



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



HOSPITAL DE CLÍNICAS
Dr. Manuel Quintela

AUTOFLUORESCENCIA DE LAS **GLÁNDULAS PARATIROIDES:** **DESARROLLO DE UNA TÉCNICA PARA** **SU DETECCIÓN**

Orientadores

Prof. Agdo. Dr. Sebastián Laza

E-mail: sebastianlaza@gmail.com

Prof. Adj. Dr. Juan Pablo Gambini

E-mail: jpgambini@gmail.com

Estudiantes

Br. Cecilia Barrios

Br. Matías Campos

Br. Johanna Lipiejko

Br. Ma. Florencia Torres

Br. Lucía Tortosa

Colaborador

Ing. Ricardo Vila

Email: ricvila@gmail.com

Instituciones participantes:

Facultad de Medicina, UdelaR

Hospital de Clínicas “Manuel Quintela”

Cátedra de Anatomía, Facultad de Medicina

ÍNDICE

1- Resumen.....	3
2- Introducción.....	3-6
2.1- Antecedentes. 2.2- Planteamiento del problema. 2.3- Justificación.	
3- Marco teórico.....	7-15
3.1- Glándulas Paratiroides. 3.2- Hiperparatiroidismo Primario. 3.3-Hiperparatiroidismo secundario. 3.4- Hiperparatiroidismo y enfermedad renal. 3.5- Metabolismo cálcico normal. 3.6- Métodos paraclínicos de diagnóstico y localización. 3.7- Paratiroidectomía. 3.8- Hipoparatiroidismo en tiroidectomía. 3.9- Hiperparatiroidismo persistente o recidivante. 3.10- Fluorescencia. 3.11- Espectro de la luz. 3.12- Infrarrojo. 3.13- Espectroscopía por infrarrojo cercano. 3.14- Aplicaciones en medicina de la espectroscopía por infrarrojo cercano. 3.11- Procedimientos quirúrgicos que se beneficiarían de la NIR en tiempo real.	
4- Objetivos.....	15-16
4.1- Objetivo General. 4.2- Objetivos específicos.	
5- Métodos.....	16-18
5.1- Tipo de Estudio. 5.2- Universo de Estudio . 5.3- Selección y tamaño de la muestra. 5.4- Procedimientos que garanticen los aspectos éticos . 5.5- Recolección de datos. 5.6- Instrumentos utilizados para la recolección de datos. 5.7- Métodos para el control de calidad de los datos	
6- Resultados.....	18-22
7- Discusión y limitaciones.....	22-23
8- Conclusiones.....	23-24
9- Perspectivas.....	24
10-Recursos.....	24-25
10.1- Recursos Humanos. 10.2- Recursos Materiales	
11-Cronograma.....	25
12- Presupuesto.....	25
13- Agradecimientos.....	25
14- Referencias bibliográficas	26-29
15- Anexo.....	30-32

1. Resumen

Introducción: La cirugía de las glándulas paratiroides presenta una serie de desafíos, teniendo en cuenta que el tejido paratiroideo es a veces difícil de identificar. Se ha descrito la existencia de autofluorescencia de estas glándulas en el infrarrojo cercano, lo que permitiría su visualización. **Objetivo:** Este estudio tuvo como objetivo evaluar la propiedad de autofluorescencia de las glándulas paratiroides para facilitar su identificación. **Material y métodos:** Se llevó adelante el diseño y desarrollo de un dispositivo capaz de evaluar la autofluorescencia de las paratiroides. El mismo se empleó en primera instancia para evaluar dicha propiedad en glándulas porcinas. Posteriormente se llevó adelante un estudio observacional en el Hospital de Clínicas en el periodo julio-octubre de 2016, en aquellos sujetos que tenían indicación de paratiroidectomía y que cumplieron con los criterios de inclusión. Durante el acto operatorio, luego de que el cirujano extraía tejido compatible con paratiroides para ser analizado por Anatomía Patológica, las muestras eran introducidas en el dispositivo diseñado. **Resultados:** La evaluación de autofluorescencia de paratiroides porcinas, permitió constatar esta propiedad en el tejido paratiroideo. Durante el período mencionado, se realizó un solo procedimiento de paratiroidectomía en el HC. Se obtuvieron cinco muestras, pudiéndose identificar la presencia de autofluorescencia en dos de ellas. Anatomía Patológica corroboró que correspondían, una de ellas a tejido tiroideo y la otra a tejido paratiroideo. Las tres muestras restantes, que no presentaron autofluorescencia, correspondieron a tejido paratiroideo. **Conclusiones:** El instrumento diseñado y desarrollado permite la detección de autofluorescencia de tejidos. Los resultados preliminares obtenidos son alentadores siendo un procedimiento fácilmente reproducible, que no altera las muestras. Cabe destacar que es la primera vez que se realiza un procedimiento de estas características en nuestro país.

Palabras Claves: Paratiroides, Autofluorescencia, Espectroscopía, Infrarrojo.

2. Introducción

La cirugía en medicina ha presentado desde sus inicios a la actualidad grandes avances tanto teóricos como tecnológicos. Aunque esto indudablemente ha derivado en una mejora sustancial de los resultados obtenidos, existen problemas de la práctica diaria que la ciencia no ha podido resolver y que redundan en fracasos terapéuticos, complicaciones y/o tiempos de sobrevida inferiores a los deseados.

Estas situaciones han enfrentado a los médicos e investigadores a la necesidad de buscar soluciones a través de nuevas técnicas quirúrgicas y/o tecnologías, dando como resultado el

desarrollo de las técnicas de fluorescencia e inmunofluorescencia. Dichas técnicas se emplean en la actualidad para la identificación de diferentes tejidos.

2.1 Antecedentes:

Existen publicaciones que demuestran el uso de fluoróforos, fluorescencia e inmunofluorescencia en la detección intraoperatoria de las glándulas paratiroides con diferentes patologías.

En enero de 2011 Paras et al. publican una investigación, realizada en el Centro Médico de la Universidad de Vanderbilt. (1) Se estudió la capacidad de autofluorescencia cercana al infrarrojo de las glándulas paratiroides en paratiroidectomías y tiroidectomías, demostrándose la utilidad de dicha técnica para identificar las glándulas, independientemente de la patología que presentara el paciente. Esta es una gran ventaja sobre los métodos de localizaciones intraoperatorios actuales, tales como la captación de radiotrazadores, ultrasonido, y la determinación intraoperatoria de hormona paratiroidea (PTH). (1)

En agosto del 2014 se publica "Label-free Intraoperative Parathyroid Localization With Near-Infrared Autofluorescence Imaging". (2) Un estudio cuyo objetivo fue evaluar la precisión de la técnica planteada en la investigación anterior. La precisión de imágenes de fluorescencia se analizó en comparación con la evaluación visual y los hallazgos histológicos. Además, las imágenes de fluorescencia de las paratiroides mostraron una intensidad de emisión de 2,4 a 8,5 veces mayor que el tejido circundante como tiroides, músculos y grasa. (2) A pesar de estos hallazgos se debe destacar que actualmente la base molecular de la autofluorescencia paratiroidea no está del todo esclarecida, si bien se piensa que se relaciona con canales de calcio celulares. (2)

En marzo de 2015 se publica "Intraoperative guidance in parathyroid surgery using near-infrared fluorescence imaging and low-dose Methylene Blue" donde se utilizó el Azul de Metileno como trazador fluorescente para la detección de adenomas de paratiroides. (3) En dicho estudio los pacientes recibieron 0,5 mg / kg por vía intravenosa de Azul de Metileno directamente después del inicio de la anestesia. Para obtener imágenes de fluorescencia cercanas al infrarrojo se utilizó un sistema de imágenes que consta de dos fuentes de luz de longitud de onda aisladas: una blanca de 400-650nm y una cercana al infrarrojo 670nm. En esta investigación se identificaron glándulas paratiroides normales, tan pequeñas como de 1mm durante la exploración del cuello. Estas no se habían detectado por el cirujano mediante inspección visual o la palpación. Las paratiroides normales pueden ser difíciles de distinguir debido a su pequeño tamaño, su variabilidad en la ubicación y el aspecto similar a los ganglios

linfáticos. La detección de estas glándulas normales puede ser de gran valor añadido durante la resección subtotal de las glándulas paratiroides. (3)

“Establishing the clinical utility of autofluorescence spectroscopy for parathyroid detection” es un artículo de mayo de 2015, donde se planteó como objetivo evaluar la utilidad clínica de la técnica de fluorescencia intrínseca paratiroidea para su detección intraoperatoria y se concluyó que existe la utilidad clínica potencial en la detección óptica guiada por esta propiedad. (4)

2.2 Planteamiento del problema

2.2.1 Delimitación y definición del problema

Dificultad para visualizar las glándulas paratiroides en los diversos actos quirúrgicos en los que están involucradas.

Las glándulas paratiroides pueden ser estructuras de difícil visualización dada su variabilidad anatómica y su poca diferenciación macroscópica de los tejidos circundantes; en especial del tejido tiroideo por el cual se encuentran rodeadas. Actualmente no existe ninguna técnica de imagen globalmente aceptada que permita la identificación de las glándulas *in situ* durante los diversos actos quirúrgicos. Los cirujanos se valen de su experiencia y en algunos casos de la anatomía patológica extemporánea, tanto para resecar las glándulas como para conservarlas dependiendo de la patología de base del paciente. Esto conlleva en ocasiones desde la posibilidad del fracaso terapéutico hasta el posible desarrollo de complicaciones postoperatorias médicas y/o quirúrgicas.

Recientemente se ha planteado el uso de la espectroscopía por infrarrojo cercano para poner en evidencia la autofluorescencia de las paratiroides. Mediante esta técnica se observa a las glándulas por intermedio de dispositivos de imagen, de forma más brillante que los tejidos que las rodean, permitiendo delimitarlas con más exactitud durante la cirugía. Existen pocos trabajos realizados al respecto. Ninguno de ellos especifica los procedimientos de forma detallada, de manera que puedan ser reproducidos universalmente, utilizan fluoróforos que se acumulan en las glándulas paratiroides y permiten visualizar su fluorescencia, o simplemente recurren a equipos demasiado costosos y por lo tanto, inaccesibles en nuestro medio.

2.2.2 Formulación del Problema de Investigación

¿Es posible evaluar la propiedad de autofluorescencia de las glándulas paratiroides utilizando tecnologías desarrolladas en nuestro medio que a su vez sean accesibles y reproducibles?

2.3 Justificación

Las cirugías de tiroides y paratiroides son frecuentes en nuestro país. Muchas veces los cirujanos pretenden reseca las glándulas paratiroides y muchas otras su objetivo es conservarlas. Dado su poca diferencia con el tejido circundante, y que el cirujano se vale de su vista, tacto y experiencia en estos procedimientos, a veces no se logra el cometido del acto quirúrgico, con las consecuencias que esto trae. Actualmente, unos pocos grupos de trabajo, en especial en Estados Unidos, han utilizado la propiedad de autofluorescencia de las paratiroides para observarlas durante los procedimientos quirúrgicos. Para esto, utilizan el espectro infrarrojo cercano y diversos dispositivos que permiten volver visible el rango del espectro de luz, que es invisible a simple vista.

En este trabajo se pretende diseñar, desarrollar y poner a punto instrumentación adecuada que permita visualizar las glándulas paratiroides, inicialmente *ex vivo*. En trabajos posteriores se buscará poder identificarlas *in situ*. Justifica este estudio el hecho de que actualmente no existen técnicas de imagen intraoperatorias de alta resolución espacial capaces de ayudar al cirujano a identificar el tejido paratiroideo sin tener que recurrir a la inyección de fluoróforos. El cirujano se basa en las imágenes preoperatorias para poder después hallarlas en el intraoperatorio. Puede contar con la ayuda de la cirugía radioguiada con ^{99m}Tc metoxisobutilisonitrilo (MIBI) para la detección de la topografía de las mismas, pero este procedimiento no es ampliamente utilizado en nuestro medio.

Se realizó una búsqueda bibliográfica utilizando motores de búsqueda como Pubmed, Cochrane, Scielo y Timbó, con la intención de buscar antecedentes sobre el tema registrados en el país. Si bien la misma no arrojó resultados relevantes en cuanto a la autofluorescencia aplicada a las paratiroides, si se encontraron antecedentes del uso la fluorescencia en otros procedimientos, como la detección de falla de sutura colónica con indocianina verde. (5)

De confirmarse la validez de nuestro sistema de detección, a largo plazo podrá beneficiar a los pacientes que se someten a cirugías que involucren a las glándulas tiroides y paratiroides, mejorando la técnica y dando apoyo al cirujano, esperando de esta manera disminuir las comorbilidades asociadas.

La técnica que se usó es no invasiva y el dispositivo desarrollado no entra en contacto con el paciente ya que simplemente se observan las glándulas una vez reseca por el cirujano, es decir *ex vivo*, el procedimiento tiene una duración de dos minutos y se realiza previo a su evaluación por anatomía patológica.

3 Marco Teórico

3.1 Glándulas Paratiroides

Las glándulas paratiroides se encuentran generalmente en la superficie posterior de la glándula tiroides. Las localizaciones extremas son raras aunque se han encontrado tan abajo como en el mediastino y tan arriba como en la bifurcación de la arteria carótida. (6)

La mayoría de los seres humanos tienen típicamente 4 glándulas paratiroides. Estudios en cadáveres humanos revelaron que el 84 % tienen 4, 13% tienen 5 o más, y 3% tienen solamente 3 glándulas paratiroides. (7)

Las paratiroides inferiores se originan en la tercera bolsa faríngea, mientras que las superiores descienden desde la cuarta. El epitelio de las bolsas faríngeas que forman los esbozos de las paratiroides, proliferan formando pequeños nódulos entre los cuales penetra el mesénquima vascularizado para formar el estroma de las glándulas. Posteriormente éstas se desconectan de la faringe y se fijan a la glándula tiroides. (8)

Su tamaño normal es de 5x3x1mm, pero oscila entre 12x2x1mm hasta 2x2x1mm. Su peso promedio es de 35 a 40 mg, aunque puede variar entre 10 y 78 mg. Tienen un color castaño claro u ocre. (9) Las superiores se hallan generalmente en la cara posteromedial de la tiroides. La situación intercricotiroidea, la inferoposterior y la paraesofágica, son las variaciones anatómicas que más dificultades pueden plantear tanto en la identificación de glándulas normales como de adenomas. Las dos ectopias más importantes pero muy raras de las glándulas superiores son la intratiroides y la ventana aortopulmonar, aunque esta generalmente se trata de una quinta glándula. (9) Las paratiroides inferiores tienen un área de distribución más amplia, que incluye la cara dorsal de la tiroides, por debajo de la arteria tiroidea inferior, y el ligamento tirotímico. Un 50% se encuentran más o menos en contacto con el polo inferior del tiroides, mientras que el resto se sitúa en el seno de los primeros 2 cm del timo cervical. Las ectopias mayores de las paratiroides inferiores incluyen los paratimos, las glándulas intratiroides y las posiciones tímicas bajas que pueden alcanzar el pericardio. (10)

En el 80% de los casos, las cuatro reciben su riego sanguíneo a partir de la arteria tiroidea inferior. Por regla general, a cada glándula paratiroides llega la irrigación de una sola arteria terminal, que es vulnerable a la lesión durante su manipulación quirúrgica. Las glándulas están constituidas por células principales y oxifílicas, así como por un estroma fibrovascular y tejido adiposo. (9)

3.2 Hiperparatiroidismo primario

El hiperparatiroidismo primario es una enfermedad producida por alteraciones en las glándulas paratiroides que producen una secreción inapropiada o elevada de PTH. La secreción sostenida y elevada de PTH produce hipercalcemia por aumento de la reabsorción tubular de calcio, fosfaturia, incremento de la síntesis de 1,25(OH) 2D3 y estimulación de la reabsorción ósea. Sin embargo, la hipercalcemia resultante es incapaz de suprimir la secreción aumentada de PTH. (11)

El hallazgo anatomopatológico más frecuente es la presencia de uno (75-80%) o más (2-4%) adenomas benignos paratiroides. En el 15-20% de los casos se descubre hiperplasia difusa de las 4 glándulas. Los adenomas únicos suelen localizarse en una paratiroides inferior. La diferenciación entre hiperplasia y adenoma plantea dificultades y requiere la extirpación de al menos dos glándulas. Si ambas presentan aumento de peso, el diagnóstico más probable es de hiperplasia; si sólo una está afectada, suele tratarse de un adenoma. En menos del 0,5%, el tumor es un carcinoma paratiroideo, que suele tener un crecimiento lento y metastatizar por vía linfática. (12)

3.3 Hiperparatiroidismo secundario (HPTS)

En este caso son factores externos los que estimulan a las glándulas paratiroides que aumentan la producción de parathormona u hormona paratiroidea (PTH) y finalmente inducen el crecimiento hiperplásico o adenomatoso de la glándula. (13)

La causa más frecuente de HPTS es la enfermedad renal crónica, sin embargo puede desarrollarse debido a otros estímulos como la hipercalciuria, el raquitismo y la osteoporosis con bajos niveles de 1,25-(OH)2-D3. También se han descrito casos en pacientes psiquiátricos asociados al uso crónico de litio. (13)

3.4 Hiperparatiroidismo y enfermedad renal

El hiperparatiroidismo como consecuencia de la enfermedad renal (HPTr) se caracteriza por niveles elevados de PTH secundarios a desequilibrios en el metabolismo fosfocálcico. Los pacientes con HPTr sufren de una elevada tasa de morbimortalidad ligada a enfermedades cardiovasculares y osteodistrofia. Las guías actuales recomiendan comenzar el screening para HPTr en todos los pacientes que padecen enfermedad renal crónica estadio 3 (tasa de filtrado glomerular estimada $< 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$). (14)

El HPTr se ha dividido clásicamente en dos tipos de acuerdo a los niveles de calcio séricos. El hiperparatiroidismo secundario es consecuencia de la hipocalcemia inducida por la retención de fosfato y la reducción de la síntesis de calcitriol debido a una función renal disminuida. En estos

casos existe una hiperplasia glandular compensatoria. El HPT secundario puede resolverse con la normalización de la homeostasis fosfocálcica. El hiperparatiroidismo terciario se produce cuando un paciente con HPT secundario de larga evolución desarrolla secreción de PTH autónoma. (14)

Aunque el tratamiento del HPT secundario sea en un principio de manejo médico y no quirúrgico, la paratiroidectomía sigue siendo una medida utilizada. (11) Si bien no existe un consenso universal con indicaciones de cirugía la National Kidney Foundation de Estados Unidos recomienda criterios para considerar la paratiroidectomía o referir al paciente a un cirujano especializado en la patología. (14) Los criterios tomados en cuenta actualmente son el hiperparatiroidismo severo (niveles persistentes de PTH libre >800 pg./mL [88.0 pmol/L]), asociado con hipercalcemia y/o hiperfosfatemia que son refractarias al tratamiento médico.(15) Otros criterios clásicamente considerados son: la osteoporosis (T-score > 2.5 SD por debajo de la masa ósea máxima), síntomas incapacitantes (prurito, dolor óseo, miopatía), personas con hiperparatiroidismo primario menores a 50 años y pacientes en los que el control médico resulta imposible. (14) (11)

3.5 Metabolismo cálcico normal

Los niveles de calcio están regulados por la interacción entre la hormona paratiroidea (PTH), la calcitonina y la vitamina D, que actúan sobre los huesos, el aparato digestivo (en especial a nivel intestinal) y el riñón. Las células principales de las glándulas paratiroides secretan PTH siempre que bajan los niveles de calcio en sangre, generando la resorción ósea a través de los osteoclastos, la reabsorción del calcio a nivel renal, la producción de 1,25-dihidroxitamina D_3 al mismo nivel y el estímulo del intestino para aumentar la absorción de calcio. Los receptores sensibles al calcio (CaSR) ubicados en las paratiroides censan el aumento del ion y ponen en marcha un circuito de retroalimentación negativa para disminuir al aumento de la PTH. (11)

La calcitonina es secretada por las células parafoliculares de la tiroides, en respuesta a un aumento en las concentraciones de calcio. Tiene acciones opuestas a las de la PTH, inhibiendo la resorción ósea, permitiendo un rápido descenso de la calcemia. (11)

La vitamina D se ingiere o se sintetiza en la piel en su forma precursora, y experimenta luego hidroxilación en dos pasos para adquirir finalmente su actividad biológica. La segunda hidroxilación se lleva a cabo en el riñón, como respuesta a concentraciones elevadas de PTH. La vitamina D aumenta la absorción de calcio en el intestino y estimula la resorción ósea. (11)

3.6 Métodos paraclínicos de diagnóstico y localización en la patología paratiroidea

Más allá de las pruebas de laboratorio, el avance sustancial lo han constituido las técnicas de imagen, que han permitido el desarrollo de una cirugía más localizada, eficiente y efectiva, al colaborar con la localización de las glándulas en especial en el preoperatorio.

Actualmente se considera al ^{99m}Tc MIBI, en especial en combinación con la tomografía computarizada de emisión monofotónica (SPECT) como el mejor estudio, con elevada sensibilidad y especificidad. (11) Su mayor limitación es la coexistencia de una enfermedad tiroidea o de otro tejido que sea activo metabólicamente. (11).

Hay numerosas técnicas no invasivas de localización de glándulas paratiroides, que se pueden realizar con anterioridad al acto quirúrgico. Entre ellas se encuentran el *ultrasonido* (bajo costo, sin radiaciones, técnico-dependiente, y con una sensibilidad del 70-100%, que disminuye con la presencia de anomalías en la glándula tiroides) y el *Sestamibi scan* (16) centellograma que emplea ^{99m}Tc MIBI, que tiene afinidad para las glándulas paratiroides anormales. Este procedimiento utiliza la SPECT y posee una sensibilidad para localizar adenomas del 95% con una especificidad del 100%. Existe también la *tomografía computada* (que provee información complementaria, con una sensibilidad de 45 a 86% y puede ser de utilidad para identificar glándulas paratiroides ectópicas), la *resonancia magnética* (las glándulas paratiroides hiperfuncionantes muestran intenso contraste en T1, tiene una sensibilidad de 69 a 88% para detectar glándulas paratiroides anormales) y *el ensayo de la hormona paratiroidea intraoperatoria* en el cual se utilizan los criterios de Miami (un descenso del 50 % o más de la PTH, indica que la fuente del hiperparatiroidismo ha sido eliminada). (17)

Desde que se descubrió que los isonitrilos marcados con ^{99}Tc -sestamibi (MIBI) son captados por las paratiroides patológicas, la gammagrafía realizada con ellos permite su detección en un amplio porcentaje de casos. Para el diagnóstico preoperatorio del hiperparatiroidismo, la gammagrafía con MIBI es un recurso de imagen más sensible que la ecografía y la tomografía computada.(18). La técnica emplea el radiofármaco MIBI (metoxiisobutilisonitrilo) marcado con ^{99m}Tc (tecnecio 99 metaestable) que luego se inyecta por vía endovenosa. (19) El empleo de este método es posible gracias a la propiedad que tienen los adenomas paratiroides de concentrar selectivamente el ^{99m}Tc MIBI, y retenerlo de 2 a 4 hs. debido, fundamentalmente, a la presencia de gradientes eléctricos en las mitocondrias de sus células, metabólicamente muy activas, y a su alto flujo sanguíneo. A las 2 hs. la actividad en la glándula tiroides ha desaparecido, y la paratiroides anómala retiene el radiofármaco debido a su lavado más lento. (20)

3.7 Paratiroidectomía

La paratiroidectomía con exploración de cuello bilateral es el tratamiento de elección y curativo para el hiperparatiroidismo sintomático. La finalidad de la exploración es identificar las cuatro glándulas paratiroides normales y anormales. Las glándulas paratiroides normalmente están rodeadas de grasa. Por lo tanto, cualquier lóbulo de grasa en los sitios de predilección para las paratiroides, deben ser inspeccionados. Las paratiroides normales suelen tener un color marrón claro, que ayuda a distinguirlas de la grasa amarilla que las rodea y del tejido habitualmente más rojo de la glándula tiroides. Además las glándulas paratiroides se mueven libremente en relación con la glándula tiroides. Un nódulo tiroideo puede simular una glándula paratiroides, pero éstos están adheridos más firmemente a la tiroides. En el ligamento tirotímico o en el timo, las glándulas paratiroides pueden confundirse con nódulos linfoides, aunque la consistencia de éstos últimos es más firme y son de color rosado. La palpación es otro método valioso para la detección de los tumores paratiroides. La incapacidad de palpar una glándula paratiroidea anormal no excluye la presencia de un tumor, ya que la consistencia de las glándulas puede ser similar al tejido que las rodea. (21)

La cirugía con análisis intraoperatorio de la hormona paratiroidea permite al cirujano confirmar la eliminación de todas las glándulas paratiroides hipersecretantes y predecir el éxito y la cura a largo plazo de hiperparatiroidismo primario. Más del 90% de los cirujanos utiliza la determinación de la hormona paratiroidea intraoperatoria (ioPTH) para guiar la extensión de la paratiroidectomía. (22)

En 1993, Irvin y sus colegas establecieron por primera vez que una disminución del 50% del nivel de ioPTH pre-escisión, predijo de mejor forma la normocalcemia postoperatoria. El "criterio Miami" fue posteriormente refinado para pasar a ser una caída de 50% o más del nivel de PTH más alto, ya sea pre-incisión o pre-escisión, que ocurre después de 10 minutos de que la glándula se extirpa. (22) Si la muestra de PTH a los 10 minutos disminuye lo suficiente, entonces el procedimiento puede ser terminado. Sin embargo, si el criterio no se cumple en este punto, a continuación, el cuello es re explorado y el muestreo de sangre se repite una vez más por cada glándula extirpada adicional, hasta que se elimina todo el tejido anormal, tal como se indica, por una caída correspondiente en la PTH en suero. El criterio Miami predice los niveles de calcio normal o bajo postoperatorios con una precisión de 97% a 98%. (22)

3.8 Hipoparatiroidismo en tiroidectomía

La falla de la paratiroides es la complicación más común luego de una tiroidectomía, pero los factores implicados no están del todo comprendidos. La preservación *in situ* de las paratiroides es esencial para prevenir un hipoparatiroidismo permanente luego de una tiroidectomía total.

Desde los tardíos 1980s, la tiroidectomía total ha ganado popularidad como una opción quirúrgica para el manejo de una variedad de desórdenes tiroideos, incluyendo bocio, malignidad y enfermedad de Graves. Como se esperaba, la hipocalcemia postoperatoria ha emergido como el efecto adverso temprano más común de la tiroidectomía, que progresa eventualmente a hipoparatiroidismo permanente, una complicación que requiere supervisión media y tratamiento de por vida. La edad del paciente, el sexo, el nivel sérico de calcio preoperatorio y la extensión de la cirugía se encuentran dentro de las principales variables relacionadas tradicionalmente a la hipocalcemia postoperatoria. (23)

3.9 Hiperparatiroidismo persistente o recidivante

El hiperparatiroidismo primario por consenso se define como la reaparición de la hipercalcemia más de seis meses después de la paratiroidectomía. Las posibles causas son adenomas ectópicos, adenomas dobles, lesiones multiglandulares asimétricas o metacrónicas o neoplasias malignas. El factor más importante para evitar la recidiva es la experiencia del cirujano, ya que hasta el momento no existen técnicas de localización paratiroidea preoperatoria con una sensibilidad igual o superior a la de un cirujano experimentado. (24)

Ante la sospecha de una recidiva se deben seguir una serie de pasos: (24)

- Confirmar el diagnóstico y descartar una hipercalcemia hipocalciúrica familiar.
- Descartar la enfermedad multiglandular hereditaria.
- Realizar pruebas de imagen (gammagrafía paratiroidea con Tc-MIBI y una TAC o RMN).
- Valorar la necesidad de una re intervención.

En el hiperparatiroidismo secundario la tasa de persistencia o recurrencia se encuentra entre el 12 y 25%. La causa más frecuente es la disección y resección paratiroidea incompleta en la intervención inicial, ya sea porque no se localizan todas las glándulas o existen glándulas ectópicas que no se logran localizar y resecar. (24) Dichos pacientes suelen presentarse con hipercalcemia, elevación de la PTH y persistencia o empeoramiento de los síntomas y el protocolo a seguir es igual al caso del hiperparatiroidismo primario. (24)

3.10 Fluorescencia

La fluorescencia es un fenómeno por el cual algunas sustancias tienen la capacidad de absorber luz a una determinada longitud de onda, por lo general en el rango ultravioleta, y luego emiten luz en una longitud más larga. Dicho de otra manera, absorben fotones con una determinada energía, y liberan fotones con menor energía. Este proceso es casi inmediato, la luz es recibida y vuelta a emitir en millonésimas de segundo, por lo tanto se puede decir que la fluorescencia dura tanto como el estímulo, ya que cuando éste cesa, también cesa el fenómeno de

fluorescencia. Esta es la principal diferencia con el fenómeno de fosforescencia, en el cual la luz absorbida se vuelve a emitir luego de transcurrido un cierto lapso. (25)

Se sabe que los electrones de un átomo o una molécula se hallan orbitando en distintos niveles, y cada nivel tiene determinada energía. Cuando la luz o rayos X llegan a electrones que se hallan en niveles de baja energía, se excitan, y se “cambian” a una órbita de mayor energía. Pero el electrón permanece inestable en esta órbita de mayor energía, y debe regresar a la órbita que le corresponde. Cuando lo hace, libera la energía que absorbió. Esta energía se traduce parcialmente, en las sustancias fluorescentes, en luz emitida. El resto de la energía se traduce en vibraciones de la molécula, es decir, en calor. (25)

3.11 Espectro de la Luz

El espectro electromagnético (EEM) está constituido por un conjunto de ondas de diferentes características, las cuales se clasifican de acuerdo con su longitud (λ), frecuencia y energía. Es importante anotar que las ondas con mayor λ tienen menor frecuencia y viceversa. La radiación de la luz visible es la que nos permite ver los objetos del mundo material que nos rodea. La luz blanca es una mezcla de rayos de luz combinados. Cada uno de estos rayos tiene su propia λ , y es su variación la que permite obtener todos los colores posibles: violeta, azul, verde, amarillo, naranja y rojo. (26).

3.12 Infrarrojo

La radiación infrarroja (IR) es una radiación electromagnética cuya longitud de onda comprende desde los 760-780 nm, limitando con el color rojo en la zona visible del espectro, hasta los 10.000 o 15.000 nm (según autores), limitando con las microondas. La Comisión Internacional de Iluminación o CIE (Commission International d'Éclairage) ha establecido tres bandas en el IR: IRA: 780-1,400nm IRB: 1.400-3.000 nm. e IRC: 3.000-10.000 nm. Sin embargo, a efectos prácticos, según los efectos biológicos, suelen dividirse en IR lejano (entre los 15.000 y 1.500 nm) e IR cercano (entre los 1.500 y los 760 nm). (27)

3.13 Espectroscopía por Infrarrojo cercano

La espectroscopía por infrarrojo cercano o Near Infrared Spectroscopy (NIR) es un tipo de espectroscopía vibracional que emplea la energía que deriva de los fotones en el rango de 2.65×10^{-19} a 7.96×10^{-20} J, que corresponde a las longitudes de onda en el rango de 750 a 2,500 nm. Los métodos analíticos que resultan del uso de la NIR reflejan sus características más significativas, como su rapidez (un minuto o menos), la capacidad de no ser destructiva ni invasiva, alta penetración, aplicación universal y la poca preparación que necesitan las muestras en la que será aplicada, entre otras. Un espectrofotómetro NIR puede ser ensamblado utilizando

componentes ópticos empleados para instrumentos que ven rayos UV visibles. Esto le brinda a dichos instrumentos un costo más bajo. (28)

3.14 Aplicaciones en Medicina de la espectroscopía por infrarrojo cercano

Los ojos y el cerebro humano están restringidos a percibir un estrecho rango del espectro electromagnético al que denominamos espectro visible de la luz, dicho espectro se localiza entre los 400 y los 700 nm. (29) Por esta razón debemos valernos de instrumentos que nos permitan ampliar el rango del espectro visible para detectar características que de otra manera serían invisibles a los ojos. Existen solo cinco modalidades de imagen utilizadas rutinariamente en la atención a la salud: rayos x (simple, fluoroscopia y tomografía computada [CT]), imagen por resonancia magnética (MRI), ultrasonido (US), tomografía por emisión de fotón único (SPECT) y tomografía por emisión de positrones (PET). (30)

Actualmente, el ultrasonido y la fluoroscopia son las dos técnicas de imagen más utilizadas durante los actos quirúrgicos. Sin embargo, el ultrasonido requiere el contacto directo con el tejido y solo ve una pequeña parte del campo quirúrgico, denominado “surgical field of view (FOV)”, y la fluoroscopia por rayos X expone tanto a pacientes como a miembros del equipo de salud a radiaciones ionizantes. (31)

La necesidad clínica-quirúrgica actual, deriva del hecho de que la luz visible no puede penetrar los diferentes tejidos, incluida la sangre, más allá de unos pocos cientos de micrones, debido sobre todo a la atenuación de los fotones por la absorbancia y la dispersión. Por lo tanto, cuando un cirujano observa el campo quirúrgico, solo puede realmente ver lo superficial. Este hecho tiene grandes implicancias a nivel sanitario. Por ejemplo, con las técnicas quirúrgicas actuales, cerca del 25% de los tumores mamarios son resecados de forma incompleta, y la recurrencia local oscila entre el 12 y el 28%. (32) El daño a estructuras nerviosas durante cirugías de diferentes índoles, resultando en neuralgias y pérdida de funciones ocurre en 20.000 a 60.000 pacientes en los Estados Unidos solamente. (30) La capacidad de ver estructuras que necesitan ser resecadas como es el caso de las células malignas, o de ver estructuras que deben conservarse o evitarse durante la cirugía es todavía una necesidad imperante que no ha sido alcanzada.

Una de las tecnologías que posee el potencial para guiar a los cirujanos en tiempo real es la fluorescencia basada en el infrarrojo cercano. Como pocas estructuras en el cuerpo poseen la capacidad de autofluorescer, esto permitiría que con la ayuda de moléculas fluorescentes (fluoróforos) que absorben luz de una dada longitud de onda y emiten luz de otra longitud de onda, más larga, se pudieran visualizar diversas estructuras. Si un fluoróforo de este tipo es

iluminado a su longitud de onda absorbente y visualizado a través de un filtro que sólo permita pasar la luz de longitud de onda igual a la de la luz emitida, el componente aparece brillante sobre un fondo oscuro. La intensidad y el color de la luz es una propiedad característica de la molécula fluorescente utilizada. (33) Dado que la luz cercana al infrarrojo es invisible al ojo humano se necesitan sistemas de imagen especiales para excitar al fluoróforo o al tejido autofluorescente durante la cirugía, y así recolectar los fotones emitidos, permitiendo así la visualización.

3.15 Procedimientos quirúrgicos que se beneficiarían de la fluorescencia NIR en tiempo real

La fluorescencia NIR tiene el potencial de dirigirse a una gran variedad de aplicaciones clínicas, tanto encontrando estructuras que necesitan ser resecadas (ganglios centinelas, células malignas, calcificaciones, etc.) como estructuras que deben ser conservadas durante la cirugía, y así evitar patologías subsecuentes (estructuras nerviosas y vasculares, linfáticos, glándulas, etc.). Se presentan aquí una pequeña lista de ejemplos (30)

- Detección de ganglios centinela (se emplea un fluoróforo NIR como la indocianina verde)
- Identificación de uréteres y calcificaciones urinarias
- Identificación de conductos biliares extrahepáticos
- Identificación de tejido maligno mamario y calcificaciones debido al cáncer en la mama
- Detección de márgenes tumorales
- Cirugía de reconstrucción mamaria luego de la mastectomía
- Imagenología cardiovascular y vascular
- Identificación de nervios y discos intervertebrales
- Detección de glándulas paratiroides en paratiroidectomías y tiroidectomías.

4 Objetivos

4.1 Objetivo General

Evaluar la propiedad de autofluorescencia de las glándulas paratiroides.

4.2 Objetivos Específicos

- a) Diseñar y desarrollar un sistema para la detección de autofluorescencia de las glándulas paratiroides.

- b) Evaluar el sistema desarrollado en el tejido paratiroideo *ex vivo* y compararlo con tejidos circundantes (tejido adiposo, muscular estriado, tiroideo).
- c) Optimizar los parámetros reportados, ajustando los filtros y luces utilizadas para una mejor visualización de la fluorescencia emitida por los tejidos.
- d) Comunicar los resultados obtenidos.

5 Métodos

5.1 Tipo de estudio

Se realizó un estudio de tipo observacional.

5.2 Universo de estudio

Se incluyeron los pacientes que se sometieron a cirugía de las glándulas paratiroides en el Hospital de Clínicas, en el periodo comprendido entre julio y octubre del 2016.

5.3 Selección y tamaño de la muestra

La muestra se seleccionó por conveniencia de acuerdo a la disponibilidad del equipo quirúrgico y al número de procedimientos de las glándulas paratiroides.

Criterios de Inclusión: pacientes que tuvieron indicación de realizarse cirugía paratiroidea siendo mayores de 18 años y que aceptaron y firmaron el consentimiento informado (ver Anexo).

Criterios de Exclusión: mujeres embarazadas, menores de 18 años y/o que rechazaron participar del estudio.

5.4 Procedimientos que garantizaron los aspectos éticos

Se informó al paciente sobre el estudio a realizarse cumpliendo con el proceso de consentimiento informado al momento de la admisión al centro hospitalario. Se evacuaron dudas del paciente sobre el estudio y se explicó que el procedimiento no presentaba riesgos para él ni para la muestra, que los beneficios serían a futuro para la sociedad, y que no recibiría beneficios económicos a cambio pudiendo decidir no participar del mismo sin ningún tipo de repercusión sobre su atención sanitaria.

Se presentó el protocolo al Comité de Ética de la Investigación de Facultad de Medicina, recibiendo su aprobación el 30 de Junio de 2016. A partir de este momento se comenzó con la recolección de datos.

Los integrantes del equipo de investigación que concurren a la cirugía se localizaron en una sala anexa al block y cumplieron con las normas de ingreso al mismo.

Se contó con la autorización de la Dirección del Hospital de Clínicas y el Equipo Quirúrgico, quienes autorizaron a los estudiantes a participar como observadores del acto.

El equipo quirúrgico identificó el tejido y posteriormente se procedió a la observación del mismo en el sistema desarrollado. Nuestra evaluación no interfirió con la decisión del cirujano, el procedimiento quirúrgico ni con los tiempos de la intervención.

5.5 Recolección de datos

El equipo de investigación concurre al block quirúrgico del Hospital de Clínicas en oportunidad de una paratiroidectomía, con la tecnología diseñada. Una vez allí, se ubicó en la antesala del block quirúrgico y se esperó a que el cirujano reseca las glándulas paratiroides para observarlas con el dispositivo. Se observó también tejido tiroideo para comparar los resultados obtenidos. Posteriormente se envió la muestra a Anatomía Patológica, que realizó un análisis extemporáneo para confirmar la naturaleza de los tejidos. La observación con la cámara no modificó de forma alguna la muestra para estudios de anatomía patológica posteriores.

5.6 Instrumentos utilizados para la recolección de datos

Para detectar la autofluorescencia de las paratiroides se usó un dispositivo basado en una caja opaca a la luz, con una bandeja extraíble que permitió introducir las muestras a analizar. A dicha caja se conectó un iluminador led con longitud de onda coincidente con el espectro de excitación de la autofluorescencia de las paratiroides (780nm), con lentes y filtros ópticos adecuados (769+/- 20nm). El iluminador es alimentado con una fuente de corriente que permite regular la intensidad de la luz emitida. También está conectada al sistema una cámara infrarroja equipada con lentes y filtros ópticos (*band pass* de 832nm) que permiten detectar la luz en el espectro de emisión de la autofluorescencia. Dicha cámara está conectada a una computadora que permitió visualizar imágenes y almacenarlas para su posterior uso (Fig. 1). El espectrómetro (que mide la longitud de onda) y el fotómetro (que mide la potencia) no se utilizaron en ésta investigación por encontrarse en fase experimental.

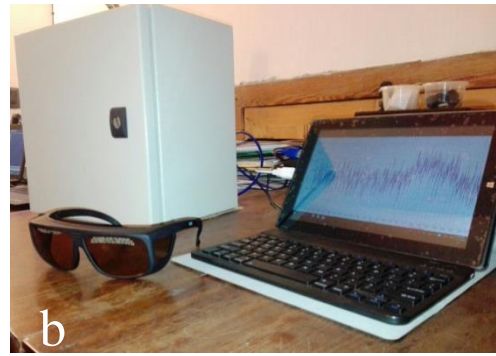
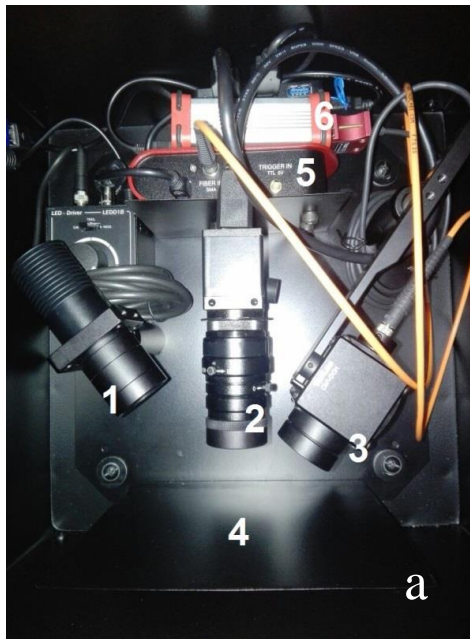


Figura 1. a. Dispositivo para la observación de muestras. 1. Iluminador LED IR. 2. Cámara monocromática con lente 8mm. 3. Cubo con sensores de espectrómetro y fotómetro. 4. Soporte para la muestra u objetivo del sistema. 5. Espectrómetro 6. Fotómetro. b. Dispositivo armado, vista exterior.

5.7 Métodos para el control de calidad de los datos

El sistema desarrollado fue previamente puesto a prueba en el laboratorio estudiando la autofluorescencia de paratiroides y tiroides porcinas, tejido adquirido en un frigorífico.

En block se observaron los tejidos con el sistema desarrollado siendo la anatomía patológica extemporánea, actualmente el *gold standard* para la identificación de tejido paratiroideo.

6 Resultados

En primera instancia se probó el dispositivo en una muestra de tejido porcino. Las muestras obtenidas fueron identificadas y clasificadas según su macroscopía como: tejido muscular esquelético, tejido adiposo, tejido tiroideo y paratiroideo (Tabla 1). No se contó con anatomía patológica que confirmara la naturaleza de la muestra.

Tabla 1: Muestra de tejido porcino:

Muestra de tejido	Apariencia Macroscópica	<u>Autofluorescencia</u>
A	Grasa	No
B	Músculo	No
C	Paratiroides	Si
D	Tiroides	No

En esta instancia se observó autofluorescencia en la muestra correspondiente a glándulas paratiroides (Fig. 2). En los demás tejidos no se evidenció dicha propiedad.

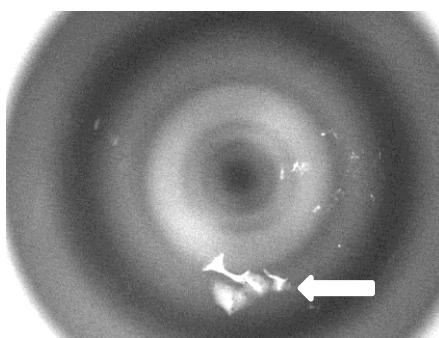


Figura 2. Muestra de paratiroides porcinas (flecha).

En el periodo julio- octubre 2016 en el Hospital de Clínicas, el equipo fue notificado y pudo asistir a una sola paratiroidectomía. Se desconoce el número total de procedimientos realizados en este período. Se trató de un paciente de sexo masculino, de 49 años de edad, portador de una enfermedad renal crónica, que como consecuencia desarrolló hiperparatiroidismo secundario. (Tabla 2). El paciente se encuentra en hemodiálisis desde 2004 y actualmente presenta dolores óseos importantes con miopatía proximal de dos años de evolución, actualmente invalidante. De la paraclínica se destaca una calcemia de 9.8 mg/dl, fosfatemia promedio de 7.5 mg%, fosfatasa alcalina de 440 UI y PTH intacta de 1883 pg/ml.

Tabla 2: Recolección de datos del paciente

Edad	Sexo	Diagnostico preoperatorio	Tipo de cirugía	N° muestras
49	Masculino	HPT secundario a ERC	Paratiroidectomía (resección 7/8)	5

Previo a la cirugía, el paciente fue sometido a distintos métodos diagnósticos imagenológicos: ecografía de tiroides con doppler color de septiembre del 2016, que evidenció la glándula tiroides aumentada de tamaño y nódulos en ambos lóbulos. En la topografía de las glándulas paratiroides superior e inferior derecha se observan imágenes hipocogénicas de 10x8mm y 14x10mm. En la topografía de glándula inferior izquierda, se vio una imagen similar de 16x13mm. En Junio del 2016 se realizó una punción citológica ecoguiada. Se puncionó nódulo tiroideo izquierdo que resultó ser coloide (categoría II Bethesda).

Se realizó el centellograma paratiroideo con SPECT – CT (99m Tc-MIBI) en noviembre del 2015 que evidenció hiperplasia de las paratiroides inferiores y la superior derecha (Fig. 3)

Las radiografías del paciente muestran una osteopenia difusa con resorción ósea cortical en manos, cráneo, pelvis, rodilla, articulación tibio-tarsiana y acromio-clavicular.

En Octubre del 2016 se realizó una tiroidectomía parcial extirpando el lóbulo derecho de la glándula. Posteriormente se intentó realizar una paratiroidectomía 7/8 no pudiéndose identificar las glándulas paratiroides superiores. Se obtuvieron 5 muestras de tejido identificados por parte de los cirujanos como glándulas paratiroides (Tabla 3). Se colocaron las mismas en el dispositivo y del total de las muestras se evidenció autofluorescencia en 2 de ellas. (Fig. 4)

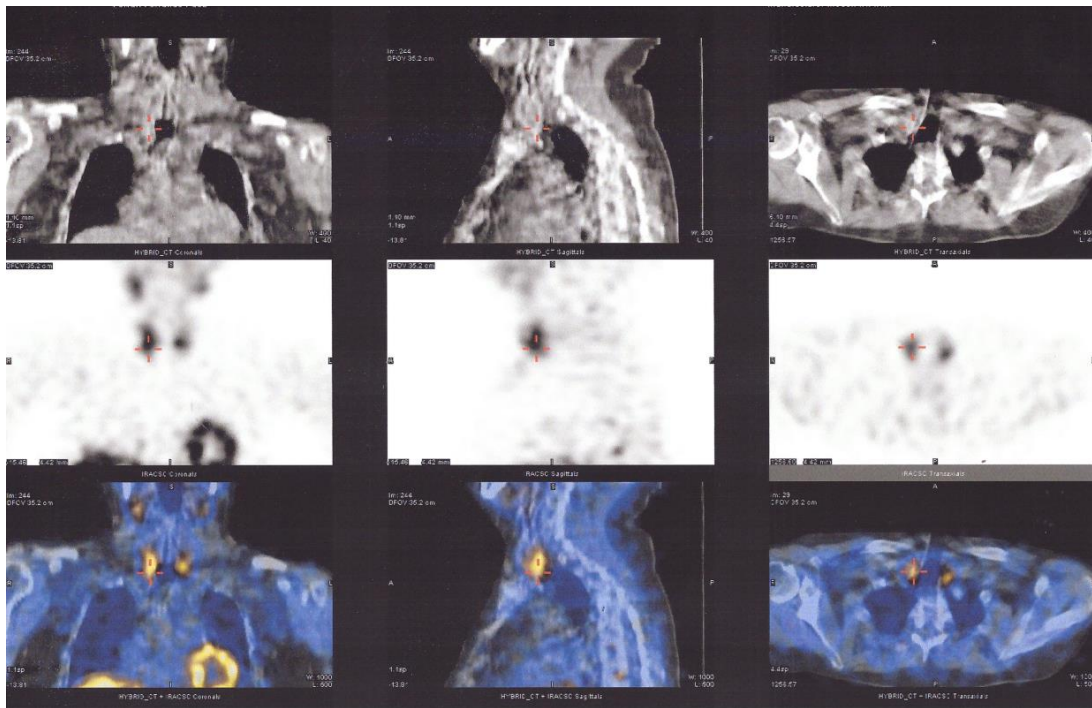


Figura 3. Centellograma paratiroideo con SPECT – CT (99m Tc-MIBI)

Tabla 3: Muestras del paciente y correlación con anatomía patológica.

Nº muestra	Medidas (milímetros)	Peso (gramos)	Observación autofluorescencia	Extemporánea
1	6x5x4	0.2	No	Paratiroides
2	10x5x5	0.3	No	Paratiroides
3	11x6x5	0.6	No	Paratiroides
4	15x5x4	0.3	Si	Tiroides
5	20x15x10	2.7	Si	Paratiroides

Luego de observadas, se enviaron las muestras al departamento de anatomía patológica para su análisis extemporáneo. Los resultados de la anatomía patológica correspondientes a cada muestra se exponen en la Tabla 3.

La primer muestra fue confirmada en la extemporánea como paratiroides; en esta no se observó autofluorescencia. Sucedió lo mismo con la segunda y tercera muestra. En la cuarta se evidenció autofluorescencia y fue confirmada en la extemporánea como tejido tiroideo. En la quinta muestra también se evidencio esta propiedad y la anatomía patológica confirmó que se trataba de tejido paratiroideo (Fig. 5).

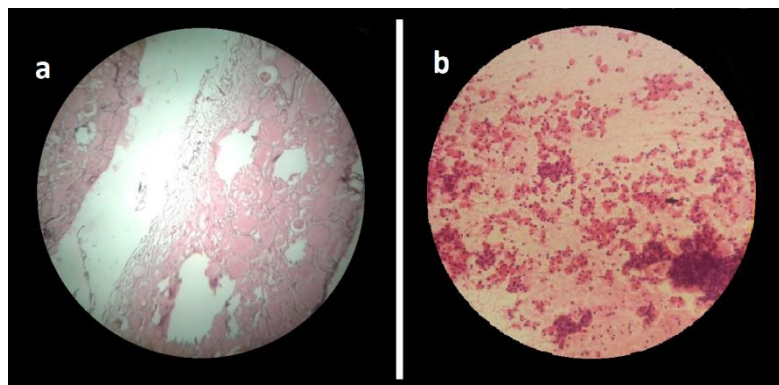
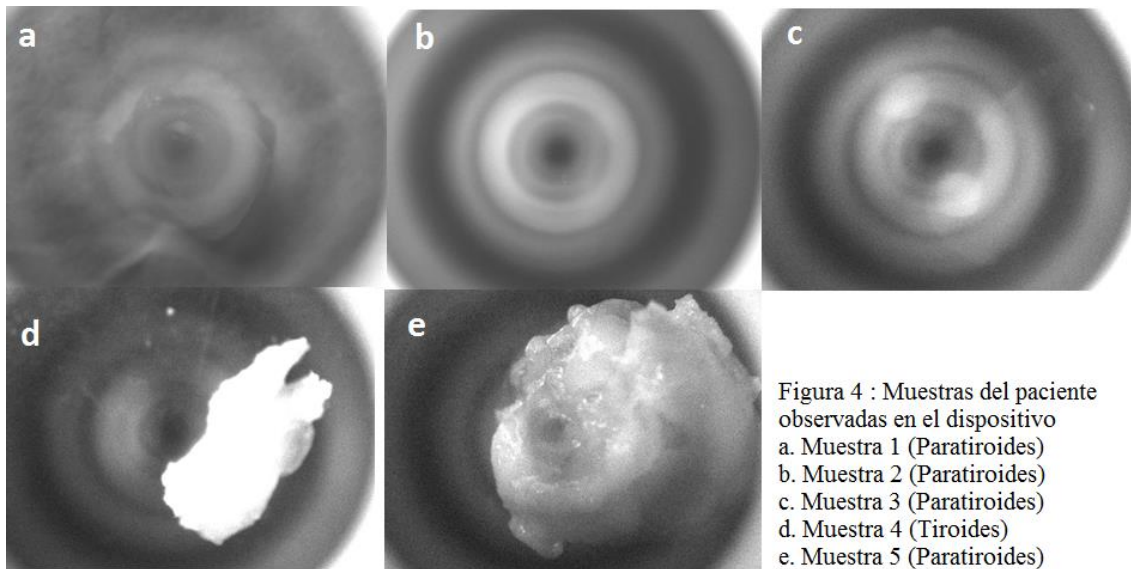


Figura 5: Microscopía de dos de las muestras obtenidas.
a. Muestra 4 (Tejido Tiroideo) b. Muestra 5 (Tejido Paratiroideo)

7 Discusión y limitaciones

En el presente trabajo se diseñó y desarrolló un instrumento para la detección *ex vivo* de las glándulas paratiroides en el intraoperatorio. Se utilizó un dispositivo que se basó en la propiedad de autofluorescer de estas glándulas, al ser expuestas a luz dentro del espectro del NIR. Se trabajó en la evaluación de tejido paratiroideo porcino. Esto nos permitió identificar la autofluorescencia de tejido paratiroideo y la ausencia de fluorescencia del tejido graso, músculo y tiroides. Este hecho fue relevante ya que se logró identificar autofluorescencia con el equipo desarrollado. Posteriormente se procedió a evaluar la autofluorescencia en las paratiroides del ser humano, de las muestras de tejido que el cirujano removió considerando que correspondían a tejido paratiroideo. El paciente era portador de un hiperparatiroidismo secundario. Se contrastó

con el informe del análisis extemporáneo de anatomía patológica, actualmente considerado el *gold standard*.

De las cinco muestras obtenidas solo fue posible observar fluorescencia en 2 de ellas, correspondiendo una de ellas a tejido paratiroideo y la otra a tejido tiroideo. Se considera que la autofluorescencia que se visualizó en el tejido tiroideo podría deberse a la patología nodular del paciente (2). Es importante destacar que no contamos con el informe definitivo anatomopatológico. No se pudo observar autofluorescencia en las tres paratiroides restantes, no encontrándose una clara explicación a este resultado. Posiblemente se trate de una combinación de factores que expliquen este hecho e involucren tanto a la patología del paciente, como el desarrollo del dispositivo y su sensibilidad.

Una de las limitaciones del trabajo fue el bajo número de procedimientos en el centro hospitalario seleccionado para llevar a cabo la investigación. El equipo asistió a una sola paratiroidectomía, por lo que se pudo evaluar un solo caso. Como consecuencia, no se pudo realizar comparaciones entre patologías, y no se pudieron obtener muestras de otros tejidos, para realizar comparaciones entre ellos o cualquier otro tipo de análisis estadístico, como se pretendía en un principio. El paciente padecía una hiperplasia paratiroidea, secundaria a su enfermedad renal crónica, esto pudo haber condicionado la presentación de autofluorescencia. La autofluorescencia de cada muestra fue valorada subjetivamente, teniendo en cuenta si se visualizaba en el dispositivo o no. En un futuro sería bueno podrían utilizar el espectrómetro y el fotómetro del dispositivo para obtener medidas de intensidad y potencia, comparables de forma objetiva y más precisa.

8 Conclusiones

Las imágenes de fluorescencia en el infrarrojo cercano permiten evaluar la autofluorescencia de las paratiroides en tiempo real, durante el intraoperatorio sin el empleo de fluoróforos. El instrumento diseñado y desarrollado en esta instancia permite la detección de autofluorescencia de tejidos.

La técnica desarrollada es capaz de detectar autofluorescencia en las glándulas paratiroides porcinas, (que fueron identificadas macroscópicamente) mientras que no se observó dicha propiedad en los tejidos muscular, adiposo ni tiroideo de dicho animal.

También se pudo detectar autofluorescencia en las glándulas paratiroides del ser humano. De cinco muestras extraídas en un paciente, dos de ellas fueron capaces de autofluorescer. Una fue

identificada como tejido paratiroideo y la otra como tejido tiroideo, según anatomía patológica extemporánea.

El dispositivo fue elaborado con materiales accesibles y se logró montar en un periodo de tiempo breve previo a la cirugía (5 minutos). Los resultados preliminares obtenidos son alentadores siendo un procedimiento fácilmente reproducible, que no altera las muestras. Es importante destacar que es la primera vez que se realiza un procedimiento de estas características en nuestro país.

9 Perspectivas

A partir de esta investigación surgen muchas interrogantes, que quedarán planteadas para responder en un futuro. Sería interesante poder contar con un mayor número de casos para realizar comparaciones estadísticas. Las mismas se podrían realizar entre las características de la autofluorescencia en las diferentes patologías y también entre tejidos diferentes de un mismo paciente. Se podría ajustar el dispositivo, para transformarlo en un dispositivo más sensible, portátil, fácil de emplear, para que la detección se logre hacer de forma intraoperatoria, *in vivo*, en tiempo real, y así guiar a los cirujanos, tanto en la paratiroidectomías, como en las tiroidectomías. Finalizando nuestro trabajo de investigación se publica una investigación realizada en la Universidad de Kosin, en Busan, Corea del Sur, en Setiembre del 2016 en donde se prueba esta técnica in vivo, con buenos resultados. (34) También se divulga otro estudio similar realizado en el Hospital de Clínicas “José de San Martín” de la Universidad de Buenos Aires, Argentina, a finales del mes de Agosto, con resultados similares.(35). De todas maneras, el desarrollo de este tipo de técnicas es nuevo, en especial en nuestro medio, y todavía queda mucho por hacer.

10 Recursos

10.1 Recursos humanos

Ing. Ricardo Vila, Br. Dario Sansoni. Orientadores del proyecto: Prof. Agdo Sebastián Laza y Prof. Adj. Dr. Juan Pablo Gambini. Equipo de investigación conformado por estudiantes del ciclo de Metodología Científica II.

10.2 Recursos materiales

La tecnología descrita en la sección “Instrumentos a utilizados para la recolección de datos” fue obtenida por proyectos de Investigación ANII-UK y proyecto F-ANII PPI-X-2013-1-12608. Además se utilizó la infraestructura del Hospital de Clínicas y de la Cátedra de Anatomía de la Facultad de Medicina, UdelaR.

11 Cronograma

	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Elaboración de Protocolo									
Evaluación por el comité de Ética.									
Observación y Recolección de datos									
Análisis de Datos y Conclusiones									
Redacción de Trabajo Final									
Realización de Poster									
Presentación de Poster y trabajo final									

12 Presupuesto

Todos los participantes del equipo son honorarios, y la tecnología fue provista por colaboradores del equipo de investigación. No se realizaron gastos económicos de ninguna índole por lo cual no se adjunta presupuesto.

13 Agradecimientos

Agradecemos al equipo de la Clínica Quirúrgica “F” del Hospital de Clínicas, especialmente al Prof. Agdo. Dr. Rubens Neirotti por sus sugerencias, al Prof. Adj. Dr. Patrick Lyford-Pike y al Asist. Dr. Juan Cossa por su disponibilidad.

También agradecemos al Depto. de Anatomía Patológica del Hospital de Clínicas por su colaboración y a la Prof. Adj. Dra. María Elena Vergara por su cooperación y sugerencias.

14 Referencias Bibliográficas

1. Paras C, Keller M, White L, Phay J, Mahadevan-Jansen A. Near-infrared autofluorescence for the detection of parathyroid glands. *J Biomed Opt* [Internet]. 2011;16(6):67012. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21721833>
2. McWade MA, Paras C, White LM, Phay JE, Solórzano CC, Broome JT, et al. Label-free intraoperative parathyroid localization with near-infrared autofluorescence imaging. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. Endocrine Society; 2014 Dec [cited 2016 May 18];99(12):4574–80. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84916620177&partnerID=tZOtx3y1>
3. Tummers QRJG, Schepers A, Hamming JF, Kievit J, Frangioni J V, van de Velde CJH, et al. Intraoperative guidance in parathyroid surgery using near-infrared fluorescence imaging and low-dose Methylene Blue. *Surgery* [Internet]. 2015 Nov [cited 2016 Apr 28];158(5):1323–30. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039606015002226>
4. McWade MA, Sanders ME, Broome JT, Solórzano CC, Mahadevan-Jansen A. Establishing the clinical utility of autofluorescence spectroscopy for parathyroid detection. In: *Surgery (United States)*. 2016. p. 193–202.
5. Guarneri C, Vanerio P, Lyford-Pike P. Técnica con indocianina verde (ICG) como predictor de la falla de sutura: inicio de la experiencia en nuestro medio. *Rev Chil Cirugía* [Internet]. Sociedad de Cirujanos de Chile; 2016 May [cited 2016 Oct 7];68(3):214–8. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-40262016000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
6. Behrns KE. *Surgical Anatomy and Technique: A Pocket Manual*. Mayo Clin Proc [Internet]. Elsevier; 2016 Oct 7;70(10):1022. Available from: <http://dx.doi.org/10.4065/70.10.1022>
7. Lew JI, Solórzano CC. Surgical Management of Primary Hyperparathyroidism: State of the Art. *Surg Clin North Am*. 2009;89(5):1205–25.
8. Meruane M, Smok C, Rojas M. Desarrollo de Cara y Cuello en Vertebrados. *Int J Morphol* [Internet]. Sociedad Chilena de Anatomía; 2012 Dec [cited 2016 Oct 7];30(4):1373–88. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022012000400020&lng=es&nrm=iso&tlng=en
9. Ferraina P, Oria A. *Cirugía de Michans*. 5ª ed. Editorial El Ateneo; 2002. 244 -245 p.
10. Parrilla Paricio P, Landa Garcia JI. *Manual de la Asociación Española de Cirujanos*. 2ª ed. Panamericana; 2010. 851 p.
11. Townsend CM, Beauchamp D, Evers M, Mattox K. *Sabiston Tratado de Cirugía - Fundamentos Biologicos de la Practica Quirurgica Moderna*. 19ª ed. ELSEVIER España S.A.,

editor. 2013. 924 - 943 p.

12. Rozman C, Farreras. Farreras-Rozman: Medicina Interna. 17^a ed. S.A. ELSEVIER España, editor. 2014. 211-215 p.

13. Parrilla Paricio P, Landa García JI. Manual de la Asociación Española de Cirujanos. Segunda Ed. PANAMERICANA; 2010. 859 - 865 p.

14. Yuen NK, Ananthkrishnan S, Campbell MJ. Hyperparathyroidism of Renal Disease. Perm J [Internet]. 2016;20(3):78–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27479950>

15. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. Am J Kidney Dis [Internet]. 2003;42(4 Suppl 3):S1–201. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0272638603009053>

16. Prats E, Razola P, Tardín L, Andrés A, García López F, Abós M, et al. Gammagrafía de paratiroides y cirugía radiodirigida en el hiperparatiroidismo primario. Rev Esp Med Nucl Imagen Mol [Internet]. Elsevier; [cited 2016 Oct 8];310–28. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-espanola-medicina-nuclear-e-125-articulo-gammagrafia-paratiroides-cirurgia-radiodirigida-el-13109149>

17. Mohebati A, Shaha AR. Imaging techniques in parathyroid surgery for primary hyperparathyroidism. Am J Otolaryngol. 2012;33(4):457–68.

18. Gómez Palacios Á, Gómez Zábala J, Teresa Gutiérrez M, Expósito A, Barrios B, Zorraquino Á, et al. Utilidad del MIBI, la ecografía y la tomografía computarizada en el diagnóstico topográfico preoperatorio del hiperparatiroidismo. Cirugía Española [Internet]. Elsevier; 2006 Dec [cited 2016 Oct 3];80(6):378–84. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-cirurgia-espanola-36-articulo-utilidad-del-mibi-ecografia-tomografia-13095424>

19. Fuentes Valdés E, Escarpanter González JC, López Díaz A, Alfonso Trujillo Y, Infante Amorós A, Domínguez Álvarez CA, et al. Cirugía radioguiada para la extirpación de un quiste paratiroideo gigante con hiperparatiroidismo. Rev Cuba Endocrinol [Internet]. 1999, Editorial Ciencias Médicas; [cited 2016 Oct 3];20(1). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532009000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es

20. Cervantes-castro AJ, Rojas-reyna AG, Manzano-alba F. Hiperparatiroidismo primario . Experiencia inicial con. Cir Cir [Internet]. 2002;70(3). Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc-2002/cc023e.pdf>

21. Oertli D, Udelsman R. Surgery of the thyroid and parathyroid glands. Springer; 2012.

22. Patel KN, Caso R. Intraoperative Parathyroid Hormone Monitoring. Surg Oncol Clin NA [Internet]. Elsevier Inc; 2016;25(1):91–101. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.soc.2015.08.005>

23. Lorente-Poch L, Sancho JJ, Ruiz S, Sitges-Serra A. Importance of in situ preservation of parathyroid glands during total thyroidectomy. *Br J Surg* [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2015 Mar;102(4):359–67. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25605285>
24. Parrilla Paricio P, Landa García J. *Manual de la Asociación Española de Cirujanos*. 2^a ed. Panamericana; 2010. 845 - 857 p.
25. González, M. Fluorescencia: la guía de química [online]. 2010 nov 12. Disponible en: <http://quimica.laguia2000.com/conceptos-basicos/fluorescencia>.
26. Suaste Gómez E, Rodríguez Guzmán D. Acción del espectro electromagnético visible como elemento de diagnóstico médico. *Cinvestav* [Internet]. 2007;26(1):44–54. Available from: http://www.cinvestav.mx/Portals/0/SiteDocs/Sec_Difusion/RevistaCinvestav/enero-marzo2007/accion.pdf
27. Sendra Portelo F, Martínez Morillo M, Pastor Vega JM. *Manual de Medicina Física*. Harcourt Brace; 2006. 244 - 253 p.
28. Pasquini C. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *J Braz Chem Soc* [Internet]. Brazilian Chemical Society; 2003 Apr [cited 2016 Oct 8];14(2):198–219. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532003000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=en
29. Burrington DJ. Advanced surgery : NIR fluorescence guidance arrives. *Laser Focus World*. 2015;(November):63–8.
30. Gioux S, Choi HS, Frangioni J V. *Image-Guided Surgery using Invisible Near-Infrared Light: Fundamentals of Clinical Translation*. 2010; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3105445/>
31. Troyan SL, Kianzad V, Gibbs-Strauss SL, Gioux S, Matsui A, Oketokoun R, et al. The FLARE((TM)) Intraoperative Near-Infrared Fluorescence Imaging System: A First-in-Human Clinical Trial in Breast Cancer Sentinel Lymph Node Mapping. *Ann Surg Oncol*. 2009;16(10):2943–52.
32. Besana-Ciani I, Greenall MJ. The importance of margins status after breast conservative surgery and radiotherapy in node positive patients: a follow-up of 10-15 years. *Int Semin Surg Oncol*. 2008;5:13.
33. Pawley JB. *Handbook of Biological Confocal Microscopy*. Second. Pawley JB, editor. Wisconsin: Springer; 1995. 267-277 p.
34. Kim SW, Song SH, Lee HS, Noh WJ, Oak C, Ahn Y-C, et al. Intraoperative Real-Time Localization of Normal Parathyroid Glands with Autofluorescence Imaging. *J Clin Endocrinol*

Metab. 2016 Sep;jc20162558.

35. Falco J, Dip F, Quadri P, de la Fuente M, Rosenthal R. Cutting Edge in Thyroid Surgery: Autofluorescence of Parathyroid Glands. *J Am Coll Surg. United States*; 2016 Aug;223(2):374–80.

15 Anexo

Anexo: Formulario de Consentimiento Informado entregado al paciente, aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de Facultad de Medicina



FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DESARROLLO DE TÉCNICA DE FLUORESCENCIA PARA OBSERVACIÓN DE GLÁNDULAS PARATIROIDES AISLADAS, EN EL HOSPITAL DE CLINICAS DE MONTEVIDEO EN EL AÑO 2016.

Investigador responsable: Dr. Sebastián Laza Tel: 095054349
E-mail: sebastianlaza@gmail.com
Equipo conformado por: Br. Cecilia Barrios Tel: 098870676
E-mail: ceci_1311@hotmail.com
Br. Matías Campos
Br. Johanna Lipiejko
Br. Florencia Torres
Br. Lucía Tortosa

Estamos invitándolo a usted a participar de esta investigación, cuyo objetivo es evaluar la propiedad de autofluorescencia de las glándulas paratiroides. La investigación se realizará en pacientes que tengan coordinada de cirugía de paratiroides en Julio-Setiembre de 2016 en el Hospital de Clínicas.

Observaremos en el block quirúrgico las glándulas paratiroides, una vez que sean extraídas. Las mismas se encuentran en el cuello, son pequeñas y no son fáciles de identificar por parte de los cirujanos. Para poder identificarlas mejor, diseñamos un dispositivo, similar a una cámara que nos permita verlas con mayor claridad una vez que sean extraídas. Esto en un futuro podrá ayudar al cirujano a identificar las glándulas paratiroides durante el acto quirúrgico. El dispositivo no tendrá contacto con su cuerpo. No es un procedimiento invasivo, solo se iluminará la muestra con una luz y se observará a través de una cámara. La observación no modificará la muestra para estudios de anatomía patológica y no se utilizarán para otra finalidad. Ingresaremos como máximo 3 personas del equipo de investigación a la cirugía, únicamente si el equipo quirúrgico lo considera pertinente. Se tomarán todas las precauciones que se requieran en cuanto a condiciones de asepsia y esterilidad (vestimenta, lavado de manos, etc.) para prevenir contaminación. Nuestra intervención no va a afectar el desarrollo de la operación en cuanto a decisiones que el equipo quirúrgico pueda tomar. El tiempo

aproximado de nuestra participación será de 5 minutos. No se tomarán fotografías que puedan identificarle. Este procedimiento no tendrá riesgos para su integridad física.

Con su participación no obtendrá un beneficio personal al momento de la operación pero si ayudará a beneficiar en un futuro a la sociedad en su conjunto y particularmente a pacientes que tengan su misma patología. Con su participación no obtendrá ningún derecho a remuneración ni compensación económica.

Los únicos datos personales que se obtendrán de usted serán edad, sexo y patología que presenta. Sus datos serán tratados con confidencialidad y serán usados solamente con fines académicos. Los resultados podrán ser publicados anónimamente en publicaciones científicas. En caso de así desearlo podrá comunicarse con nosotros para obtener los resultados derivados de la investigación. Si en cualquier momento usted desea finalizar su participación, sus datos serán retirados inmediatamente.

Puede negarse a participar en cualquier momento sin que su decisión tenga consecuencias en la calidad de su atención médica.

En caso de tener cualquier tipo de duda, por favor, diríjase al equipo de salud o contáctese con nosotros.

Montevideo,..... de..... de 2016.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

DESARROLLO DE TÉCNICA DE FLUORESCENCIA PARA OBSERVACIÓN DE GLÁNDULAS PARATIROIDES AISLADAS, EN EL HOSPITAL DE CLÍNICAS DE MONTEVIDEO EN EL AÑO 2016.

Quien suscribe,, C.I:

.....comunico que he comprendido la información que se expone en éste consentimiento. Se me ha explicado el procedimiento y los posibles riesgos y beneficios implicados. Así mismo, se me han respondido las dudas e inquietudes surgidas y se me ha brindado toda la información deseada.

Entiendo que conservo el derecho a retirarme del estudio en cualquier momento, siendo mi participación voluntaria y que en caso de no participar, esto no alterará la atención que recibiré por parte del equipo de salud.

Autorizo a que mi historia clínica pueda ser consultada por el equipo de la investigación, con la finalidad de extraer datos personales (edad y sexo) y de mi enfermedad, manteniendo siempre la confidencialidad de los datos e información obtenida.

Estoy de acuerdo en participar en el presente estudio.

.....
Firma

.....
Cédula de Identidad

Declaración del investigador

Yo certifico que le he explicado a ésta persona, la naturaleza y el objetivo de la investigación, y que ésta persona entiende en qué consiste su participación, los posibles riesgos y beneficios implicados.

Todas las preguntas que esta persona ha hecho le han sido contestadas en forma adecuada. Así mismo, he leído y explicado adecuadamente las partes del consentimiento informado.

.....
Firma

.....
Cédula de Identidad