar una terapia adyuvante en el curso postoperatorio (33). Sin embargo la resección quirúrgica cobra gran importancia y está demostrado que la extensión de la resección (EOR) es uno de los predictores más importantes de la supervivencia general (SG), la supervivencia libre de progresión (SSP) y el resultado neurológico (34). No obstante la delimitación entre

el tumor y el parénquima cerebral normal suele ser difícil de lograr tanto en la planeación quirúrgica como durante la resección, lo que hace que lograr una máxima resección de forma segura sin causar un déficit neurológico al paciente sea un desafío (35) (36).

Actualmente existe gran cantidad de evidencia científica donde se ha demostrado que la citorreducción es el primer paso determinante y eficaz en el tratamiento de los pacientes diagnosticados con lesiones gliales de alto grado, en el que el objetivo principal es maximizar el alcance de la resección evitando causar daño (37), cabe resaltar que las investigaciones para maximizar los resultados en el tratamiento de las lesiones gliales de alto grado se han realizado desde hace casi 100 años y se remontan a la época de Walter Dandy (38).

En los últimos años, la tecnología guiada por fluorescencia ha sido un parteaguas en la resección de lesiones gliales de alto grado para ayudar al cirujano a diferenciar intraoperatoriamente el tejido neoplásico del cerebro normal con el fin de maximizar el alcance de la resección y por consiguiente una mejoría en la supervivencia libre de progresión (PFS) y la supervivencia general (OS) por sus siglas en inglés (39).

Desde el siglo pasado se ha propuesto la detección fotodinámica de los fármacos fotosensibles en el tejido tumoral como una técnica para delimitar los bordes de las lesiones tumorales (40).

En el campo de la Neurocirugía el uso intraoperatorio de fármacos fotosensibles en combinación con un filtro de microscopio quirúrgico específico se ha convertido en una práctica habitual; en este caso la FS por su capacidad para penetrar áreas del cerebro donde existe disrupción la barrera hematoencefálica (BHE) (41) (40).

En 1948 se realizó el primer estudio por Moore y colaboradores donde se propuso el uso de un colorante fotosensible para mejorar la visualización de los tumores cerebrales a partir de fluorescencia (42; 36).

En los últimos años muchos autores han propuesto modificaciones en la óptica para mejorar la fluorescencia de fármacos fotosensibles a dosis bajas.

En 1967 Findel y colaboradores fueron los primeros en el uso de un filtro óptico para guiar la resección de un angioma (43).

En el campo de Neurocirugía vascular en 1994 Wrobel y colaboradores construyeron un aparato con una fuente de luz cian-violeta para la iluminación del campo quirúrgico a través de un sistema de fibra óptica, además del uso de un filtro amarillo a partir de gelatina fotográfica que se colocó en los oculares del microscopio neuroquirúrgico y/o en las gafas del neurocirujano. En este estudio se concluyó que su sistema presentó gran utilidad sin embargo la iluminación proporcionada por el sistema de fibra óptica no fue suficiente para permitir una manipulación segura durante el clipaje de aneurismas (44).

En 1998 Kuroiwa y colaboradores utilizaron un filtro de excitación para el sistema óptico de fuente de luz, y un filtro Kodak Wratten No. 12 usado como filtro de barrera para el sistema óptico del microscopio para guiar la resección de lesiones gliales de alto grado (45), en su estudio se reportaron buenos resultados ya que fue posible distinguir los límites entre las áreas tumorales realzadas previamente identificados en los estudios de imagen preoperatorios y el cerebro circundante.

En el 2016 Bongetta y colaboradores desarrollaron una opción en 2016 una opción que utiliza luz excitadora en un endoscopio y filtros de barrera superpuestos a los oculares del microscopio, o el uso de gafas amarillas (27).

En el 2011 se inició el primer ensayo prospectivo de fase II (FLUOGLIO) liderado por Acerbi et al. en el que se utilizó la propiedad fluorescente de la Fluoresceína Sódica (FS) para guiar la resección de lesiones gliales de alto grado. En este estudio se evaluó la participación de 57 pacientes y se consideraron 46 para los criterios de valoración primarios y secundarios.. En este estudio se administró FS por vía intravenosa al momento de la inducción de la anestesia. La visualización de la fluorescencia durante el procedimiento quirúrgico se obtuvo con filtros AZUL 400 o AMARILLO 560 en un microscopio PENTERO 900. Los resultados fueron publicados en el año 2018 (Acerbi F B. M., 2018 Jan 1) en los que se reportó que en 38 pacientes (82,6%) se realizó una extirpación completa de la lesión neoplásica. Con un seguimiento de 11 meses, con porcentaje de PFS a los 6 y 12 de 56,6% y 15,2% respectivamente, con una mediana de supervivencia de 12 meses. No se registró ninguna reacción adversa relacionada con la administración de SF. La sensibilidad y especificidad de la FS para identificar el tejido tumoral fueron respectivamente del 80,8% y el 79,1%.

En el 2017 Lovatto y colaboradores desarrollaron un dispositivo con filtro de excitación y de barrera para guiar la resección de tumores cerebrales (46).

Actualmente en la industria comercial existen microscopios con módulos de fluorescencia integrados entre los que destacan la fluorescencia verde de indocianina (ICG) por sus siglas en inglés, el ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) y fluoresceína sódica (FS). (47) (17) (48).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente existe evidencia demostrada sobre el beneficio del grado de extensión de la resección en la supervivencia y la libertad de enfermedad en la resección de las lesiones gliales de alto grado.

Sin embargo, esta descrito que durante la resección quirurgica de este tipo de lesiones los márgenes son indistinguibles del cerebro normal (49). Por lo que se han desarrollado una variedad de tecnologías con el objetivo de mejorar la visualización de los limites tumorales en las lesiones gliales de alto grado y que en los últimos años han permitido maximizar el grado de resección en las lesiones gliales de alto grado, entre los que destacan el uso de la resonancia magnética intraoperatoria (IoMRI), ultrasonido intraoperatorio (IoUS), la neuronavegación y el uso de la fluorescencia guiada por 5-ALA y FS (50).

Bajo este principio la Federación de Drogas y Alimentos (FDA) aprobó el uso de varios biomarcadores fluorescentes para mejorar la identificación intraoperatoria de tumores, entre lo mas prometedores se encuentran el 5-ALA y FS (51).

La fluorescencia inducida por 5-ALA ha demostrado un aumento en la tasa de resección quirúrgica completa del 36 a 65% , acompañado de un beneficio del 21 al 41% en la supervivencia libre de progresión a los 6 meses en la resección de lesiones de alto grado, se ha demostrado una sensibilidad del 85% y una especificidad del 100% desde su introduccion al campo neuroquirúrgico intraoperatorio en 1998. (52), (17).

Capítulo IV

JUSTIFICACIÓN

A pesar de los beneficios quirúrgicos, el 5-ALA también tiene algunas desventajas que limitan sus aplicaciones y su utilidad práctica. En primer lugar debe administrarse por vía oral 3 a 4 h antes de la cirugía, lo que puede resultar inconveniente desde un punto de vista logístico y práctico y dar lugar a una mayor demanda de planificación e infraestructura prequirúrgica. En segundo lugar, el compuesto tiene efectos secundarios fototóxicos durante las 24 h siguientes a la administración, por lo que se deben tomar medidas para evitar la exposición del paciente a la luz solar o a la luz blanca intensa durante este período. En tercer lugar el precio de mercado del 5-ALA es de aproximadamente 2650 dólares por vial (53).

La FS, sal sódica de la fluoresceína, proporciona una alternativa racional y plausible para guiar la resección por fluorescencia en la resección de las lesiones gliales de alto grado y ampliamente aceptada en varios campos de la medicina como una molécula muy segura con una tasa muy baja de efectos secundarios (Yannuzzi LA, 1986 May). Es una alternativa al 5-ALA para la resección de lesiones gliales de alto grado, ya que el uso de dichas técnicas han dado como resultado tasas de resección mácroscopica total que son comparables (62 % vs 64 %, $p = 0,76$) (Hansen R.W., 2019), además de resaltar el costo de la FS de 5 dolares por vial (50).

Además, cabe resaltar que para el uso de colorantes fotosensibles se requiere filtros ópticos especiales incluidos en los microscopios neuroquirúrgicos con un costo actual en el mercado de hasta 300,000 dólares, lo que limita su acceso a centros de atención neuroquirúrgica en países en vías de desarrollo.

Si bien existen reportadas el uso de opciones que de alguna manera sustituyan el uso de microscopios de alto costo con modulos de fluorescencia integrados ninguno describe paso a paso la producción y estandarización del método. Por lo que proponemos este estudio

que describa el proceso de fabricación paso a paso de un dispositivo 3D para la detección fluorescente de la FS y posteriormente evaluar dicho dispositivo para guiar la resección de lesiones gliales de alto grado.

Capítulo V

HIPÓTESIS

Hipótesis de trabajo

Es posible la invención e integración de un módulo de detección de fluorescencia a bajo costo para FS en el ámbito neuroquirúrgico.

Hipótesis de nula

No es posible la invención e integración de un módulo de detección de fluorescencia a bajo costo para FS en el ámbito neuroquirúrgico.

Capítulo VI

OBJETIVOS

Objetivo general

- Desarrollar un módulo de detección de fluorescencia a bajo costo para FS en el ámbito neuroquirúrgico.

Objetivos particulares

- Diseñar un dispositivo de soporte óptico para la colocación de un filtro de paso corto para la luz de excitación y de paso largo como barrera.
- Estandarizar el proceso de manufactura de dispositivo de soporte óptico para la colocación de un filtro de paso corto para la luz de excitación y de paso largo como barrera a partir de la tecnología CAD/CAM.
- Estandarizar la integración del módulo de detección de fluorescencia en campo quirúrgico.

Capítulo VII

MATERIAL Y MÉTODOS

Estructura general de la investigación: se proponen dos etapas.

Diseño del estudio:

La presente tesis desarrollara la primera de ellas basada en un estudio de tipo de desarrollo tecnológico e invención de alcance descriptivo.

Criterios de inclusión, exclusión:

Durante el desarrollo de esta etapa en la estructura general de la investigación no hay intervención sobre individuos de allí que prescindimos de criterios poblaciones de inclusión y exclusión.

Desenlace primario

La invención e integración de un módulo de detección de fluorescencia para FS en el ámbito neuroquirúrgico a bajo costo.

Análisis estadístico

Durante el desarrollo de esta etapa en la estructura general de la investigación no hay intervención sobre individuos de allí que prescindimos del cálculo de la muestra.

Aspectos éticos y de confidencialidad

Los datos obtenidos se mantendrán confidenciales y bajo el uso exclusivo de los investigadores involucrados en el proyecto.

No existen conflictos de interés de los autores relacionados con la ejecución del presente proyecto.

Los procedimientos propuestos están de acuerdo con las regulaciones bioéticas vigentes institucionales, nacionales e internacionales y en las características descritas según la guía de patentes y modelos de utilidad determinadas por el Instituto Nacional de Propiedad Industrial (INAPI).

Capítulo VIII

RESULTADOS

Niveles de maduración tecnológica

Con base a los niveles de maduración tecnológica por sus siglas en inglés *technology readiness level (TRL)* (54) descritos en el Anexo 3: Guía de Nivel de Madurez Tecnológica – Conahcyt. (55).

TRL 1. Investigación básica.

Principios básicos observados y reportados.

En la antigüedad, se apreciaba ampliamente que los objetos parecían más grandes en el agua que al aire libre, hasta ese momento sin ningún conocimiento de los principios de la óptica y la refracción, en esa época dicho fenómeno se atribuyó inherentemente al agua misma (56).

La referencia histórica más antigua sobre la magnificación se remota al 800 a.C. por los jeroglíficos egipcios quienes describen el uso lentes simples de vidrio (57), además de mencionar manuscritos de algunos historiadores quienes infieren el uso de la magnificación por las culturas primitivas por la alta complejidad y los detalles en la joyería y artesanías.

El primer registro formal en el que se describe la magnificación proviene de la Roma del siglo I, atribuido a Séneca (tutor del emperador Nerón), quien escribió: *“Las letras, por pequeñas y confusas que sean, se ven ampliadas y más claramente a través de un globo de vidrio lleno de agua”*.

En el siglo X se registró la prueba histórica más antigua por el erudito árabe Alhazen sobre el uso de un dispositivo para la magnificación, se trató de una lente convexa (57).

A finales del siglo XIII se inventaron los anteojos, instrumento que representa el primer uso práctico generalizado de la magnificación en la sociedad. Según un manuscrito florentino de 1299 describe a los anteojos como "una ayuda para los ancianos con problemas de visión" (58).

La invención del microscopio compuesto según la evidencia histórica data del año 1590 por el equipo formado por Zacharias y Hans Janssen quienes alinearon dos lentes dentro de un tubo deslizante (58).

En el campo de la astronomía el científico italiano Galileo Galilei desarrolló de forma independiente un dispositivo similar permitiéndole ver "*moscas del tamaño de gallinas*".

El término microscopio del griego *micro* (que significa "pequeño") y *scopos* (que significa "apuntar o disparar") fue acuñado por Giovanni Faber (59).

Anton van Leeuwenhoek comerciante neerlandés, según la literatura con el objetivo de contar el número de hilos por pulgada cuadrada en una tela se interesó por el uso del microscopio y se le atribuye la construcción de las mejores lentes disponibles hasta ese momento, ampliando objetos hasta 270 veces (60).

En 1848 Carl Zeiss maquinista alemán inició la comercialización de microscopios en Jena, Alemania posteriormente y en conjunto con el físico Ernst Abbe quien derivó teorías matemáticas se revolucionó la fabricación de lentes. Con las ecuaciones de Abbe, por primera vez se pudieron predecir y estandarizar las cualidades ópticas de una lente, lo que permitió a Zeiss convertirse en el primer productor en masa de microscopios de alta calidad y en 1893 introdujo el concepto de estereopsis con el Telescopio Binocular Zeiss.

Cabe resaltar que en el área de las ciencias de la salud el microscopio fue precedido por el uso de la lupa.

En la década de 1860 se utilizaron por primera vez las lupas quirúrgicas inicialmente sólo como lentes correctivos posteriormente los cirujanos comenzaron a utilizar lupas simples de una sola lente específicamente para magnificar, ajustando la cantidad de aumento y la distancia focal relativa deslizando las lupas a lo largo de la nariz (61).

E. T. Saemisch médico alemán fue el primero en utilizar la verdadera magnificación con lentes compuestas en una sala de quirófano.

A principios del siglo XX, el microscopio representó un instrumento indispensable para la investigación médica en el laboratorio.

En beneficio de la microscopia y para el desarrollo del campo quirúrgico la empresa ZEISS se introdujo en esta área creando un microscopio para el examen oftalmológico de la córnea y la evaluación de la cámara anterior del ojo para su uso en el laboratorio.

En 1921 Carl Nylen un otorinolaringólogo sueco en base al trabajo publicado por Maier y Lion sobre los movimientos de la endolinfa en las orejas de cinco palomas realizadas con un microscopio de disección (62) concibió, construyó y utilizó el primer microscopio quirúrgico del mundo ese mismo año (63) para la fenestración del laberinto del oído medio en conejos en el laboratorio.

Gunnar Holmgren en Estocolmo, se apoderó del proyecto de Nylen conectó una fuente de luz a un microscopio de disección fabricado por la compañía Zeiss e introdujo el primer microscopio quirúrgico binocular en 1922 (62).

Posteriormente, en conjunto con la compañía ZEISS Hans Littman desarrolló la magnificación sin modificar la longitud focal lo que permitió su florecimiento como instrumento quirúrgico.

En 1957 en el campo de la Neurocirugía Theodore Kurze, al Sureste de California fue el primer neurocirujano en utilizar un microscopio en la sala de operaciones como instrumento de apoyo para la resección de una lesión de etiología neoplásica en un paciente pediátrico, además de desarrollar un sistema para el revestimiento estéril de este instrumento.

En 1960, Jacobson y Ernesto Suárez (un colega cirujano vascular en Burlington) publicaron su artículo microquirúrgico clásico en el que demostraron de manera impresionante el poder del microscopio para mejorar el resultado de las anastomosis de pequeños vasos pequeños (64).

Raymond M. P. Donaghy utilizó el microscopio para realizar la primera embolectomía de la arteria cerebral media en 1960 (65).

En 1964 Litman y colaboradores realizaron una adaptación al microscopio quirúrgico que permitió la visión binocular y desde entonces los primeros trabajos publicados sobre la anastomosis de pequeños vasos, siendo un parteaguas para la Neurocirugía vascular.

En 1965 J. Lawrence Pool publicó la primera serie de casos sobre el uso del microscopio para la cirugía de aneurismas intracraneales (66).

En 1966 Robert Rand y Peter Jannetta publicaron su experiencia con la cirugía de aneurismas de circulación posterior utilizando el microscopio (67).

Sin embargo, fue Theodore Kurze quien los precedió a todos, utilizando el microscopio desde 1958 para el clipaje de aneurismas desde 1958, aunque nunca publicó ni presentó sus resultados.

En 1959, Richard C. Troutman montó una sillón hidráulico eléctrico a un microscopio de la marca Zeiss (68).

En la misma década M. G. Yasargil neurocirujano de origen turco en el laboratorio de Donaghy en Vermont perfecciono la técnica para la anastomosis de la arteria temporal superficial y la arteria cerebral media y en 1967 publicó el primer caso realizado en seres humanos (69).

Posteriormente M.G. Yasagil y Leonard Malis con el objetivo de resolver la rigidez que presentaba el microscopio quirúrgico en esa época idearon un sistema de contrapeso multiaxial en conjunto con un sistema de frenos electromagéticos permitiendo la movilidad y estabilidad del microscopio quirúrgico (70).

Por la compañía ZEISS a través del tiempo se han desarrollado los siguientes sistemas de visualización y en la última década la introducción de los módulos de fluorescencia (71).

En 1965 OPMI 2. Innovación. Motorizado, zoom y enfoque rotario.

En 1966 OPMI 3. Innovación. Enfoque rotario, mejoría en los cambios de aumento y un dispositivo para esterilizar el microscopio.

En 1966 OPMI 5. Innovación. Menor tamaño.

En 1968 OPMI 4. Innovación. Enfoque de campo más profundo y imágenes en movimiento de 16 mm.

En 1970 OPMI 7P/H. Innovación. Fuente de luz de alta intensidad, accesorio co observador permitido 3 cirujanos trabajando simultáneamente.

En 1991 OPMI CS.

En 1994 OPMI CS diseñado específicamente para neurocirugía.

En 1997 OPMI Neuro. Innovación. Equipado con un sistema multivision. Este sistema proyecta técnicas de imagen avanzadas (por ejemplo, imágenes por resonancia magnética, tomografía computarizada, etc.) directamente en el oculares.

En el 2017 Kenevo 900. Innovación. Movimiento motorizado XY en 6 ejes, QEVO (Sonda digital portátil), visualización híbrida digital, función *Point Lock*, función *Position Memory*, función *parking position*.

En el 2019 Tivato 700. Innovación. Interfaz de usuario intuitiva con módulos integrados para la detección de fluorescencia intraoperatoria. ZEISS INFRARED 800, ZEISS YELLOW 560, cámara 4K.

Actualmente en el mercado por la empresa Leica Microsystems existen los siguientes módulos de detección de fluorescencia: FL-400 y FL-800 que se puede integrar en el Leica M525 OH4 o microscopios quirúrgicos Leica M520 OH3 (72).

El módulo FL-400 proporciona iluminación de luz azul, que permite al cirujano visualizar gliomas malignos en pacientes a quienes se les ha administrado ácido 5-aminolevulínico por vía oral

El módulo FL-800 ofrece angiografía intraoperatoria mediante la detección de ICG (indocianina) inyectado por vía intravenosa.

TRL 2. Investigación de Laboratorio.

Concepto tecnológico y/o aplicación tecnológica formulada

Desde la invención del microscopio y su introducción al campo quirúrgico se han propuesto numerosas innovaciones que han permitido una mejoría sustancial en la modalidad de la proyección de imágenes.

El uso de fluorescencia intraoperatoria ha demostrado ser una herramienta útil en múltiples aplicaciones neuroquirúrgicas. Desde su introducción al campo quirúrgico en 1948 y actualmente con el desarrollo de sistemas comerciales de visualización y su integración a los microscopios quirúrgicos de última generación como complementos en la óptica para visualización, magnificación esenciales para para la toma de decisiones transoperatorias.

En esta se puntualizan la tecnología actualmente disponible en el mercado para la detección de fluoroforos entre los que se encuentran el módulo para ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) demostrada su aplicación para la resección de gliomas de alto grado fue demostrada en un ensayo clínico controlado en 2006. Así mismo la FS representa una alternativa su principal uso demostrado en Oftalmología desde hace 5 décadas. En el área de la Neurocirugía la FS se ha utilizado con diferentes propósitos incluida la cirugía de malformaciones arteriovenosas (73), cirugía de aneurismas intracraneales (74), y en la cirugía de tumores gliales para guiar la resección por fluorescencia en la resección de las lesiones gliales de alto grado y actualmente aceptada (75).

MÓDULO AMARILLO 560

Fue desarrollado por la empresa Carl Zeiss.

Visualiza colorantes fluorescentes en el rango de longitud de onda de 460 y 500 nm, resalta las estructuras teñidas con fluorescencia, al mismo tiempo permite observar el tejido no teñido en color natural.

El módulo se integra completamente como accesorio al sistema OPMI PENTERO 900 y actualmente integrado al sistema Sistema de Visualización Robótica KINEVO 900.

LEICA FL560

Exclusivo de Leica Microsystems.

Util para fluoróforos con un pico de excitación entre ~460 nm y ~500 nm (azul). Según su ficha técnica se puede integrar perfectamente aal M720 OH5 y actualmente integrado al sistema M530 que permite utilizar hasta tres modos de fluorescencia integrada.

Observación de la emisión de fluorescencia de los espectros verde, amarillo y rojo en una banda espectral superior a ~510 nm.

LEICA FL400

La fluorescencia FL400 con 5-ALA permite diferenciar el tejido cerebral tumoral del tejido cerebral sano. La PPIX del tumor brilla en un color rojo rosado intenso, lo que permite diferenciar de forma clara las células tumorales del tejido sano util en la resección de lesiones de origen glial.

LEICA FL800

Se utiliza junto con el agente fluorescente ICG para observar el flujo sanguíneo cerebral a través de los oculares del microscopio quirúrgico con un modo de infrarrojo.

El ICG excita a una luz de 800 nm y emite fluorescencia a 835 nm. La luz de 835 nm se filtra lejos de la luz blanca normal y es detectada por un dispositivo de carga acoplada con un sensor de absorción infrarrojo cercano. El dispositivo convierte la luz de 835 nm en luz blanca y la proyecta en un monitor de vídeo estándar y/o dispositivo de grabación.

TRL 3. Pruebas de concepto analíticas y experimentales de funciones críticas

Describimos paso a paso el diseño y el proceso de manufactura del módulo a bajo costo para la detección de fluorescencia de la FS.

Diseño de sistema de marco óptico

A partir de la disposición y dimensiones de lente de microscopio neuroquirúrgico se diseñó un marco óptico extraíble personalizado compatible con ZEISS OPMI Vario S88 y ZEISS OPMI Pentero (**Figura 1**).

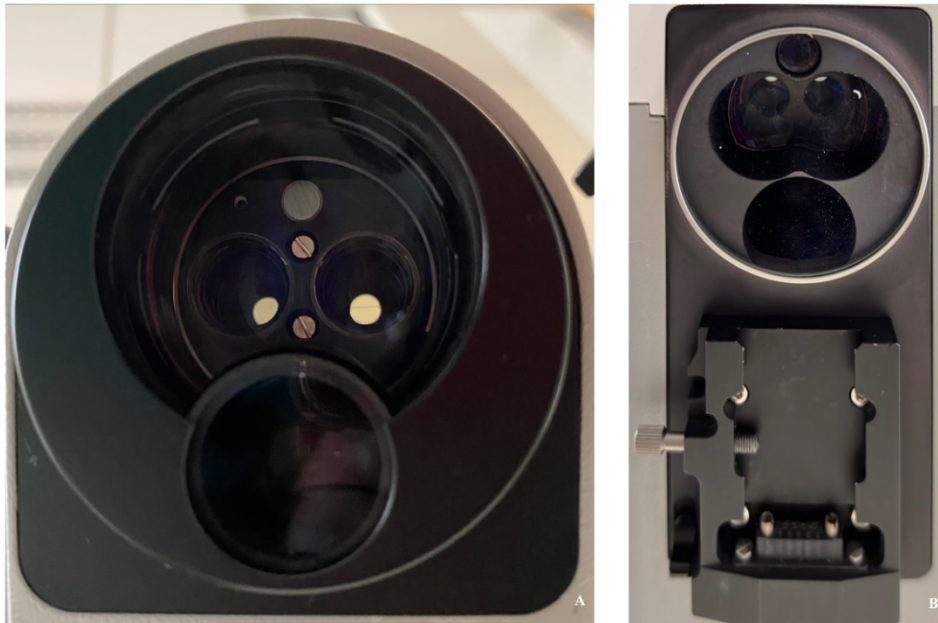


Figura 1. Lentes. A. ZEISS OPMI Vario S88 B. ZEISS OPMI Pentero.

Inicialmente se trazó un boceto mirando a través de los oculares del microscopio quirúrgico.

Su interior dividido (**Figura 2, 3**) según el protocolo de vestimenta estéril del microscopio quirúrgico. :

- A. Un círculo caudal de 26mm de diametro que representa el área para el filtro de paso corto para la luz de excitación a través de la fuente de luz.
- B. Un rectángulo rostral de 52mm base por 29.68mm de altura para el filtro de paso
- C. largo para la señal transmisión y su observación en el campo quirúrgico.

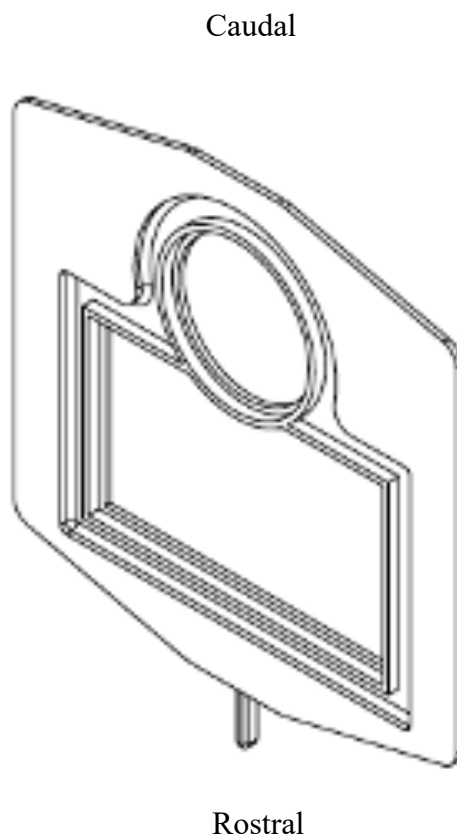


Figura 2. Boceto de marco óptico.

Posteriormente a partir de la tecnología CAD (**por sus siglas en inglés Computer Aided Design**) utilizando un software de modelado paramétrico 3D (SOLIDWORKS 2020 SP2.0, Dassault Systems) el cual cuenta con herramientas para modelar geometrías se realizó el modelo y plano en 3D (**Figura 4**).

Se compone de dos caras (*a. cara Zeiss, b. cara libre*).

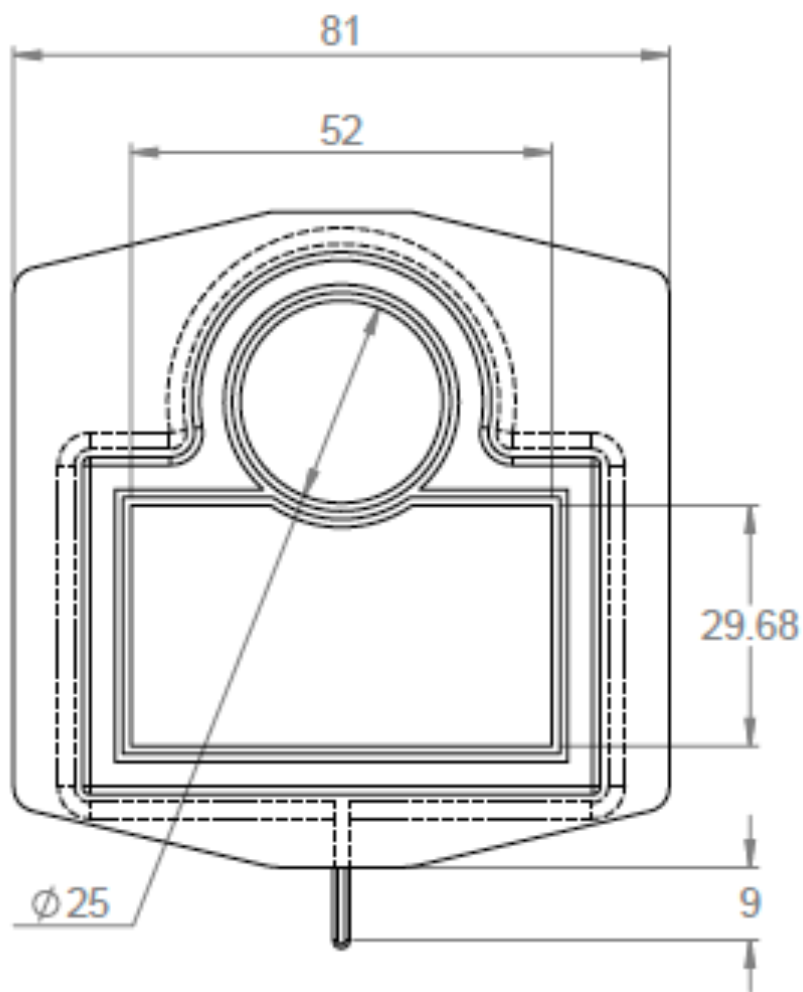
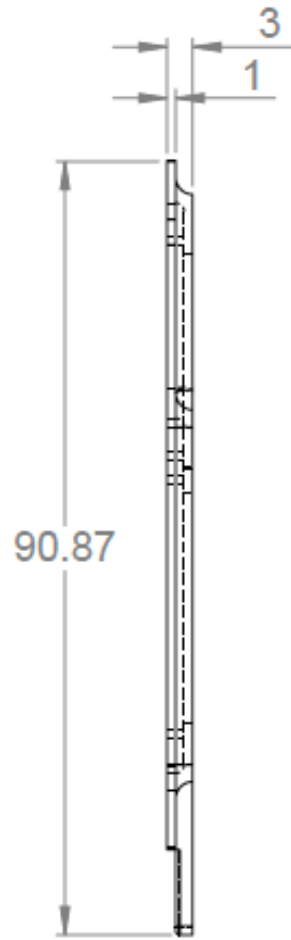
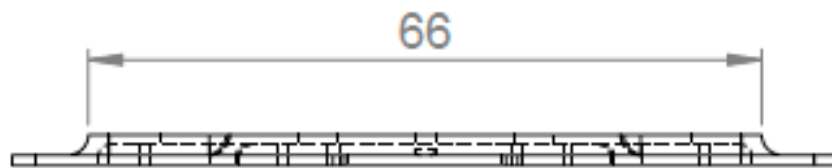


Figura 3. Plano y dimensiones. Vista superior del marco óptico desde la “cara Zeiss”.



A.



B.

Figura 3. Plano y dimensiones. A. Vista lateral, B. "cara libre"

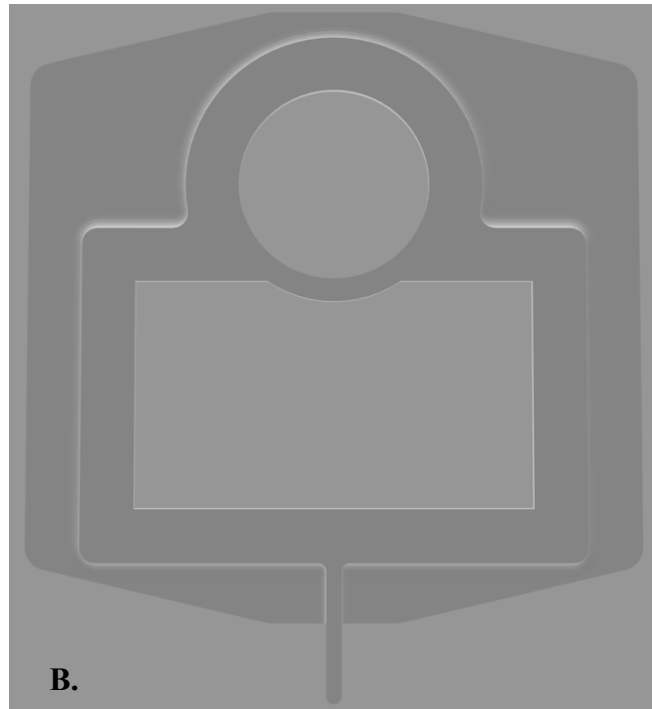
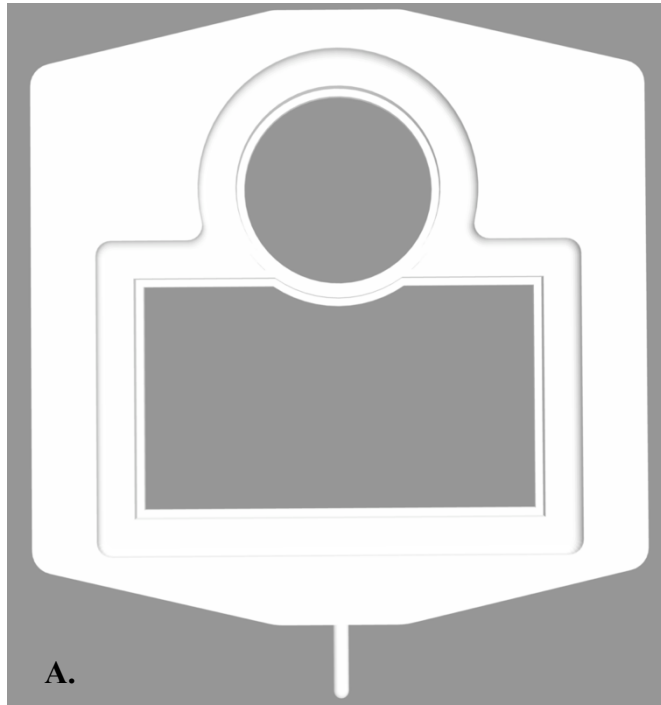


Figura 4. Vistas 3D de marco óptico. **A.** Vista superior en 3D del marco óptico desde la “cara Zeiss”. **B.** Vista inferior en 3D del marco óptico visto desde la “cara libre”.

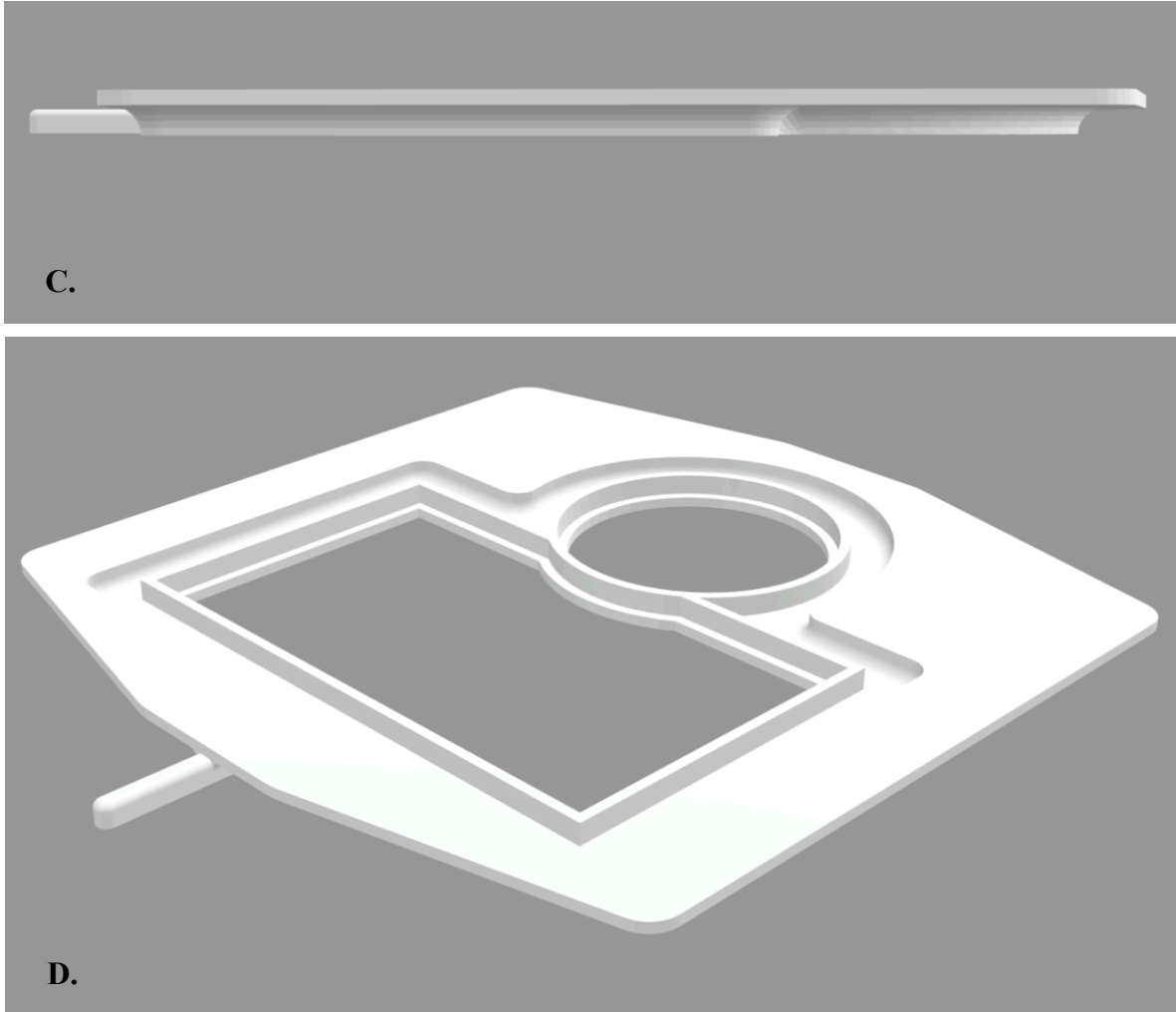


Figura 4. Vistas 3D de marco óptico **C.** Vista lateral 3D de marco óptico, **D.**Vista oblicua en 3D del sistema de marco óptico visto desde la “cara *Zeiss*”.

Después de completar y aprobar el diseño virtual, el archivo es exportado con extensión STL (por sus siglas en inglés *Stereolithography*) (**Figura 5**) a una impresora 3D de escritorio Impresora 3D Ultimaker 2+ para la obtención del modelo físico (**Figura 5**).

El paso inicial para su generación es con base al proceso de impresión de Fusion Filament Fabrication (FFF) en el cual se utilizará filamento de Poliácido Láctico (PLA) de 4mm a una velocidad 50mm/seg, una densidad del 20%, altura de capa de 0.15mm, logrando un tiempo de impresión promedio de 1 hora con un prototipo en 3D de 8g de peso (**Figura 6, 7**).

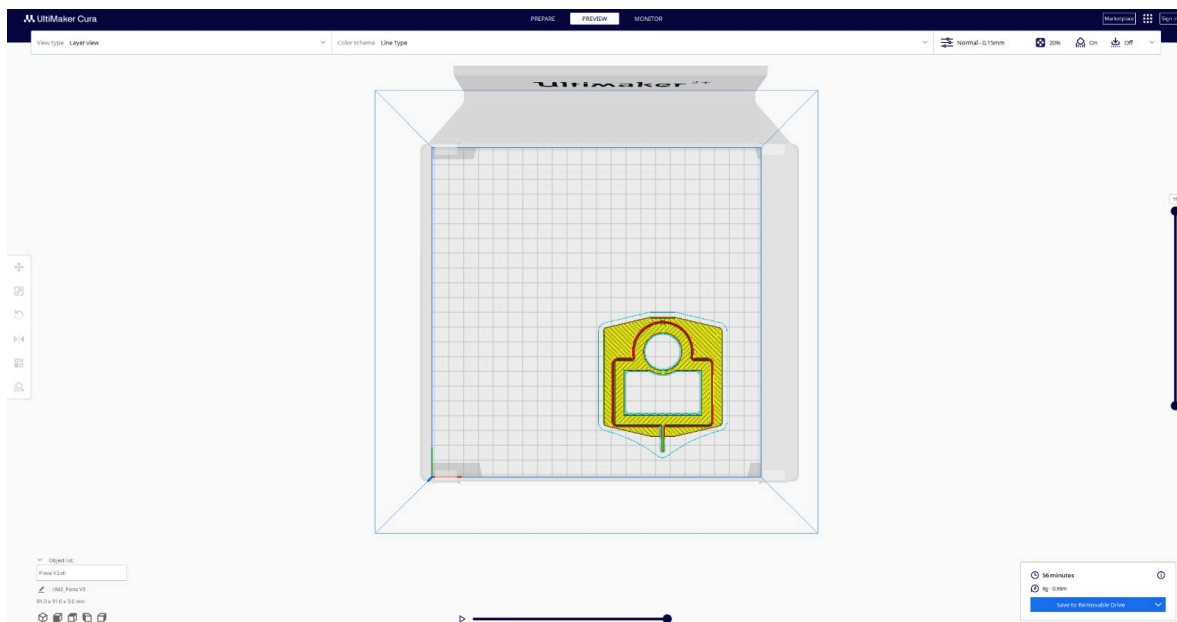


Figura 5. Software Ultimaker Cura 2+. Formato de STL.

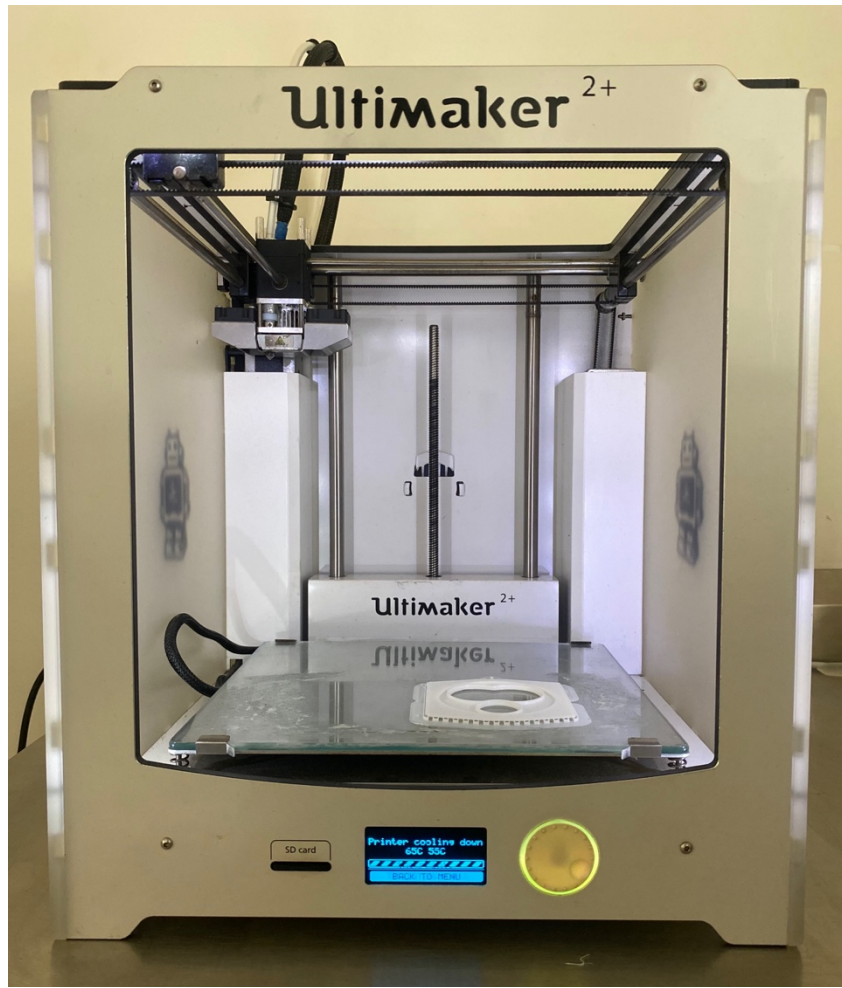


Figura 6. Proceso de impresión 3D. Impresora Ultimaker 2+.

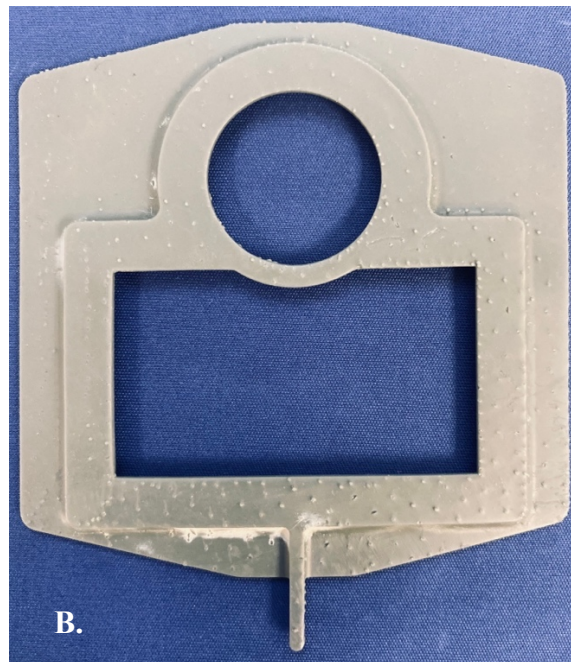
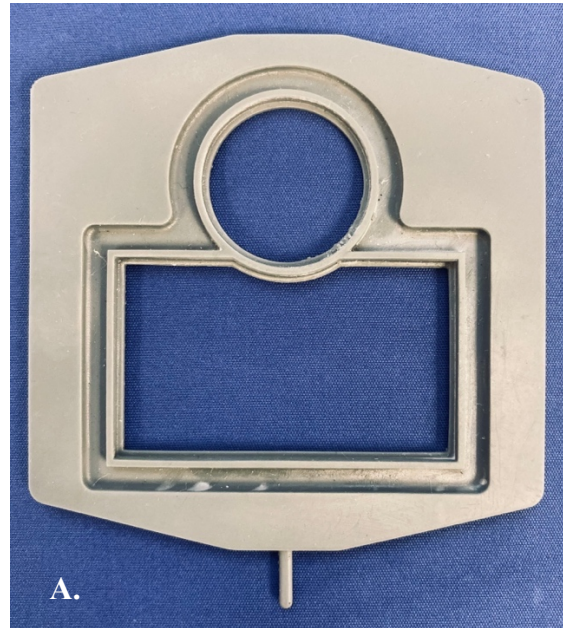
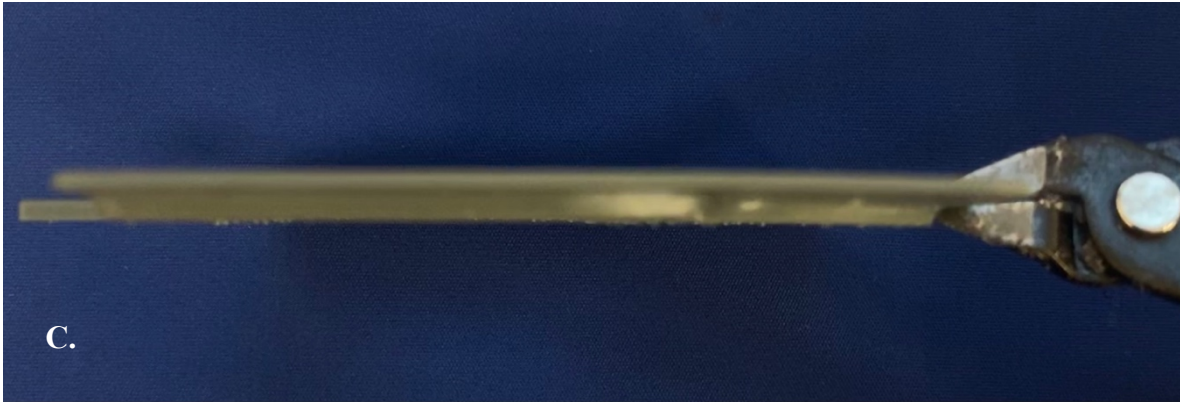
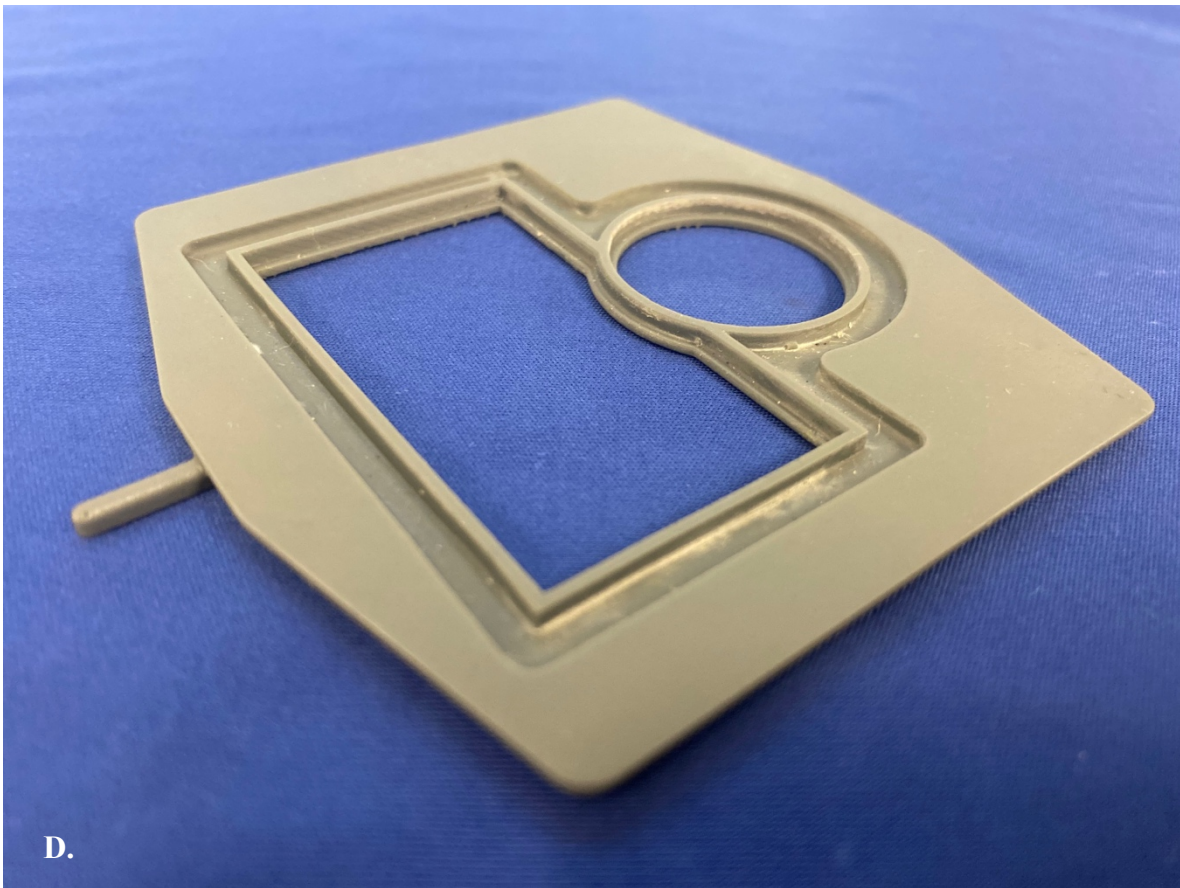


Figura 7. Modelo físico en 3D de marco óptico.

A. Vista superior en 3D del marco óptico desde la “cara *Zeiss*”. **B.** Vista inferior en 3D del marco óptico visto desde la “cara *libre*”.



C.



D.

Figura 7. Modelo físico en 3D de marco óptico.

C. Vista lateral 3D del sistema de marco óptico, D.Vista oblicua en 3D del sistema de marco óptico visto desde la “cara Zeiss”.

Ensamble del módulo de detección de fluorescencia

Posterior a la obtención del modelo físico en 3D del marco óptico a partir de la tecnología CAD / CAM se adaptaron filtros ópticos personalizados ensamblados a la medida **(Figura 8)**.

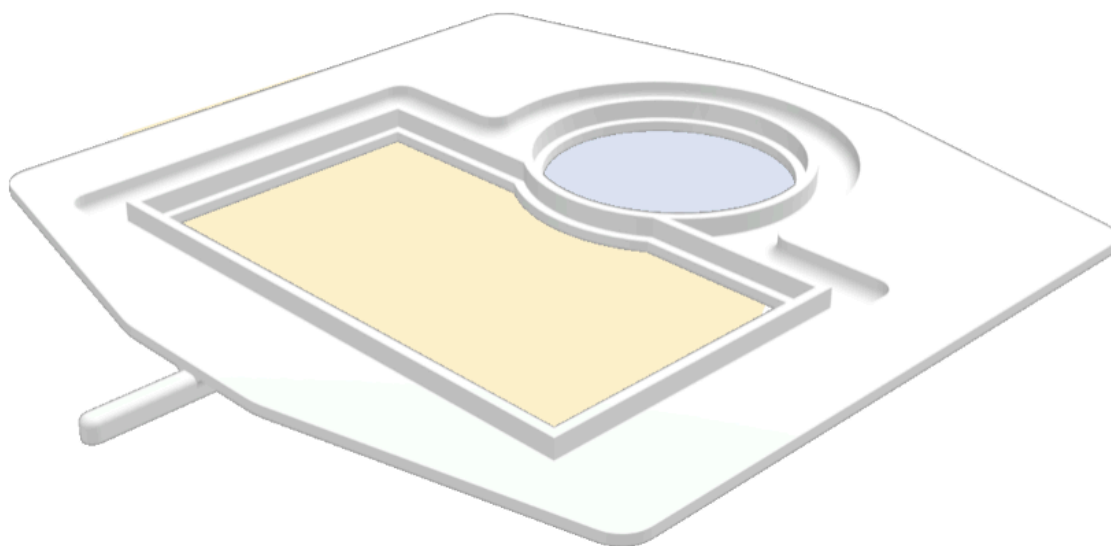


Figura 8. Boceto de módulo de detección de fluorescencia. Vista oblicua visto desde la “cara Zeiss”.

Para el filtro de excitación de la fuente de luz se utilizó el filtro de paso de banda azul BP470 (**Figura 9**): (Midwest Optics, EE. UU.) (76) con las siguientes características (**Figura 9**):

- Rango útil: 425-495 nm
- FWHM: 85 nm
- Tolerancia: +/- 10 nm
- Transmisión máxima: $\geq 90\%$
- Calidad de la superficie: 40/20
- LED compatibles: 450 nm, 465 nm, 470 nm

Personalizado a un montaje adaptado a un diámetro de 26mm, grosor de 1mm en forma circular.

Para el filtro de detección de fluorescencia se utilizaron dos filtros de paso largo amarillo-naranja LP515 (**Figura 11**) (Midwest Optics, EE. UU.) (77) con las siguientes características (**Figura 12**):

- Rango útil: 520-1100 nm
- Longitud de onda de corte 50% T: 515 nm
- Tolerancia: +/- 10 nm
- Transmisión máxima: $\geq 90\%$
- Calidad de la superficie: 40/20

Personalizado a un montaje adaptado en forma de rectángulo a un perímetro de 50mm base por 29.68mm de altura.



Figura 9. Filtro óptico de paso de banda azul. Midwest Optical Systems BP470.

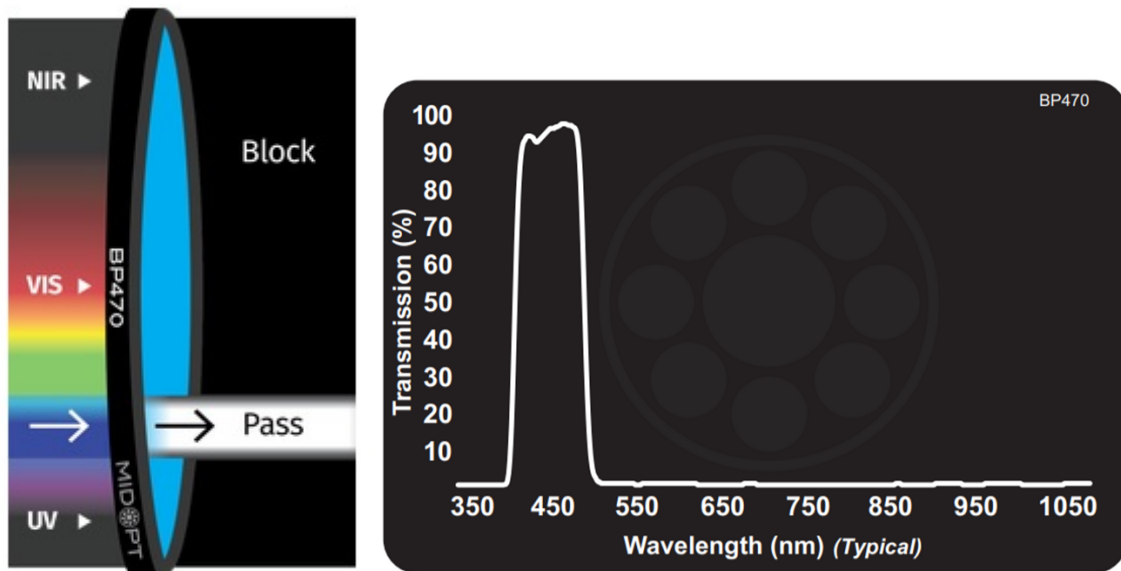


Figura 10. Gráfico de longitud y velocidad de transmisión. Filtro óptico de paso corto para la luz de excitación.

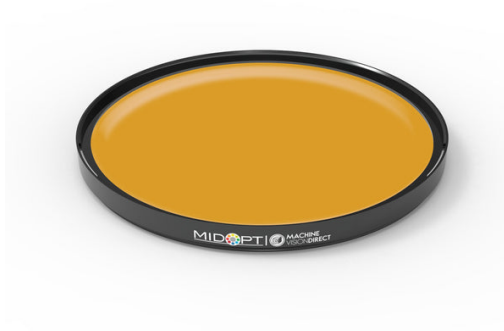


Figura 11. Filtro óptico de paso largo amarillo-naranja. Midwest Optical Systems LP515.

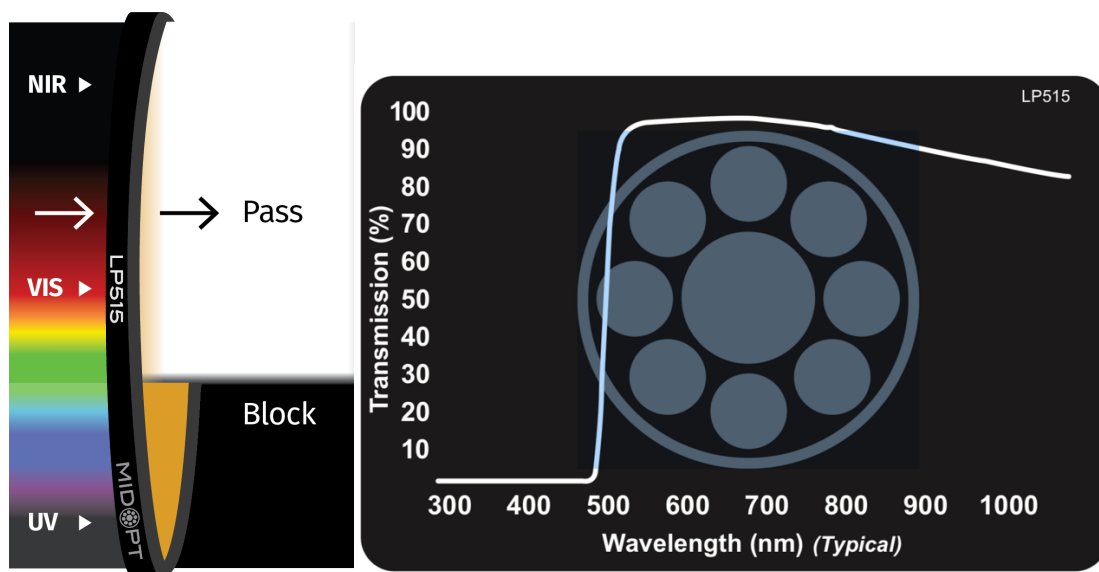


Figura 12. Gráfico de longitud y velocidad de transmisión. Filtro óptico de paso largo para la detección de fluorescencia.

El área del círculo unico caudal cubiertos con un filtro excitador que permite el paso de luz a partir de la fuente de luz integrada en el microscopio quirúrgico y el área rectangular cubierta por un filtro de caudales de barrera para la observación del campo quirúrgico (Figura 13).

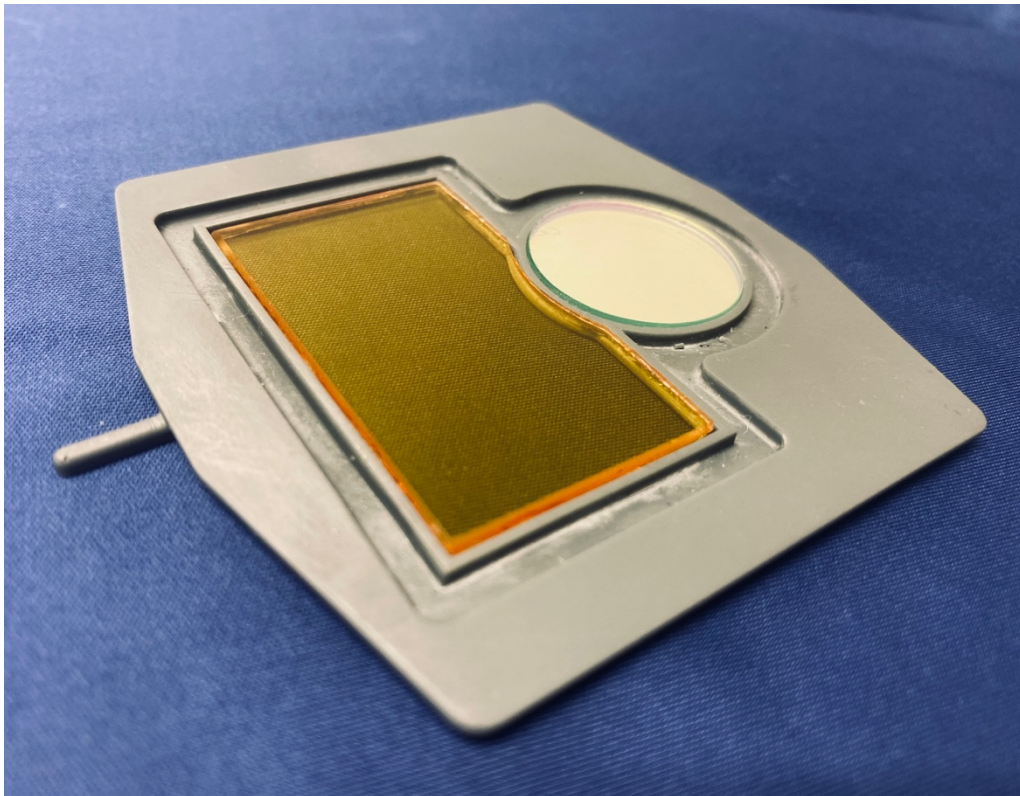


Figura 13. Modelo físico del módulo de detección de fluorescencia. Vista oblicua visto desde la “cara Zeiss”.

Posterior a la colocación y ajuste de la funda estéril de microscopio neuroquirúrgico según el protocolo ya estandarizado se retira el lente protector (Visionguard OPMI ZEISS) del aro comercial deslizándolo en sentido rostral sobre las aperturas de fijación y se procede a colocar el marco óptico 3D previamente ensamblado con los filtros ópticos de excitación y de barrera deslizándolo en sentido caudal hasta que quede completamente adaptado al aro de la funda estéril comercial (OPMI Drape sterile) (**Figura 14**).

Durante el tiempo quirúrgico se puede intercambiar entre el modo convencional de luz blanca y el modo de fluorescencia (**Figura 15**).

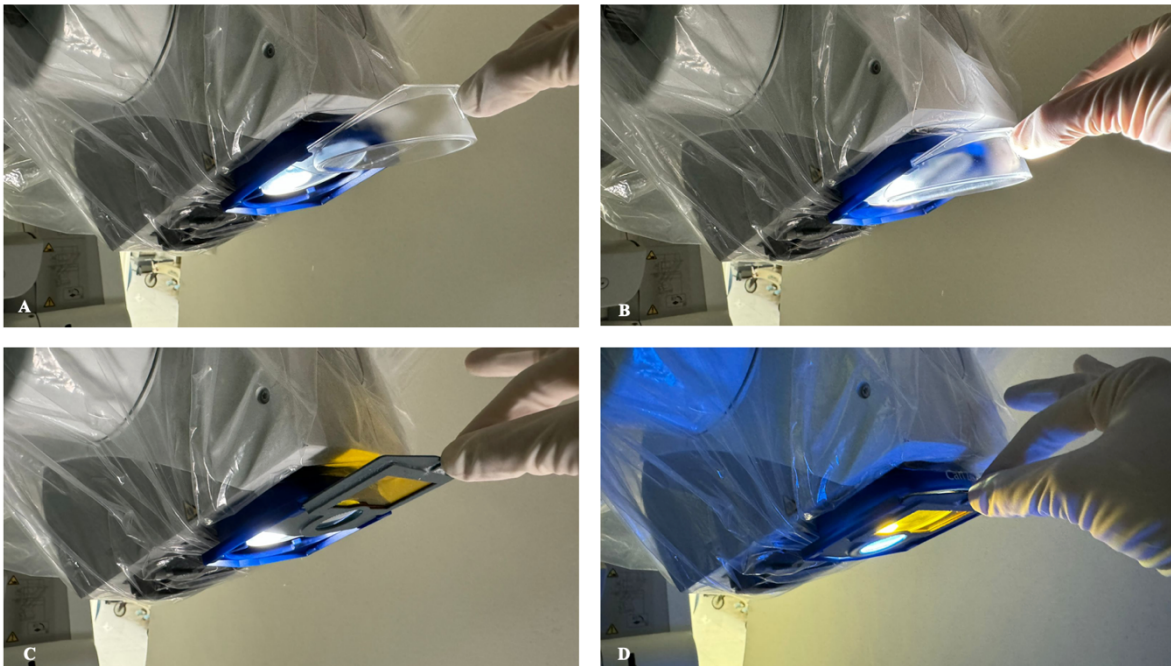


Figura 14. Proceso de ensamble de módulo de detección de fluorescencia al microscopio quirúrgico.

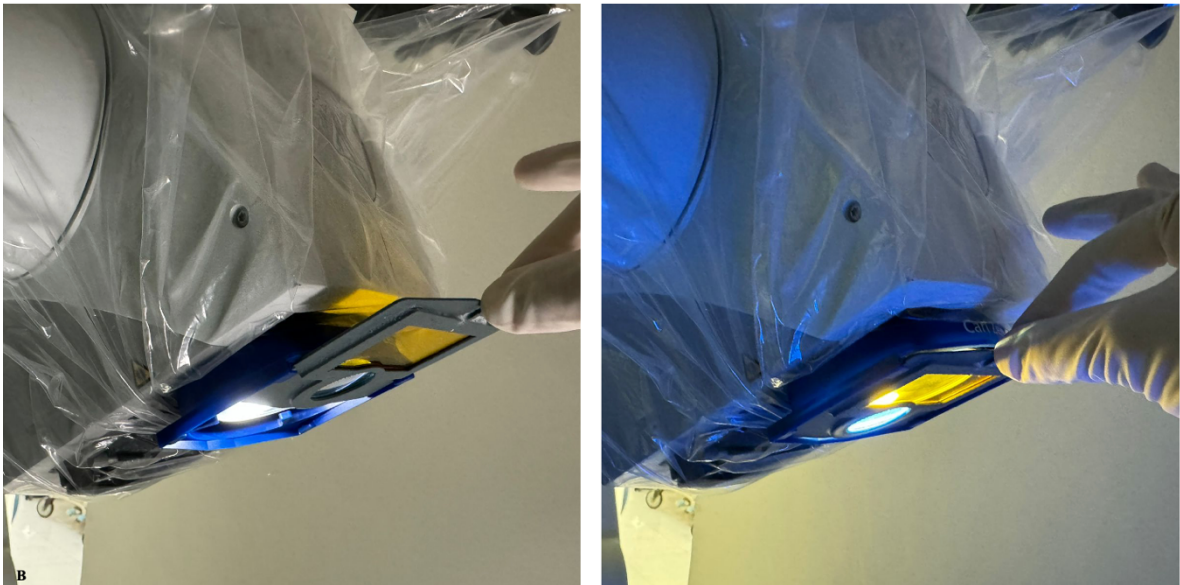


Figura 15. Configuración intraoperatoria de marco óptico 3D. A. Modo de luz blanca, B. Modo de fluorescencia.

TRL 4. Validación tecnológica a nivel laboratorio.

Con base al espectro de absorción/emisión de la FS puede absorber radiación a longitudes de ondas correspondientes en el espectro ultravioleta - azul y emitir radiación en el espectro del color verde (78).

Procedimiento experimental

Se preparó una solución a partir de un vial de FS inyectable de 5ml al 10%.

El tinte se diluyó al 1% con solución salina al 0,9%.

Dosis 5-10 mg/kg (40).

Se utilizaron 4 placas de Petri en las que se colocó 1UL en cada una. Para la demostración del fenómeno de fluorescencia cada placa se iluminó empleando diferentes tipos de iluminación.

- A. Luz blanca
- B. Luz blanca con filtro de excitación azul BP470
- C. Luz blanca con filtro de detección amarillo LP515
- D. Luz blanca con filtro de excitación azul BP470 y de detección amarillo LP515
(Módulo de detección de fluorescencia)

Se observó que la FS al estar en contacto con la luz blanca de lámparas de iluminación convencional presenta un color verde, cuando la FS es excitada con luz azul se puede observar el fenómeno de fluorescencia que se manifiesta de un color verde intenso (**Figura 16**).

TRL 5. Tecnología validada en laboratorio, pero en condiciones de un entorno relevante (condiciones que simulan unas condiciones existentes en un entorno real).

Animales de experimentación

Los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con las pautas y regulaciones de la Institutos Nacionales de Salud para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio.

Se utilizarón 4 ratas Wistar macho de 10 a 12 semanas de edad de un peso de 250 a 300g.

Dosis y medicamentos

- La anestesia fue inducida mediante la inyección intramuscular de una combinación de xilazina (5 mg/kg) y Zoletil 100 ® (Tiletamina / Zolazepam) (35mg/kg). Las dosis se repitieron cada 30 a 45 minutos para mantener el efecto anestésico.
- Para la demostración del fenómeno de fluorescencia se utilizó como fluoroforó la FS a una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa a través de la vena femoral posterior a la administración anestésica.

Procedimiento quirúrgico en un modelo *in vivo*

Los animales de experimentación se posicionaron sobre un soporte de metal en decúbito dorsal.

Se realizó asepsia y antisepsia de la región abdominal e inguinal bilateral.

Disección aortoifáca

En la región abdominal se marcó una herida líneal a nivel de la línea media aproximadamente de 4 cm de longitud posteriormente se incidió la pared abdominal y se

exteriorizaron las vísceras abdominales a través del espacio parietocólico izquierdo desplazándolas de izquierda a derecha. Se inició la disección del tejido conectivo para acceder al espacio retroperitoneal entre la aorta abdominal y la vena cava inferior bajo microscopio quirúrgico ZEISS OPMI Pentero (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany). Se identificó la aorta abdominal con sus respectivas ramas; lumbares, sacra media y bifurcación en iliacas primitivas.

Demostración del fenómeno de fluorescencia en un modelo *in vivo*.

Para la demostración del fenómeno de fluorescencia se iluminó empleando diferentes tipos de iluminación (**Figura 16**).

E. Luz blanca

F. Luz blanca con filtro de excitación azul BP470

G. Luz blanca con filtro detección amarillo LP515

H. Luz blanca con filtro de excitación azul BP470 y de detección amarillo LP515

(Módulo de detección de fluorescencia)

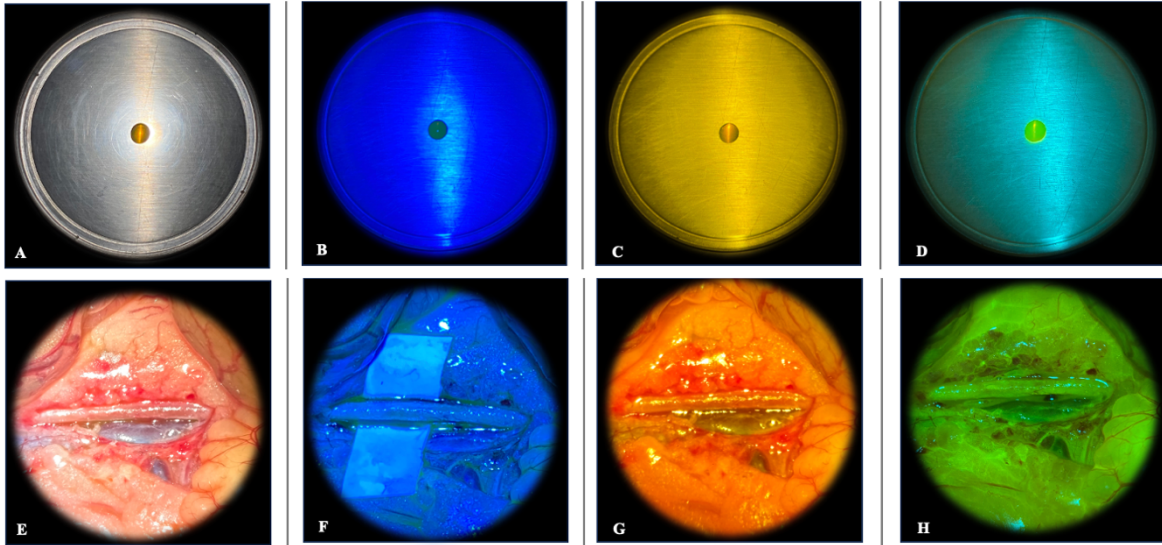


Figura 16. Demostración del fenómeno de fluorescencia experimental y en un modelo *in vivo*. Se vertieron 2UI en 4 placas de Petri (A – D). Exposición de la aorta abdominal y la vena cava inferior (E – H).

A. E. Luz blanca, B. F. Luz blanca con filtro de excitación azul BP470, C. G. Luz blanca con filtro de detección amarillo LP515, D. H. Luz blanca con filtro de excitación azul BP470 y de detección amarillo LP515 (Módulo de detección de fluorescencia).

Costos

Se designaron las siguientes variables para determinar el costo correspondiente a la manufactura del módulo de detección de fluorescencia: ensamble, componentes y gastos indirectos; con base a lo estipulado por el manual de diseño y desarrollo de productos (79)

En la **(Tabla 1)** se detalla el costo los componentes para la manufactura del módulo de detección de fluorescencia. Siendo un costo total de manufactura de \$7,520.00 MXN por pieza.

COSTO DE MANUFACTURA			
ELEMENTO	PRECIO	TIPO	CANTIDAD
Filamento PLA	\$20.00 MXN	Fijo	8g
Filtro paso largo	\$3,500.00 MXN	Fijo	1
Filtro paso corto	\$4,000.00 MXN	Fijo	1
TOTAL	7,520.00 MXN		

Tabla 1. Costos por manufactura.

Capítulo IX

DISCUSIÓN

Niveles de maduración tecnológica

Se resalta que la metodología para el desarrollo de este trabajo se realizó con base al modelo TRL para determinar nivel y las perspectivas del nivel de madurez tecnológica esperado y alcanzado. Este concepto fue desarrollado en la NASA durante la década de 1970, y formalmente definida en 1989 (80) como una escala que determina los niveles de preparación tecnológica para el desarrollo e implementación de programas espaciales.

En el ámbito de la tecnología biomédica el uso de los niveles TRL permite discusiones coherentes y uniformes sobre la madurez técnica de la tecnología propuesta.

Neurocirugía guiada por fluorescencia

La capacidad de delimitar estructuras anormales de las estructuras normales es el sello distintivo de cualquier subespecialidad quirúrgica.

El desarrollo de la visualización intraoperatoria con la tecnología actual proporciona una mayor delimitación de los tejidos y como resultado una cirugía eficaz y más segura. Si bien las tinciones y tintes se han utilizado desde el siglo pasado para identificar estructuras y procesos biológicos en muestras de tejido (81); bajo este principio y con base a la magnificación e iluminación del tejido se ha logrado la detección intraoperatoria de estructuras en tiempo real (82) (83) además de una visualización intraoperatoria mejorada del tejido cerebral normal, la delimitación de la patología cerebral y su vasculatura independiente del desplazamiento cerebral intraoperatorio (84), por lo que en la actualidad los avances en la cirugía guiada por fluorescencia han permitido un cambio de paradigma en los enfoques neuroquirúrgicos de las patologías neurooncológicas y cerebrovasculares (85).

La evolución de los sistemas de detección de fluorescencia ha sido revolucionados por la industria y se ha logrado la integración de módulos de fluorescencia a los microscopios quirúrgicos de última generación (86) en los cuales es posible alternar la iluminación convencional intraoperatoria con luz blanca a modos específicos de fluorescencia ya que constan de un conjunto de filtros ópticos alternables con solo pulsar un botón.

Actualmente entre los microscopios quirúrgicos de última generación disponibles en el mercado se encuentran :

ZEISS KINEVO 900 por ZEISS Inc. en el cual es posible alternar 4 modos de fluorescencia: INFRARED 800, ZEISS FLOW 800, ZEISS BLUE 400, ZEISS YELLOW 560.

Leica M530 OHX por Leica Microsystems integrado con 3 modos de fluorescencia: Leica FL560, fluorescencia del Leica FL400 y fluorescencia vascular del Leica FL800 además de la modalidad GLOW800 como modo de fluorescencia de para realidad aumentada. :

Sin embargo, es conocido que su adquisición implica un costo inalcanzable para países en vías de desarrollo.

Se han informado diferentes estrategias para el diseño y el uso de módulos de detección de fluorescencia, si bien se reconocen modelos propuestos con la ventaja aparentemente ser reproducidos a un bajo costo en comparación a los modos de fluorescencia comerciales o propiamente a los microscopios quirúrgicos de última generación, identificamos ciertas desventajas entre la más relevante la falta de estandarización en el proceso de integración del módulo de detección de fluorescencia en el campo quirúrgico.

Se obtuvo el diseño y se estandarizó el proceso de manufactura del módulo universal a partir de la tecnología 3D para la detección de fluoresceína sódica a bajo costo para su uso en la Neurocirugía guiada por fluorescencia.

El diseño se realizó a partir de la disposición y medidas de la fuente de luz y el campo visual de un microscopio compatible con ZEISS OPMI Vario S88 y ZEISS OPMI Pentero. Describimos detalladamente las medidas, disposición, además la innovación en el diseño con la adición de una extensión rostral que permite la sujeción del dispositivo entre el dedo índice y pulgar de la mano del cirujano. Así mismo se detalla el proceso de manufactura para su implementación en cualquier centro Neuroquirúrgico. Si bien en la literatura existen reportados módulos de detección fluorescencia a partir de modificaciones técnicas en los microscopios quirúrgicos (45), así como la integración de herramientas como el neuroendoscopio para la excitación de la fuente de luz (87) así mismo se han reportado la implementación de dispositivos adaptables para la integración de un módulo de fluorescencia carecen de detalles técnicos para su implementación (46) (88) lo que limita su reproducibilidad para su estandarización en centros de otras partes del mundo.

Así mismo estandarizamos el proceso de integración del módulo de detección de fluorescencia al campo quirúrgico fácilmente intercambiable de un modo de luz blanca a un modo de fluorescencia sin comprometer la esterilidad del campo quirúrgico ni la modalidad AUTODRAPE al contar con una extensión rostral que permite su agarre y facilita su integración al campo quirúrgico, esto último en contraste a lo propuesto por Magalhaes Leal y colaboradores (88).

Según lo establecido por los niveles de validación tecnológica en los niveles 4 y 5 que corresponden respectivamente a la validación tecnológica a nivel laboratorio y su validación en laboratorio pero en condiciones de un entorno relevante (condiciones que simulan un condiciones existentes en un entorno real); se logró la demostración y detección del fenómeno de fluorescencia de la FS con la integración al campo quirúrgico y de visión del modulo de fluorescencia propuesto. En la demostración experimental a partir del modelo animal se logró una buena calidad en la imagen, adecuada iluminación, percepción de colores y adecuada discriminación entre la señal fluorescente y los tejidos circundantes.

En lo correspondiente al costo por manufactura de los modulo propuesto es comparable con lo reportado po Magalhaes Leal y colaboradores reportaron un costo de 575 dolares, Lovato y colaboradores 340 euros a diferencia de Bongetta y colaboradores reportan un costo de aproximadamente1000 euros, cabe resaltar que el diseño y manufactura del marco óptico, se obtuvo apartir de la tecnología 3D en el Centro Universitario para las Enfermedades Neuroquirúrgicas “Dr. Román Garza Mercado”.

Capítulo X

CONCLUSIONES

Actualmente es posible contar con soluciones tecnológicas bajo un proceso metodológico como lo propuesto por los niveles de maduración tecnológica.

Se logró el desarrollo de un módulo de detección de fluorescencia para fluoresceína sódica a partir de la tecnología 3D a bajo costo en el Centro Universitario para las Enfermedades Neuroquirúrgicas “Dr. Román Garza Mercado” a través del modelo propuesto según los niveles de maduración tecnológica en su nivel 5 correspondiente a la validación tecnológica a nivel laboratorio en condiciones de un entorno relevante (condiciones que simulan un condiciones existentes en un entorno real).

El desarrollo del módulo de fluorescencia propuesto representa una línea de oportunidad para la innovación de dispositivos con potencial uso en al área de la Neurocirugía.

Se propone su uso en centros Neuroquirúrgicos de países en vías de desarrollo que no cuenten con microscopios quirúrgicos de última generación.

Capítulo XI

PERSPECTIVAS

Para continuar con la validación de la tecnología propuesta es necesario continuar con la implementación niveles de maduración tecnológica, así como el diseño de ensayos clínicos para determinar su utilidad en las patologías neurooncológicas y cerebrovasculares.

Capítulo XII

BIBLIOGRAFÍA

1. *Single-molecule fluorescence imaging in living cells*. Xia T, Li N, Fang X. s.l. : Annu Rev Phys Chem, 2013, Vols. 64:459-80.
2. *Fluorescence applications in molecular neurobiology*. Taraska JW, Zagotta WN. s.l. : Neuron, 2010, Vols. 66(2):170-89.
3. *Fluorescence microscopy*. Lichtman JW, Conchello JA. : Nat Methods, 2005. 2005 Dec;2(12):910-9.
4. *Fluorescein as an Agent in the Differentiation of Normal and Malignant Tissues*. GE, Moore. 1947 : Science. Aug 8;106(2745):130-1.
5. *El microscopio quirúrgico en Neurocirugía (Actualización)*. Cervantes González, Josué Alejandro & Bautista, Diego & Rueda, Bárbara. Ciudad de México : s.n., 2021.
6. *Fluorescein Sodium-Guided Surgery of Malignant Brain Tumors: History, Current Concepts, and Future Project*. Schebesch KM, Brawanski A, Hohenberger C, Hohne J. s.l. : Turk Neurosurg, 2016. 26(2):185-94.
7. *Optical Principles of Fluorescence-Guided Brain Tumor Surgery: A Practical Primer for the Neurosurgeon*. Zhang DY, Singhal S, Lee JYK. s.l. : Neurosurgery, 2019 . 1;85(3):312-324. .
8. *Pharmacokinetic studies on 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX accumulation in tumours and normal tissues*. Heyerdahl H, Wang I, Liu DL, Berg R, Andersson-Engels S, Peng Q, Moan J, Svanberg S, Svanberg K. s.l. : Cancer Lett, 1997. Jan 30;112(2):225-31.
9. *Safety and Efficacy of 5-Aminolevulinic Acid for High Grade Glioma in Usual Clinical Practice: A Prospective Cohort Study*. Teixidor P, Arráez MÁ, Villalba G, Garcia R, Tardáguila M, González JJ, Rimbau J, Vidal X, Montané E. s.l. : PLoS One, 2016. Feb 17;11(2):e0149244.
10. *5-Aminolevulinic Acid-Protoporphyrin IX Fluorescence-Guided Surgery of High-Grade Gliomas: A Systematic Review*. Guyotat J, Pallud J, Armoiry X, Pavlov V, Metellus P. s.l. : Adv Tech Stand Neurosurg, 2016. (43):61-90.
11. *The Development of Fluorescence Microscopy*. Masters, Barry R. s.l. : In eLS, (Ed.), 2010.
12. *Microsurgery in ophthalmology*. MJ, Roper-Hall. 1967, Br J Ophthalmol, págs. 408-14.
13. MJ, Roper-Hall. 1967, Br J Ophthalmol, págs. 408-14.
14. *Fluorescence lifetime imaging microscopy: fundamentals and advances in instrumentation, analysis, and applications*. Datta R, Heaster TM, Sharick JT, Gillette AA, Skala MC. s.l. : J Biomed Opt, 2020. May;25(7):1-43.
15. *History of the operating microscope: from magnifying glass to microneurosurgery*. Kriss TC, Kriss VM. s.l. : Neurosurgery, 1998. Apr;42(4):899-907; discussion 907-8.
16. *Operating microscopes: past, present, and future*. Uluç K, Kujoth GC, Başkaya MK. s.l. : Neurosurg Focus, 2009 . Sep;27(3):E4.

17. *Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial.* . Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ y Group., ALA-Glioma Study. 2006 May, *Lancet Oncol.* , págs. 7(5):392-401.
18. *Development of a fluorescein operative microscope for use during malignant glioma surgery: a technical note and preliminary report.* Kuroiwa T, Kajimoto Y, Ohta T. s.l. : *Surg Neurol*, 1998. Jul;50(1):41-8.
19. *Microdose fluorescence imaging of ABY-029 on an operating microscope adapted by custom illumination and imaging modules.* *Biomed Opt Express.* Elliott JT, Dsouza AV, Marra K, Pogue BW, Roberts DW, Paulsen KD. s.l. : *Biomed Opt Express*, 2016 . Aug 9;7(9):3280-3288.
20. *Combination of hand-held probe and microscopy for fluorescence guided surgery in the brain tumor marginal zone.* Richter JCO, Haj-Hosseini N, Hallbeck M, Wårdell K. s.l. : *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2017. Jun;18:185-192.
21. *History of the operating microscope: from magnifying glass to microneurosurgery.* Kriss TC, Kriss VM. s.l. : *Neurosurgery*, 1998 . Apr42(4):899-907; discussion 907-8. .
22. *Fluorescein Sodium-Guided Surgery of Malignant Brain Tumors: History, Current Concepts, and Future Project.* Schebesch KM, Brawanski A, Hohenberger C, Hohne J. *Turk Neurosurg* : s.n., 2016. 26(2):185-94.
23. *5-ALA complete resections go beyond MR contrast enhancement: shift corrected volumetric analysis of the extent of resection in surgery for glioblastoma.* Schucht P, Knittel S, Slotboom J, Seidel K, Murek M, Jilch A, Raabe A, Beck J. Feb;156(2):305-12; discussion 312, s.l. : *Acta Neurochir (Wien)*, 2014 .
24. *Astrocytic tumors.* . Riemenschneider MJ, Reifenberger G. 2009, *Recent Results Cancer Res.*, págs. 171:3-24.
25. *The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary.* Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, Hawkins C, Ng HK, Pfister SM, Reifenberger G, Soffietti R, von Deimling A, Ellison DW. s.l. : *Neuro Oncol*, 2021 Aug 2, Vols. 23(8):1231-1251.
26. *Epidemiología descriptiva y cambios en la frecuencia de tumores astrocíticos en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de México.* Aguirre-Cruz, Lucinda, Rodríguez-Pérez, Citlali Ekaterina, Cruz-Aguilera, Dora Luz de la, Acosta-Castillo, Gilberto Isaac, Ruano-Calderón, Luis, Martínez-Moreno, Mauricio, & Sotelo. 2020, *Salud Pública de México*, págs. 62(3), 255-261.
27. *Historical distribution of central nervous system tumors in the Mexican National Institute of Neurology and Neurosurgery.* Aguirre-Cruz, Lucinda et al. 2023, *Salud Pública de México*, págs. 58(2), 171-178.
28. *Glioblastoma in adults: a Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Society of Neuro-Oncology (EANO) consensus review on current management and future directions.* . Wen PY, Weller M, Lee EQ, Alexander BM, Barnholtz-Sloan JS, Barthel FP, Batchelor TT, Bindra RS, Chang SM, Chiocca EA, Cloughesy TF, DeGroot JF, Galanis E, Gilbert MR, Hegi ME, Horbinski C, Huang RY, Lassman AB, Le Rhun E, Lim M, Mehta MP, Mellinghoff IK,. 2020 Aug , *Neuro Oncol.* , págs. 17;22(8):1073-1113.

29. *Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma.* . Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, Curschmann J, Janzer RC, Ludwin SK, Gorlia T, Allgeier A, Lacombe D, Cairncross JG, Eisenhauer E, Mirimanoff RO. 2005 Mar , N Engl J Med., págs. 10;352(10):987-96.
30. *Fluorescence-Guided Surgery in the Surgical Treatment of Gliomas: Past, Present and Future.* . Sun R, Cuthbert H, Watts C. 2021 Jul , Cancers (Basel). , pág. 13;13(14):3508.
31. *A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival.* . Lacroix M, Abi-Said D, Fourney DR, Gokaslan ZL, Shi W, DeMonte F, Lang FF, McCutcheon IE, Hassenbusch SJ, Holland E, Hess K, Michael C, Miller D, Sawaya R. 2001, J Neurosurg. , págs. 95(2):190-8.
32. *Prospective cohort study of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide chemotherapy for glioblastoma patients with no or minimal residual enhancing tumor load after surgery.* Stummer W, Meinel T, Ewelt C, Martus P, Jakobs O, Felsberg J, Reifenberger G. 2012, J Neurooncol. , págs. 108(1):89-97. .
33. *Fluorescence-guided brain tumor surgery.* . Smith LG, Nakano I. 2012, World Neurosurg. , págs. 78(6):559-64.
34. *Review of Intraoperative Adjuncts for Maximal Safe Resection of Gliomas and Its Impact on Outcomes.* Chanbour H, Chotai S. 2022, Cancers (Basel), pág. 21;14(22):5705.
35. *Intraoperative fluorescence-guided resection of high-grade gliomas: a comparison of the present techniques and evolution of future strategies.* . Li Y, Rey-Dios R, Roberts DW, Valdés PA, Cohen-Gadol AA. 2014, World Neurosurg. , págs. 82(1-2):175-85.
36. *Association of the Extent of Resection With Survival in Glioblastoma: A Systematic Review and Meta-analysis.* Brown TJ, Brennan MC, Li M, Church EW, Brandmeir NJ, Rakszawski KL, Patel AS, Rizk EB, Suki D, Sawaya R, Glantz M. 2016, JAMA Oncol, págs. 1;2(11):1460-1469.
37. *Surgical oncology for gliomas: the state of the art.* . Sanai N, Berger MS. 2018, Nat Rev Clin Oncol. , págs. 15(2):112-125.
38. *Removal of right cerebral hemisphere for certain tumors with hemiplegia: preliminary report.* Dandy, Walter Edward. 1928, JAMA., págs. 90(11):823–825.
39. *Fluorescein-guided resection of newly diagnosed high-grade glioma: Impact on extent of resection and outcome.* Schebesch KM, Höhne J, Rosengarth K, Noeva E, Schmidt NO, Proescholdt M. 2022, Brain Spine, pág. 2:101690.
40. *Is fluorescein-guided technique able to help in resection of high-grade gliomas?* Acerbi F, Broggi M, Eoli M, Anghileri E, Cavallo C, Boffano C, Cordella R, Cuppini L, Pollo B, Schiariti M, Visintini S, Orsi C, La Corte E, Broggi G, Ferroli P. 2014 Feb, Neurosurg Focus, pág. 36(2):E5.
41. *Fluorescein sodium-guided surgery in glioblastoma multiforme: a prospective evaluation.* Koc K, Anik I, Cabuk B, Ceylan S. 2008, Br J Neurosurg, págs. 22(1):99-103.

42. *The clinical use of fluorescein in neurosurgery; the localization of brain tumors.* Moore GE, Peyton WT, et al. 1948, J Neurosurg., págs. 5(4):392-8.
43. *Red cerebral veins and the cerebral steal syndrome. Evidence from fluorescein angiography and microregional blood flow by radioisotopes during excision of an angioma.* Feindel W, Yamamoto YL, Hodge CP. 1971, J Neurosurg, págs. 35(2):167-79.
44. *Intraoperative assessment of aneurysm clip placement by intravenous fluorescein angiography.* Wrobel CJ, Meltzer H, Lamond R, Alksne JF. 1994, Neurosurgery, págs. 35(5):970-3.
45. *Development of a fluorescein operative microscope for use during malignant glioma surgery: a technical note and preliminary report.* . Kuroiwa T, Kajimoto Y, Ohta T. 1998, Surg Neurol, págs. 50(1):41-8.
46. *Low-Cost Device for Fluorescein-Guided Surgery in Malignant Brain Tumor.* Lovato RM, Vitorino Araujo JL, Esteves Veiga JC. 2017, World Neurosurg, págs. 104:61-67.
47. *Technique and image quality of intraoperative indocyanine green angiography during aneurysm surgery using surgical microscope integrated near-infrared video technology.* . Raabe A, Beck J, Seifert V. 2005, Zentralbl Neurochir. , págs. 66(1):1-6.
48. *Fluorescein-guided surgery for grade IV gliomas with a dedicated filter on the surgical microscope: preliminary results in 12 cases.* Acerbi F, Broggi M, Eoli M, Anghileri E, Cuppini L, Pollo B, Schiariti M, Visintini S, Orsi C, Franzini A, Broggi G, Ferroli P. 2013, Acta Neurochir (Wien), págs. 155(7):1277-86.
49. *The effectiveness and cost-effectiveness of intraoperative imaging in high-grade glioma resection; a comparative review of intraoperative ALA, fluorescein, ultrasound and MRI.* Eljamel MS, Mahboob SO. s.l. : Photodiagnosis Photodyn Ther, 2016 Dec, Vols. 16:35-43.
50. *Fluorescein-Guided Surgery for Resection of High-Grade Gliomas: A Multicentric Prospective Phase II Study (FLUOGLIO).* . Acerbi F, Broggi M, Schebesch KM, Höhne J, Cavallo C, De Laurentis C, Eoli M, Anghileri E, Servida M, Boffano C, Pollo B, Schiariti M, Visintini S, Montomoli C, Bosio L, La Corte E, Broggi G, Brawanski A, Ferroli P. 2018 Jan 1, Clin Cancer Res., págs. 24(1):52-61.
51. *Fluorescence-guided resection of high-grade gliomas: a systematic review and meta-analysis.* . Su X, Huang QF, Chen HL, Chen J. 2014 Dec, Photodiagnosis Photodyn Ther., págs. 11(4):451-8.
52. *Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence.* . Stummer W, Stocker S, Wagner S, Stepp H, Fritsch C, Goetz C, Goetz AE, Kiefmann R, Reulen HJ. 1998 Mar, Neurosurgery., págs. 42(3):518-25.
53. *Fluorescence-Guided Surgery: A Review on Timing and Use in Brain Tumor Surgery.* Schupper AJ, Rao M, Mohammadi N, Baron R, Lee JYK, Acerbi F, Hadjipanayis CG. 2021 Jan, Front Neurol. , pág. 16;12:682151. .
54. *A Preliminary Technology Readiness Assessment of Morphing Technology Applied to Case Studies.* Miceli, Marco Fabio, Salvatore Ameduri, Ignazio Dimino, Rosario Pecora, and Antonio Concilio. 2023, Biomimetics 8, pág. 8(1):24.

55. CONACYT. TRL CONACYT. [En línea] September de 2019. <https://www.conacyt.gob.mx/index.php/sni/convocatorias-conacyt/convocatorias-fondos-sectoriales-constituidos/convocatoria-se-conacyt-innovacion-tecnologica/convocatorias-cerradas-se-conacyt-innovacion-tecnologica/convocatoria-se-conacyt-innovacion-tecnolo>.
56. *History of the operating microscope: from magnifying glass to microneurosurgery*. Kriss TC, Kriss VM. 1998, *Neurosurgery*, págs. Apr;42(4):899-907.
57. Bradbury, Savile. *The Evolution of the Microscope*. Michigan : Pergamon Press, 1967.
58. *The evolution of microscope design from its invention to the present days*. AE, Kalderon. 1983, *Am J Surg Pathol.* , págs. 7(1):95-102.
59. HR, Purtle. History of the microscope. *The Encyclopedia of Microscopy and Microtechnique*. New York : s.n., 1973, págs. 252-260.
60. *The microscopes of Antoni van Leeuwenhoek*. J., Van Zuylén. 1981, *J Microsc*, págs. 309-28.
61. *Microsurgery in ophthalmology*. MJ, Roper-Hall. 1967, *Br J Ophthalmol*, págs. 408-14.
62. *Carl Olof Nylén and the birth of the otomicroscope and microsurgery*. GF, Dohlman. 1969, *Arch Otolaryngol*, págs. 90(6):813-7.
63. *The otomicroscope and microsurgery* . CO, Nylén. 1972, *Acta Otolaryngol*, págs. 73(6):453-4.
64. *Microsurgery in anastomosis of small vessels*. Jh, Jacobs and Suarez-Murias El. 1960, *Surgical forum*.
65. *The history of microsurgery in neurosurgery*. RM, Donaghy. 1979, *Clin Neurosurg*, págs. 26:619-25.
66. *The dissecting microscope for intracranial vascular surgery*. Pool JL, Colton RP. 1966, *J Neurosurg*, págs. 25(3):315-8.
67. *Micro-neurosurgery for aneurysms of the vertebral-basilar artery system*. Rand RW, Jannetta PJ. 1967, *J Neurosurg*, págs. 27(4):330-5.
68. *The history of the microscope in ocular surgery*. JI, Barraquer. 1980, *J Microsurg*, págs. 1(4):288-99.
69. *Neurosurgeon of the year: Mahmut Gazi Yasargil*. RM, Donaghy. 1980, *Surg Neurol*, págs. 13(1):1-3.
70. M, Yasargil. *Microneurosurgery*. s.l. : Thieme Stratt, 1988.
71. The Zeiss Archives. *ZEISS Group Global*. [En línea] <https://www.zeiss.com/corporate/en/about-zeiss/past/history/archives.html>.
72. Applications of Neurosurgery Operating Microscopes. [En línea] <https://www.leica-microsystems.com/applications/medical/neurosurgery-spine/>.
73. *Red cerebral veins and the cerebral steal syndrome. Evidence from fluorescein angiography and microregional blood flow by radioisotopes during excision of an angioma*. Feindel W, Yamamoto YL, Hodge CP. 1971, *J Neurosurg*, págs. 35(2):167-79.
74. *Intraoperative assessment of aneurysm clip placement by intravenous fluorescein angiography*. Wrobel CJ, Meltzer H, Lamond R, Alksne JF. 1994, *Neurosurgery*, págs. 35:970–973.

75. *Fluorescence-Guided Surgery in the Surgical Treatment of Gliomas: Past, Present and Future*. Sun R, Cuthbert H, Watts C. 2021, *Cancers* (Basel), pág. 13(14):3508.
76. Midwest Optical Systems, INC. *BP470 Blue Bandpass Filter*. [En línea] [Citado el: 26 de Enero de 2024.] <https://midopt.com/filters/bp470/>.
77. Midwest Optical Systems, INC. *LP515 Yellow-Orange Longpass Filter*. [En línea] 26 de Enero de 2024. <https://midopt.com/filters/lp515/>.
78. *Testing Fluorescence Lifetime Standards using Two-Photon Excitation and Time-Domain Instrumentation: Fluorescein, Quinine Sulfate and Green Fluorescent Protein*. Kristoffersen, A.S., Erga, S.R., Hamre, B. 1065–1073, *J Fluoresc* : Springer, 2018.
79. Ulrich, Karl T. *Diseño y desarrollo de productos*. México, D.F. : McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V., 2013.
80. *The NASA Technology Push Towards Future Space Mission Systems*. Sadin S. R., Frederick p. p., Rosen R. s.l. : *Acta Astronautics* , 1989, Vols. Vol. 20, pp.73-77.
81. *Histological Stains: A Literature Review and Case Study*. Alturkistani HA, Tashkandi FM, Mohammedsaleh ZM. s.l. : *Glob J Health Sci*, 2015, Vols. 8(3):72-9.
82. *What is the Surgical Benefit of Utilizing 5-Aminolevulinic Acid for Fluorescence-Guided Surgery of Malignant Gliomas?* . Hadjipanayis CG, Widhalm G, Stummer W. s.l. : *Neurosurgery*, 2015, Vols. 77(5):663-73.
83. *Current and future clinical applications for optical imaging of cancer: from intraoperative surgical guidance to cancer screening*. Hadjipanayis CG, Jiang H, Roberts DW, Yang L. s.l. : *Semin Oncol*, 2011, Vols. 38(1):109-18.
84. *Intraoperative Spectroscopy with Ultrahigh Sensitivity for Image-Guided Surgery of Malignant Brain Tumors*. Kairdolf BA, Bouras A, Kaluzova M, Sharma AK, Wang MD, Hadjipanayis CG, Nie S. s.l. : *Anal Chem*, 2016, Vols. 5;88(1):858-67.
85. Hadjipanayis, Constantinos G. y Stummer, Walter. *Current Fluorescence-Guided Neurosurgery and Moving Forward*. [aut. libro] Constantinos G Hadjipanayis. *Fluorescence-Guided Neurosurgery*. s.l. : Thieme, 2019.
86. *Technical principles and neurosurgical applications of fluorescein fluorescence using a microscope-integrated fluorescence module*. Rey-Dios R, Cohen-Gadol AA. s.l. : *Acta Neurochir (Wien)*, 2013, Vols. 155(4):701-6.
87. *Low-Cost Fluorescein Detection System for High-Grade Glioma Surgery*. Bongetta D, Zoia C, Pugliese R, Adinolfi D, Silvani V, Gaetani P. s.l. : *World Neurosurg*, 2016, Vols. 88:54-58.
88. *Universal fluorescence module for intraoperative fluorescein angiography-a technical report*. Leal RTM, Fernandes RA, Escudeiro GP, Rodrigues RMC, Monteiro R, Landeiro JA. s.l. : *Acta Neurochir (Wien)*, 2019, Vols. 161(7):1343-1348.
89. *Fluorescein angiography complication survey*. Yannuzzi LA, Rohrer KT, Tindel LJ, Sobel RS, Costanza MA, Shields W, Zang E. 1986 May, *Ophthalmology*, págs. 93(5):611-7.

90. *Comparison of 5-aminolevulinic acid and sodium fluorescein for intraoperative tumor visualization in patients with high-grade gliomas: A single-center retrospective study.* Hansen R.W., Pedersen C.B., Halle B., Korshøj A.R., Schulz M.K., Kristensen B.W., Poulsen F.R. 2019, *J. Neurosurg*, págs. 133:1–8.
91. *Fluorescein-Guided Surgery for Resection of High-Grade Gliomas: A Multicentric Prospective Phase II Study (FLUOGLIO).* Francesco Acerbi, Morgan Broggi, Karl-Michael Schebesch, Julius Höhne, Claudio Cavallo, Camilla De Laurentis, Marica Eoli, Elena Anghileri, Maura Servida, Carlo Boffano, Bianca Pollo, Marco Schiariti, Sergio Visintini, Cristina Montomoli, Lorenzo Bosio, E. 2018, *Clin Cancer Res* , págs. 24 (1): 52–61.
92. *Neurosurgical outcomes in a modern series of 400 craniotomies for treatment of parenchymal tumors.* . Sawaya R, Hammoud M, Schoppa D, Hess KR, Wu SZ, Shi WM, Wildrick DM. 1998, *Neurosurgery.*, págs. 42(5):1044-55.
93. *Fluorescence-Guided Surgery in the Surgical Treatment of Gliomas: Past, Present and Future.* Sun R, Cuthbert H, Watts C. 2021, *Cancers (Basel)*, pág. 13(14):3508.
94. Applications of Neurosurgery Operating Microscopes. [En línea] <https://www.leica-microsystems.com/applications/basic-microscopy-techniques/fluorescence/>.

Capítulo XIII

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Dra. Miriam Delgado Brito

Candidato para el Grado de Especialidad en Neurocirugía

Tesis : Módulo 3D para la detección de Fluoresceína Sódica a bajo costo útil en la Neurocirugía guiada por Fluorescencia.

Campo de estudio: Ciencias de la Salud