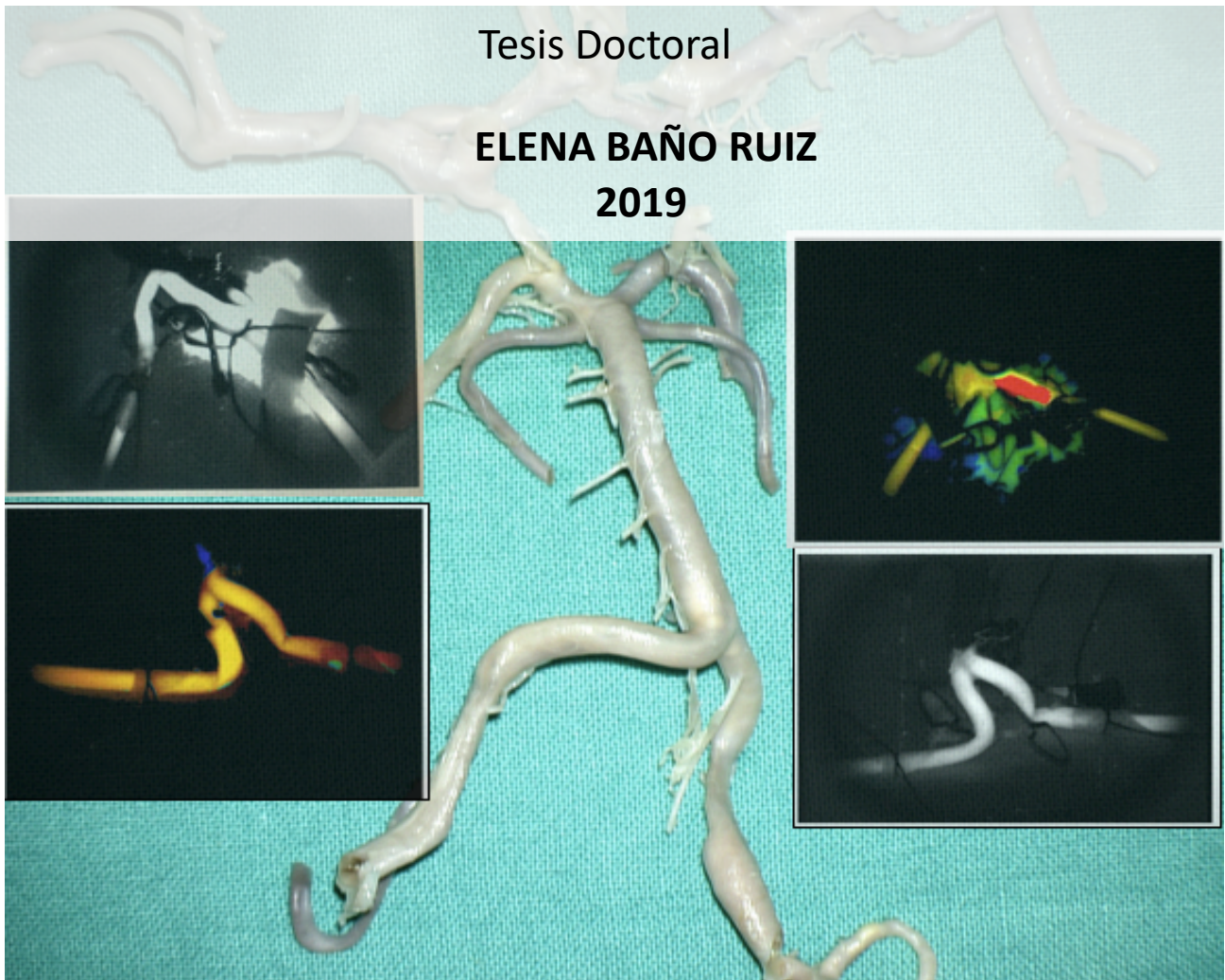


**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE CIRUGIA**



**DESARROLLO DE UN MODELO EXPERIMENTAL  
PARA DETERMINAR LA FIABILIDAD DE LA  
VÍDEO-ANGIOGRAFÍA INTRAOPERATORIA CON VERDE DE INDOCIANINA  
EN LA DETECCIÓN DE UNA  
DISMINUCIÓN DEL FLUJO CEREBRAL**







**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE CIRUGIA**



**DESARROLLO DE UN MODELO EXPERIMENTAL  
PARA DETERMINAR LA FIABILIDAD DE LA  
VÍDEO-ANGIOGRAFÍA INTRAOPERATORIA CON VERDE DE  
INDOCIANINA  
EN LA DETECCIÓN DE UNA  
DISMINUCIÓN DEL FLUJO CEREBRAL**

**Tesis Doctoral**

**ELENA BAÑO RUIZ**

**2019**

Directores: Prof. Dra. María José Sánchez Ledesma  
Dr. Juan A. Nieto Navarro







**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA Facultad de Medicina.**

**D. FRANCISCO S. LOZANO SANCHEZ, Director del Departamento de Cirugía de la Universidad de Salamanca,**

**CERTIFICA:**

Que la presente Tesis Doctoral titulada *“Desarrollo de un modelo experimental para determinar la fiabilidad de la vídeo-angiografía intraoperatoria con verde de indocianina en la detección de una disminución del flujo cerebral”* realizada por Doña Elena Baño Ruiz, para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Salamanca, cumple con los requisitos necesarios para su presentación y defensa ante el Tribunal Calificador.

Y para que así conste y obre a los efectos oportunos, expido el presente certificado en Salamanca, a diez de julio de dos mil diecinueve.

**Fdo.: Prof. Dr. D. Francisco S Lozano Sánchez**







**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. Departamento de Cirugía**

MARIA JOSE SÁNCHEZ LEDESMA, Profesora Contratado Doctor del Departamento de Cirugía de la Universidad de Salamanca

CERTIFICA:

Que el estudio “*Desarrollo de un modelo experimental para determinar la fiabilidad de la vídeo-angiografía intraoperatoria con verde de indocianina en la detección de una disminución del flujo cerebral*” realizado por D<sup>a</sup>. Elena Baño Ruiz, bajo mi dirección y la codirección del Dr. D. JUAN A. NIETO NAVARRO, Profesor Asociado de Neurocirugía de la Universidad de Alicante, reúne los requisitos necesarios para su presentación y defensa y así poder optar al título de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste y obre a los efectos oportunos, expedimos el presente certificado en Salamanca a diez de julio de dos mil diecinueve.

**Fdo.: Profa. Dra. MJ. Sánchez Ledesma**

**Dr. Juan A Nieto Navarro**





*Nihil est quod non expugnet pertinax opera et intenta ac diligens cura.*

Séneca, Epistulae Morales V, 50,6.





*A mi familia*



## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera agradecer la ayuda y el apoyo recibido a todas las personas que han colaborado y han estado cerca de mí durante el tiempo en que he realizado este trabajo.

En primer lugar, me gustaría agradecer a la Profesora Doctora María José Sánchez Ledesma, directora de esta tesis, su apoyo en este proyecto. Por su inestimable colaboración y orientación a cada paso en la realización de esta memoria. Me ha contagiado su entusiasmo y optimismo. Es un ejemplo de vida por seguir.

Al Doctor Juan Nieto Navarro, co-director de esta tesis, por creer en mí y animarme a iniciar este trabajo. Ha sido mi guía y un apoyo fundamental sin el que no habría sido posible llevarlo a cabo. A él, junto con el doctor Karim Ben Ghezala, profesionalmente, les debo todo lo que soy.

Al Doctor Pedro Moreno, Jefe de Servicio de Neurocirugía del Hospital General de Alicante, por ser mi maestro y permitirme aprender de él y trabajar en lo que más me gusta.

A los servicios de Cirugía Vasculat y Cardíaca por su valiosa colaboración sin la que no habría sido posible este proyecto, y en especial a Ana y Víctor, enfermeros perfusionistas, que me han ayudado durante estos largos meses. A Rosa y Carolina, enfermeras instrumentistas, que se han preocupado tanto de facilitarme el trabajo en este tiempo. Finalmente, quisiera dar las gracias a Julia Pierre, instrumentista de Cirugía Vasculat, por estar pendiente de rescatar “mis safenas”, a quien la vida no me ha dejado decírsele en persona (D.E.P.)

Gracias a Alfonso Sánchez, encargado de la sala de disección del departamento de Anatomía en la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández por cuidar de mi trabajo durante todos estos años.

Al Doctor José Ignacio Gallego, neurorradiólogo, y Miguel Ángel, supervisor de Radiología, por darme luz en un momento crítico del camino, ayudando al diseño definitivo del estudio.

Y por último y muy especialmente, a mi familia. Gracias por todo. Sin su fe en mí y su apoyo incondicional no habría podido llegar hasta aquí.

## TABLA DE CONTENIDOS

INDICE DE FIGURAS .....	1
INDICE DE VIDEOS .....	23
INDICE DE TABLAS.....	25
INDICE DE ABREVIATURAS.....	27
1. INTRODUCCIÓN.....	29
1.1. Autorregulación cerebral.....	33
1.2. Penumbra isquémica .....	34
1.3. Patología cerebral vascular neuroquirúrgica e isquemia .....	36
1.3.1. Cirugía aneurismática .....	36
1.3.2. Cirugía de revascularización cerebral .....	42
1.4. Metabolismo y flujo cerebral .....	44
1.4.1. Variaciones del flujo sanguíneo cerebral .....	45
1.4.2. Medición del flujo sanguíneo cerebral .....	45
1.4.3. Técnicas para evaluar intraoperatoriamente el flujo sanguíneo cerebral .....	47
<b>1.4.3.1.</b> Medición directa del flujo de vasos sanguíneos.....	47
<b>1.4.3.2.</b> Visualización de los vasos sanguíneos cerebrales.....	52
1.5. Plasma sanguíneo y proteínas .....	54
1.6. Vídeo-angiografía por verde de indocianina (VA-ICG) .....	59
1.6.1 Proteínas y fluorescencia .....	60
1.6.2 Historia .....	64

1.6.3	Farmacología .....	64
1.6.4	Tecnología .....	68
1.6.5	Aplicaciones intraoperatorias en lesiones vasculares .....	68
1.6.6	Ventajas de la VA-ICG frente a DSA .....	69
1.6.7	Desventajas de la VA-ICG frente a DSA .....	70
1.7.	Vídeo-angiografía por verde de indocianina (VA-ICG) y FLOW 800 .....	71
<b>2.</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>77</b>
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>85</b>
<b>4.</b>	<b>MATERIAL Y METODO .....</b>	<b>89</b>
4.1.	Material .....	91
4.1.1.	Material empleado para la fase de iniciación técnica o fase 1 .....	98
4.1.2.	Material empleado para la fase de validación o fase 2 .....	104
4.1.3.	Material común a ambas fases .....	106
4.2	Método .....	111
4.2.1.	Método común a ambas fases de la investigación .....	112
4.2.2.	Método y resultados de la fase de iniciación técnica o fase 1.....	117
4.2.3.	Método de la fase de validación o fase 2 .....	142
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>151</b>
5.1.	Caso 1 .....	154
5.1.1.	Descripción .....	154
5.1.2.	Análisis de fluorescencia .....	158
5.1.2.1	Arteria cerebral media derecha .....	158
5.1.2.2	Arteria vertebral izquierda .....	160
5.1.2.3	Arteria vertebral derecha .....	171

5.2. Caso 2 .....	184
5.2.1. Descripción .....	184
5.2.2. Análisis de fluorescencia .....	192
5.2.2.1 Arteria vertebral izquierda .....	192
5.2.2.2 Arteria cerebral media izquierda .....	206
5.3. Caso 3 .....	220
5.3.1. Descripción .....	220
5.3.2. Análisis de fluorescencia .....	226
5.3.2.1 Arteria vertebral derecha .....	226
5.3.2.2 Arteria vertebral izquierda .....	234
5.3.2.3 Arteria cerebral media izquierda .....	248
5.4. Caso 4 .....	262
5.4.1. Descripción .....	262
5.4.2. Análisis de fluorescencia .....	268
5.4.2.1 Arteria vertebral izquierda .....	268
5.4.2.2 Arteria vertebral derecha .....	281
5.4.2.3 Arteria cerebral media derecha .....	295
5.5. Resumen de resultados de fluorescencia .....	314
5.5.1. Presencia de fluorescencia .....	314
5.5.2. Análisis cualitativo de fluorescencia .....	316
<b>6. DISCUSION.....</b>	<b>319</b>
6.1 Diseño de un modelo experimental de aplicación de la técnica de vídeo angiografía por fluorescencia con verde de indocianina y <i>software</i> FLOW 800.....	321
6.1.1 Evaluación del fluido conductor del agente fluorescente verde de indocianina .....	325



6.1.2 Dosis y ritmo de infusión de verde de indocianina apropiados en el modelo .....	326
6.1.3 Tipo de espécimen idóneo y forma de conservación.....	327
6.1.4 Análisis de los datos de FLOW800 en el modelo y su extrapolación a los casos <i>in vivo</i> .....	328
6.2 Limitaciones del estudio .....	330
6.3 Propuestas de futuro .....	332
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	<b>333</b>
<b>8. BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>337</b>
ANEXOS .....	347
ANEXO A. Documento memoria de investigación y comité ético hospitalario.....	349
ANEXO B. Memoria de actividad del Servicio de Cirugía Vascular.y Cardíaca.HGUA. 2017.....	358

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Fases de la isquemia: relación entre flujo cerebral, clínica y daño celular.

Figura 2.- Imagen magnificada de un clip de aneurisma y su pinza aplicadora.

Figura 3.- Diseños generales de configuración de clips de aneurismas: estándar, fenestrado, temporal y mini.

Figura 4.- Aneurisma de bifurcación de arteria cerebral media izquierda.

Figura 5.- Cirugía de aneurisma cerebral: Aneurisma de la bifurcación de la arteria cerebral media izquierda.

Figura 6.- Cirugía de aneurisma cerebral: comprobación de la permeabilidad de las ramas arteriales.

Figura 7.- Isquemia postquirúrgica en territorio elocuente (caso real).

Figura 8.- Esquema de revascularización cerebral de ramas dependientes de carótida interna con arteria temporal superficial, dependiente de carótida externa.

Figura 9.- Detalle de la sutura microvascular con *nylon* CV 10/0 de arteria temporal superficial a rama del segmento M4 de la arteria cerebral media izquierda.

Figura 10.- Detalle de la sonda *Charbel MicroFlowprobe*.

Figura 11.- Curva de distribución de proteínas obtenida por electroforesis que muestra las distintas proporciones de albúmina y globulinas alfa, beta y gamma.

Figura 12.- Estructura tridimensional de la albúmina que muestra su forma compacta.

Figura 13.- Diagrama de excitación-relajación energética de un fluoróforo (izquierda) y ejemplo de fluorescencia biológica (derecha).

Figura 14.- Espectro de fluorescencia del triptófano en dos localizaciones distintas.

Figura 15.- Molécula de verde de indocianina.

Figura 16.- Extracto en polvo de indocianina.

Figura 17.- Imagen del vial en vidrio opaco y agua para inyección.

Figura 18.- VA-ICG de aneurisma cerebral y mapa en unidades arbitrarias de intensidad de señal (izquierda) y mapa de retardo con la escala colorimétrica.

Figura 19.- Mapa cuantificado VA-ICG FLOW 800 tras aplicar pulsos seriados: rojo, azul y verde sobre el mismo ROI en condiciones diferentes.

Figura 20.- Vista anterior de máquina de circulación extracorpórea del Hospital General Universitario de Alicante.

Figura 21.- Vista posterior de la máquina de circulación extracorpórea del Hospital General Universitario de Alicante.

Figura 22.- Imagen de las sondas de aspiración empleadas como tubos de PVC.

Figura 23.- Segmento de vena safena en fresco cateterizada para la infusión de un fluido.

Figura 24.- Segmento de vena safena en formol (10 días) cateterizada para la infusión de un fluido.

Figura 25.- Esquema (visión basal) de un polígono de Willis y sus arterias constituyentes.

Figura 26.- Ejemplo de sistema arterial encefálico disecado, en una visión basal.

Figura 27.- Vial de verde de indocianina empleado durante el estudio.

Figura 28.- Detalle de la cánula unidireccional Medtronic.

Figura 29.- Microscopio quirúrgico empleado y mesa de trabajo.

Figura 30.- Micropipeta empleada en el trabajo.

Figura 31.- Detalle del micrómetro digital empleado.

Figura 32.- Imagen de la bomba inyectora, indicando los controles manuales para modificar el volumen del bolo y la velocidad de infusión del mismo.

Figura 33.- Bomba inyectora con la jeringa cargada y conectada al sistema, preparada para la infusión.

Figura 34.- Mensaje automático para ajustar la distancia focal del microscopio antes de realizar el pulso de ICG.

Figura 35.- Segmento de vena safena formolizada visualizada mientras se procesan los datos de fluorescencia tras la vídeo-angiografía.

Figura 36.- Mapa de máximo de intensidad de fluorescencia del segmento de vena safena formolizada anterior.

Figura 37.- Mapa de máximo de retardo de intensidad del segmento de vena safena formolizada anterior.

Figura 38.- Visión basal del sistema arterial encefálico canulado para la infusión de fluidos.

Figura 39.- Imagen del mismo polígono anterior en donde se aprecia macroscópicamente el tinte verde en todo el sistema arterial.

Figura 40.- Fluorescencia residual en el sistema arterial sin que se haya administrado una nueva dosis de ICG.

Figura 41.- Preparados de suero fisiológico con ovoalbúmina (A) y sólo fisiológico (F)

Figura 42.- Sistema de inyección simultánea de verde de indocianina en ambos preparados. (A: ovoalbúmina, F: fisiológico)

Figura 43.- Imagen de las tubuladuras para la infusión de suero con y sin ovoalbúmina.

Figura 44.- Corte histológico de vena safena formolizada que mostraba fluorescencia residual tras un pulso de ICG.

Figura 45.- Corte histológico de vena safena visualizada en fresco, que mostraba fluorescencia residual tras un pulso de ICG.

Figura 46.- Segmento de vaso arterial impermeabilizado cateterizado con infusión de verde de indocianina.

Figura 47.- Sistemas de presión con que se realiza la infusión continua de sangre.

Figura 48.- Vena safena canulada e infusión a través de la misma.

Figura 49.- Sistema de estudio.

Figura 50.- Segmento de vena safena iluminado con filtro del microscopio quirúrgico para fluorescencia, objetivando la ausencia de fijación de ICG en las paredes del vaso tras un pulso previo.

Figura 51.- Visualización con vídeo-angiografía del segmento venoso estudiado con infusión de sangre sin ICG, comprobando ausencia de fluorescencia.

Figura 52.- Mapa de retardo de intensidad (FLOW 800) en el vaso estenosado en el 50% de su diámetro externo por el micrómetro.

Figura 53.- Mapas de intensidad de señal y retardo de intensidad tras el pulso de 10ml a 1 ml/s

Figura 54.- Mapas de intensidad de señal y retardo de intensidad tras lavar el primer pulso y sin administrar nueva dosis de ICG.

Figura 55.- Mapas de intensidad de señal y retardo de intensidad con un segundo pulso administrado a 0,6 ml/s.

Figura 56.- Mapas de intensidad de señal y retardo de intensidad con un tercer pulso de 5 ml administrado a la velocidad inicial de 1 ml/s.

Figura 57.- Imagen basal de uno de los encéfalos disecados, que conserva por completo el sistema vascular, así como el resto de estructuras neurales.

Figura 58.- Disposición del micrómetro sobre el vaso estudiado, una arteria vertebral.

Figura 59.- Imagen de la cara basal de un sistema arterial de circulación posterior, con ambas arterias vertebrales canuladas.

Figura 60.- Imagen basal del mismo sistema arterial de circulación posterior, con ambas arterias vertebrales canuladas.

Figura 61.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 1.

Figura 62.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 1, centrada en la unión de las circulaciones anterior y posterior.

Figura 63.- Visión basal del mismo sistema encefálico (Caso 1), ya disecado del resto de estructuras encefálicas, centrado en la parte correspondiente a la circulación anterior.

Figura 64.- Imagen de la primera arteria estudiada de este sistema arterial (Caso 1), la arteria cerebral media derecha.

Figura 65.- Visión basal del mismo sistema encefálico (Caso 1), ya disecado del resto de estructuras encefálicas, centrado en la parte correspondiente a la circulación posterior.

Figura 66.- Detalle de las arterias vertebrales disecadas (visión basal).

Figura 67.- Instantánea del momento en el que se inicia la infusión de sangre con salida de gran cantidad de la misma a presión, a través de un defecto en la pared.

Figura 68.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda del Caso 1.

Figura 69.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda del Caso 1.

Figura 70.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda del Caso 1 (visión basal o anterior de la misma)

Figura 71.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda del Caso 1.

Figura 72.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda del Caso 1.

Figura 73.- Imagen que muestra la ausencia de fluorescencia tras el primer pulso (Caso 1).

Figura 74.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 1) con su diámetro externo reducido a la mitad del valor inicial por el micrómetro.

Figura 75.- Mapa de retado de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 1) con su diámetro externo reducido a la mitad del valor inicial por el micrómetro.

Figura 76.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el segundo pulso (F2) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 1).

Figura 77.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico (Caso 1).

Figura 78.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico (Caso 1).

Figura 79.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el tercer pulso (F3) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 1).

Figura 80.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 1) empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada.

Figura 81.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda, empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada.

Figura 82.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 1)

Figura 83.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 1).

Figura 84.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 1) empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada.

Figura 85.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) en la arteria vertebral izquierda (Caso 1)

Figura 86.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) con su diámetro externo en situación basal.

Figura 87.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) con su diámetro externo en situación basal.

Figura 88.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso (F1) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1).

Figura 89.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha del Caso 1(50% del diámetro externo)

Figura 90.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) con su diámetro externo reducido a la mitad del valor inicial por el micrómetro.

Figura 91.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el segundo pulso (F2) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1).

Figura 92.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso (F3) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) con su diámetro externo reducido en un único punto.

Figura 93.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) con su diámetro externo reducido en un único punto.

Figura 94.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el tercer pulso (F3) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1).

Figura 95.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando escalas independientes.

Figura 96.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada.

Figura 97.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando escalas colorimétrica independientes.

Figura 98.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada.

Figura 99.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1).

Figura 100.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 101.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando una única escala.



Figura 102.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando escalas independientes.

Figura 103.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada.

Figura 104.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1).

Figura 105.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 2.

Figura 106.- Detalle a mayor aumento de la unión vértebrobasilar del sistema encefálico arterial del Caso 2.

Figura 107.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 2, centrada en la unión de las circulaciones anterior y posterior.

Figura 108.- Imagen a mayor aumento del complejo circulatorio anterior (Caso 2) retrayendo con una espátula el quiasma óptico.

Figura 109.- Misma imagen previa (Caso 2) con mayor aumento, que con retracción del giro recto izquierdo permite exponer el complejo comunicante anterior por completo.

Figura 110.- Visión basal retrayendo el polo del lóbulo temporal derecho exponiendo la cisura de Silvio por donde discurre la ACM derecha (Caso 2)

Figura 111.- Visión basal lateral con apertura de la cisura de Silvio exponiendo la ACM izquierda (Caso 2)

Figura 112.- Imagen del sistema encefálico anterior (Caso 2) una vez disecado del resto de estructuras nerviosas.

Figura 113.- Imagen de la cara anterior del sistema encefálico previo (Caso 2) disecado, centrada en la circulación posterior.

Figura 114.- Imagen centrada en ambas arterias vertebrales objeto de estudio y que se encuentran canuladas a tal fin (Caso 2).

Figura 115.- Imagen de la Arteria cerebral media izquierda observada en este estudio (Caso2)

Figura 116.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo en situación basal.

Figura 117.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo basal.

Figura 118.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso sobre la A. Vertebral izquierda (Caso 2).

Figura 119.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido al 50%.

Figura 120.- Mapa de retardo intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido al 50.

Figura 121.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2).

Figura 122.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico.

Figura 123.- Mapa de retardo intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico.

Figura 124.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2).

Figura 125.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 126.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando una única escala.

Figura 127.- Comparativa del mapa de retardo entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando escalas independientes.

Figura 128.- Comparativa del mapa de retardo entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando una única escala.

Figura 129.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2).

Figura 130.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 131.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando una única escala colorimétrica.

Figura 132.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 133.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando una escala colorimétrica única.

Figura 134.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2).

Figura 135.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo en situación basal.

Figura 136.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo en situación basal.

Figura 137.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (caso 2).

Figura 138.- Fluorescencia residual tras el primer pulso a través de la arteria cerebral media izquierda (Caso 2)

Figura 139.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido al 50%.

Figura 140.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido al 50%.

Figura 141.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el segundo pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2). A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto pre-estenosis y el verde post-estenosis, que se repetirán en la misma localización en el próximo pulso.

Figura 142.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico.

Figura 143.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico.

Figura 144.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2). A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto pre-estenosis y el verde post-estenosis, en la misma localización que en los pulsos previos.

Figura 145.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 146.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando una única escala colorimétrica.

Figura 147.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 148.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2).

Figura 149.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 150.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando una única escala.

Figura 151.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 152.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando una escala colorimétrica común.

Figura 153.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2).

Figura 154.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 3, centrada en la unión de las circulaciones anterior y posterior.

Figura 155.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 3, centrada en la porción anterior del polígono de Willis y su unión con la circulación posterior.

Figura 156.- Caso 3. Visión basal lateral con apertura de la cisura de Silvio exponiendo la ACM izquierda.

Figura 157.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 3, centrada en la circulación posterior.

Figura 158.- Imagen del sistema encefálico anterior (Caso 3) una vez disecado del resto de estructuras nerviosas.

Figura 159.- Imagen de cara anterior del sistema encefálico previo (Caso3) disecado, centrada en la circulación posterior.

Figura 160.- Imagen de la última arteria estudiada del tercer sistema arterial: Arteria cerebral media izquierda.

Figura 161.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Figura 162.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Figura 163.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3).

Figura 164.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) con su diámetro externo reducido al 50% respecto al basal.

Figura 165.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) con su diámetro externo reducido al 50% respecto al basal.

Figura 166.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3).

Figura 167.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 168.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) empleando una única escala.

Figura 169.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 170.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) empleando una única escala.

Figura 171.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3).

Figura 172.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Figura 173.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Figura 174.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda del Caso 3.

Figura 175.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Figura 176.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Figura 177.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma para el segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda en el Caso 3.

Figura 178.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo comprometido en un único punto por un clip quirúrgico.

Figura 179.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo comprometido en un único punto por un clip quirúrgico.

Figura 180.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el tercer pulso (F3) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con estenosis de un punto del segmento estudiado.

Figura 181.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 182.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando una escala colorimétrica común.

Figura 183.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 184.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando una escala colorimétrica común.

Figura 185.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3).

Figura 186.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 187.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando una escala colorimétrica común.

Figura 188.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 189.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando una escala colorimétrica común.

Figura 190.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3).

Figura 191.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Figura 192.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Figura 193.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el primer pulso (F1) con el diámetro externo basal de la arteria cerebral media izquierda (Caso 3).

Figura 194.- Imagen de fluorescencia residual tras el primer pulso que ha quedado adherida a la pared de la tubuladura de plástico empelada para canular la arteria en la salida del sistema.

Figura 195.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Figura 196.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Figura 197.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el segundo pulso (F2) sobre la arteria cerebral media izquierda (caso 3) con estenosis del 50% del diámetro externo del vaso.

Figura 198.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo comprometido en un único punto por un clip quirúrgico.



Figura 199.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo comprometido en un único punto por un clip quirúrgico.

Figura 200.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el tercer pulso (F3) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con estenosis de un punto a lo largo del segmento estudiado.

Figura 201.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 202.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando una escala común.

Figura 203.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 204.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando una escala común.

Figura 205.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3).

Figura 206.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 207.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando una única escala.

Figura 208.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 209.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando una única escala.

Figura 210.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3).

Figura 211.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 4.

Figura 212.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 4 centrada en la unión entre las circulaciones anterior y posterior.

Figura 213.- Imagen a mayor aumento del complejo circulatorio anterior retrayendo con un disector el quiasma óptico (Caso 4).

Figura 214.- Imagen de cara anterior del sistema encefálico previo (Caso 4) disecado.

Figura 215.- Imagen basal del polígono caso 4 disecado centrada en parte de la circulación posterior.

Figura 216.- Arteria cerebral media izquierda disecada (Caso 4).

Figura 217.- Imagen basal de la arteria cerebral media derecha disecada (Caso 4).

Figura 218.- Imagen de la arteria cerebral media derecha del espécimen caso 4 canulada para la infusión.

Figura 219.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Figura 220.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Figura 221.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el primer pulso (F1) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el 100% del diámetro externo del vaso.

Figura 222.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Figura 223.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Figura 224.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el segundo pulso (F2) con el 50% del diámetro externo de la arteria vertebral izquierda (Caso 4) ocluido.

Figura 225.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Figura 226.- Mapa de retardo de intensidad del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Figura 227.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el tercer pulso (F3) con la arteria vertebral izquierda estenosada en un único punto por un clip quirúrgico.

Figura 228.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 229.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando una escala única.

Figura 230.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 231.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando una escala única.

Figura 232.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4).

Figura 233.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 234.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando una escala única.

Figura 235.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 236.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando una escala única.

Figura 237.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4).

Figura 238.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Figura 239.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Figura 240.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el primer pulso (F1) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el 100% de su diámetro externo.

Figura 241.- Imagen del polígono correspondiente al caso 4, estenosando la luz de la arteria vertebral derecha con un micrómetro hasta la mitad del diámetro externo previo.

Figura 242.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Figura 243.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Figura 244.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el segundo pulso (F2) sobre la arteria vertebral derecha con la mitad del diámetro externo inicial.

Figura 245.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Figura 246.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Figura 247.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el tercer pulso (F3) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) estenosada en un único punto.

Figura 248.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 249.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando con una escala común.

Figura 250.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando escalas independientes.

Figura 251.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando una única escala.

Figura 252.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4).

Figura 253.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 254.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando una escala colorimétrica común.

Figura 255.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando escalas independientes.

Figura 256.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando una escala común.

Figura 257.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4).

Figura 258.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Figura 259.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Figura 260.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el primer pulso (F1) a través de la arteria cerebral media derecha del caso 4, manteniendo el 100% del diámetro externo indemne.

Figura 261.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Figura 262.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Figura 263.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el segundo pulso (F2) a través de la arteria cerebral media derecha del caso 4, reduciendo al 50% el diámetro externo.

Figura 264.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Figura 265.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Figura 266.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el tercer pulso (F3) a través de la arteria cerebral media derecha del caso 4, reduciendo la luz del vaso en un único punto.

Figura 267.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 268.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando una escala común.

Figura 269.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 270.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando una escala común.

Figura 271.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4).

Figura 272.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Figura 273.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando una escala común.

Figura 274.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando escalas cualitativas independientes.

Figura 275.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando una escala común.

Figura 276.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4).

## INDICE DE VIDEOS

Vídeo 1.- Cirugía de aneurisma de la bifurcación de la arteria cerebral media izquierda con isquemia postquirúrgica.

Vídeo 2.- Extravasación de suero con verde de indocianina en un polígono de Willis disecado.

Vídeo 3.- Infusión de suero con ovoalbúmina.

Vídeo 4.- Infusión de suero con albúmina e inmunoglobulina sobre vena safena.

Vídeo 5.- Dilución mínima de ICG para obtención de fluorescencia sin fijación a la pared vascular en vena safena.

Vídeo 6.- Prueba de estanqueidad en la arteria cerebral media (Caso 1)

Vídeo 7.- Extravasación de sangre con ICG en arteria cerebral media (Caso 1)

Vídeo 8.- Ejemplo de pulso de vídeo-angiografía en el Caso 1.

Vídeo 9.- Ejemplo de pulso de vídeo-angiografía en el Caso 2.

Vídeo 10.- Ejemplo de pulso de vídeo-angiografía en el Caso 3.

Vídeo 11.- Ejemplo de pulso de vídeo-angiografía en el Caso 4.





## INDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Tabla resumen del material empleado en la fase 1 indicando su origen y disponibilidad.

Tabla 2.- Tabla resumen del material, método y resultado de la fase 1.

Tabla 3.- Tabla resumen del material, método y resultado de la fase 1: búsqueda de la dosis de ICG.

Tabla 4.- Tabla resumen de los Polígonos de Willis estudiados.

Tabla 4.1: Resultados de fluorescencia en el Caso 1.

Tabla 4.2: Resultados de fluorescencia en el Caso 2.

Tabla 4.3: Resultados de fluorescencia en el Caso 3.

Tabla 4.4: Resultados de fluorescencia en el Caso 4.

Tabla 5: Resumen de los hallazgos de fluorescencia por espécimen estudiado.

Tabla 6.- Tabla resumen de cambios cualitativos de la fluorescencia entre pulsos.



## INDICE DE ABREVIATURAS

<b>A.:</b>	Arteria
<b>AB:</b>	Arteria Basilar
<b>ACA:</b>	Arteria cerebral anterior
<b>AChA:</b>	Arteria coroidea anterior
<b>ACI:</b>	Arteria carótida interna
<b>ACM:</b>	Arteria cerebral media
<b>ACoA:</b>	Arteria comunicante anterior
<b>ACoP:</b>	Arteria comunicante posterior
<b>ACP:</b>	Arteria cerebral posterior
<b>AICA:</b>	Arteria cerebelosa anteroinferior
<b>AIs:</b>	<i>Arbitrary intensity units</i> , unidades de intensidad arbitraria
<b>ATP:</b>	Trifosfato de adenosina
<b>AV:</b>	Arteria vertebral
<b>CBF:</b>	<i>Cerebral blood flow</i> , flujo sanguíneo cerebral
<b>DSA:</b>	<i>Digital Substraction Angiography</i>
<b>fMRI:</b>	Imagen de resonancia magnética funcional.
<b>HSA:</b>	Hemorragia subaracnoidea
<b>ICG:</b>	<i>Indocyanin Green</i> , verde de indocianina
<b>ISABIAL:</b>	Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante
<b>μL:</b>	Microlitros
<b>MPEG:</b>	<i>Moving picture experts Group</i>
<b>N.:</b>	Nervio
<b>NIR:</b>	Espectro cercano al infrarrojo

<b>nm:</b>	Nanómetros
<b>ns:</b>	Nanosegundos
<b>PaO2:</b>	Presión arterial de oxígeno.
<b>PaCO2:</b>	Presión arterial de dióxido de carbono.
<b>PET:</b>	Tomografía por emisión de positrones.
<b>PICA:</b>	Arteria cerebelosa posteroinferior
<b>PVC:</b>	Policloruro de vinilo
<b>rBFI:</b>	Índice de flujo sanguíneo relativo
<b>ROI:</b>	Región de interés
<b>TC:</b>	Tomografía computarizada
<b>V.:</b>	Vena
<b>VA-ICG:</b>	Vídeo angiografía por verde de indocianina

# **1. INTRODUCCION**



La relación entre el flujo sanguíneo y la función cerebral se conoció en el siglo VI A.C cuando Alcmeón de Crotona, el estudiante de Pitágoras, describió que el flujo y la fuga de sangre en la mente cerebral eran importantes en la circulación cerebral<sup>1</sup>. Leonardo da Vinci reconoció que la compresión de los vasos del cuello generaba inconsciencia y, por lo tanto, que el flujo sanguíneo debía ser parte integral de la función cerebral<sup>2</sup>.

Los procesos fisiopatológicos de la isquemia cerebral son complejos y multimodales y la comprensión de los mecanismos subyacentes ayuda a guiar la investigación futura y a mejorar los resultados en esta población de pacientes.

El cuerpo humano tiene una protección innata contra la apoplejía y el daño cerebral secundario a isquemia vascular. El polígono de Willis asegura que exista una importante circulación colateral, que protege al cerebro del infarto debido a la oclusión del vaso proximal. Sin embargo, con un bloqueo más distal, el infarto es la norma y no la excepción<sup>3</sup>. El alcance del infarto depende directamente de la disponibilidad y del tamaño de las colaterales piales<sup>4</sup>.

A diferencia de otros tejidos, el cerebro está sujeto a una dependencia estricta de la glucosa y del oxígeno como sustrato energético, la autorregulación del flujo sanguíneo y la presencia de la barrera hematoencefálica, hacen de la isquemia cerebral una enfermedad muy heterogénea y multifactorial. La lesión isquémica se produce en la mayoría de los casos por tromboembolismo o enfermedad aterosclerótica; si bien existen muchas otras causas como traumatismos, enfermedades inflamatorias vasculares, hemorragias, estados de hipercoagulabilidad, trombosis venosa; y, como el tema que nos ocupa en el presente trabajo, causas iatrógenas secundarias a la manipulación neuroquirúrgica de los vasos cerebrales<sup>5</sup>.



Los términos accidente cerebrovascular e ictus se emplean generalmente como sinónimos; conllevan un déficit neurológico agudo de etiología vascular isquémica o hemorrágica.

El cerebro cumple con sus requisitos metabólicos utilizando de manera exclusiva glucosa y oxígeno, que deben ser administrados continuamente ya que no tiene prácticamente reservas energéticas.

La isquemia se produce cuando el suministro de glucosa o de oxígeno es insuficiente para atender la demanda metabólica del tejido en un determinado momento.

La hipoxia se refiere a la disminución de la presión parcial de oxígeno, mientras que la anoxia sugiere la ausencia total de oxígeno en el flujo sanguíneo entregado al tejido<sup>6</sup>. El infarto cerebral ocurre después de la muerte de las células neuronales o gliales en la región afectada.

La isquemia se puede clasificar como completa o incompleta, y global o focal. La isquemia global, como la causada por el paro cardíaco, afecta el flujo de sangre a todas las áreas del cerebro de manera similar. La duración de la isquemia global compatible con la vida es generalmente bastante breve, y los déficits durante la lesión cerebral anóxica después de un paro cardíaco suelen ser graves.

La isquemia focal generalmente es de naturaleza tromboembólica, pero también puede ser el resultado de una hemorragia subaracnoidea, hemorragia intracerebral y/o traumatismo. En general, la isquemia focal produce déficits menos graves y más localizados que la isquemia global<sup>7</sup>.

Los mecanismos fisiopatológicos que rigen el flujo sanguíneo cerebral (CBF) están íntimamente ligados a los de la isquemia cerebral y el infarto<sup>8</sup>. El cerebro es abastecido por cuatro arterias principales. Estas arterias se anastomosan en la base del cráneo para proporcionar flujo redundante en el suministro.

### 1.1. Autorregulación cerebral

La autorregulación cerebral se refiere al fenómeno por el cual el CBF se mantiene casi constante en un amplio rango de presiones de perfusión cerebral (50–150 mmHg). Implica la vasoconstricción de los vasos de resistencia cerebral (arteriolas precapilares) en respuesta al aumento de la presión transmural<sup>9</sup>. Se sabe que la autorregulación está alterada o abolida en condiciones de isquemia crónica, hemorragia subaracnoidea, lesión cerebral traumática, ciertos trastornos metabólicos y en los vasos del lecho de una malformación arteriovenosa cerebral<sup>10</sup>.

Aunque se desconoce el mecanismo exacto, se han planteado varias hipótesis para explicar los hallazgos clínicos observados. En la hipótesis miogénica, las células musculares lisas de la pared arterial pueden responder directamente a los cambios en la presión a través de algún mecanismo mecanorreceptor inherente con la influencia del calcio<sup>11</sup>.

La hipótesis endotelial sugiere que la autorregulación puede controlarse mediante la liberación endotelial del óxido nítrico en respuesta a los cambios en el estrés de la pared<sup>12</sup>.

La hipótesis neurogénica atribuye la autorregulación a la liberación de neurotransmisores de las fibras nerviosas perivasculares<sup>13</sup>.

Anatómicamente, parece más plausible esta última hipótesis, teniendo en cuenta la inervación de los vasos cerebrales en los espacios de Virchow-Robin que reciben información de los ganglios trigeminal (sensorial), cervical superior (simpático) y esfenopalatino (parasimpático). Una vez que los vasos se sumergen dentro del parénquima cerebral, reciben inervación local desde los núcleos basales, el locus

coeruleus y los núcleos dorsales del rafe<sup>9</sup>. Está claro que estos patrones de inervación tienen una interacción compleja tanto en el estado normal como en el patológico.

## 1.2. Penumbra isquémica

La identificación y preservación de la penumbra isquémica ha sido el foco central de la investigación del accidente cerebrovascular durante décadas. Se fundamenta en la idea de que existen umbrales diferentes de CBF que hacen que las células estén inactivas o muertas. Las células, que están inactivas, pero aún no están muertas, son teóricamente capaces de salvarse si se puede restaurar el flujo de sangre o se puede mitigar un daño secundario<sup>14</sup>.

En la década de los años setenta, Sundt<sup>15</sup> estableció que durante la oclusión carotídea unilateral para la endarterectomía, las disminuciones en el CBF por debajo de 18 mililitros (ml) / 100 gramos (g) / minuto (min) daban como resultado una depresión del trazado del electroencefalograma en el lado ipsilateral. Observó que después de establecer un *bypass* de revascularización, a veces después de un período de más de 10 minutos, la función de EEG regresaba y ninguno de los pacientes tenía un infarto postoperatorio. Se ha demostrado que el flujo por debajo de 6 a 8 ml / 100 g / min durante cortos períodos de tiempo conduce a un agotamiento del trifosfato de adenosina (ATP) y aumentos en las concentraciones extracelulares de potasio (K +), lo que indica una disfunción de la membrana<sup>16</sup>.

La viabilidad de la célula no está relacionada solo con los niveles absolutos de perfusión, sino también con la duración del flujo alterado<sup>14</sup>.

Se sugiere que los niveles de flujo por debajo de 6 a 8 ml / 100 g / min pueden ser tolerados hasta 1 hora sin necrosis permanente o daño tisular<sup>16</sup>.

En otro estudio de supervivencia de neuronas corticales, las células no recuperaron su actividad espontánea después de experimentar una reducción del flujo por debajo de 5 ml / 100 g / min durante más de 20 minutos, inferior a 8 ml / 100 g / min por encima de 30 minutos, por debajo de 12 ml / 100 g / min durante más de 50 minutos, o con flujos de 15 ml / 100 g / min durante más de 80 minutos<sup>17</sup>. Este estudio sugiere que la isquemia por debajo de 18 ml / 100 g / min mantenida indefinidamente causaría daño celular permanente (Figura 1).

Aunque el daño isquémico cerebral está directamente relacionado con la liberación de sustrato energético a través del flujo sanguíneo, los cambios en el metabolismo celular iniciado por la isquemia pueden continuar incluso después de la restauración del flujo<sup>7</sup>. Esto sugiere que, aunque el restablecimiento del CBF es claramente necesario para recuperar la función. y evitar daños adicionales, puede que no sea suficiente por sí mismo para evitar la isquemia definitiva.

Fase	CBF ml/100 gr/min	Déficit neurológico	Efectos biológicos
<b>Normal</b>	50-60	sin déficit	Sin cambios, flujo sanguíneo suficiente para el suministro de oxígeno y glucosa
<b>Hemodinámico</b>	20-50	leve o moderado, reversible	El volumen de sangre aumenta debido a la dilatación de las colaterales para mantener el suministro de sustrato relativamente constante. Las fracciones de extracción de oxígeno y glucosa aumentan para mantener el metabolismo. El daño celular es mínimo. No hay lesión por reperfusión si la intervención en esta etapa.
<b>Penumbra</b>	10-20	severo	Fallo eléctrico en electroencefalograma. Metabolismo oxidativo reducido, fallo de bombas de iones. Aumentos de potasio y glutamato extracelular y del calcio intracelular, causando excitotoxicidad. Puede sufrir lesiones por reperfusión. Reversible durante un periodo breve de tiempo
<b>Infarto</b>	<10	severo, irreversible	Fallo completo de la homeostasis iónica y la membrana plasmática, muerte celular. Respuesta inflamatoria marcada. Edema cerebral por fallo bomba de iones y fallo metabólico. La reperfusión puede provocar una hemorragia por la ruptura de la barrera hematoencefálica.

Figura 1.- Fases de la isquemia: relación entre flujo cerebral, clínica y daño celular

### **1.3. Patología cerebral vascular neuroquirúrgica e isquemia**

#### **1.3.1. Cirugía aneurismática**

Los aneurismas cerebrales son dilataciones de las arterias cerebrales, típicamente localizadas en las bifurcaciones y constituyen la anomalía vascular más frecuentemente diagnosticada, con una prevalencia poblacional entre el 2 y el 3 %<sup>18</sup>.

La formación y la posible ruptura de un aneurisma cerebral es un evento multifactorial en el que hasta ahora solo se han identificado algunos de los factores de riesgo intrínsecos y extrínsecos. Cuando un aneurisma se rompe causa una hemorragia subaracnoidea (HSA). La rotura aneurismática tiene una incidencia de 9 casos por cada 100.000 habitantes. Una HSA aneurismática es un evento devastador asociado con una mortalidad acumulada de hasta el 50% a los 6 meses<sup>7,19</sup>. Una HSA aneurismática representa tan sólo entre el 5 y el 10% de los accidentes cerebrovasculares; pero debido a que la enfermedad se presenta a una edad bastante temprana (50–60 años) en relación con otros accidentes cerebrovasculares, y con frecuencia con desenlace fatal, la pérdida de años de vida productiva en el conjunto de afectados es similar a la del infarto cerebral y la hemorragia intracerebral.

Hace décadas el tratamiento de los aneurismas se centraba casi exclusivamente en pacientes con aneurismas rotos. Ahora, teniendo en cuenta que cada vez se diagnostican más aneurismas no rotos gracias a los métodos modernos de obtención de imágenes, el tratamiento preventivo de los aneurismas ha adquirido gran importancia<sup>20</sup>.

La cirugía de los aneurismas cerebrales se encuadra dentro de los procedimientos microquirúrgicos que podemos considerar como más exigentes, con unos márgenes muy estrechos entre fracaso y éxito; definido éste último, como la consecución de la exclusión

aneurismática sin generar daño secundario y, que en la patología que nos interesa, viene representada por la aparición de isquemia cerebral<sup>21</sup>.

Anatómicamente los aneurismas cerebrales se localizan en bifurcaciones arteriales y en íntima relación con las ramas perforantes que dependen de ellos. El manejo quirúrgico de estas estructuras persigue la preservación de la perfusión sanguínea en las zonas distales al vaso tratado, teniendo en consideración que la mayoría de las regiones tratadas corresponden a zonas de parénquima cuya vascularización es terminal; y, al no disponer de circulación vicariante, su oclusión conduce indefectiblemente a la isquemia de ese territorio<sup>22</sup>.

El tratamiento quirúrgico de los aneurismas cerebrales conocido como clipaje, es un procedimiento validado desde hace décadas que se realiza rutinariamente bajo magnificación óptica y que emplea pequeñas pinzas de presión conocidas como clips vasculares (Figura 2). El objetivo de la cirugía persigue evitar la rotura excluyendo el aneurisma de la circulación sanguínea y evitando que sea sometido a estrés hemodinámico<sup>23</sup>.

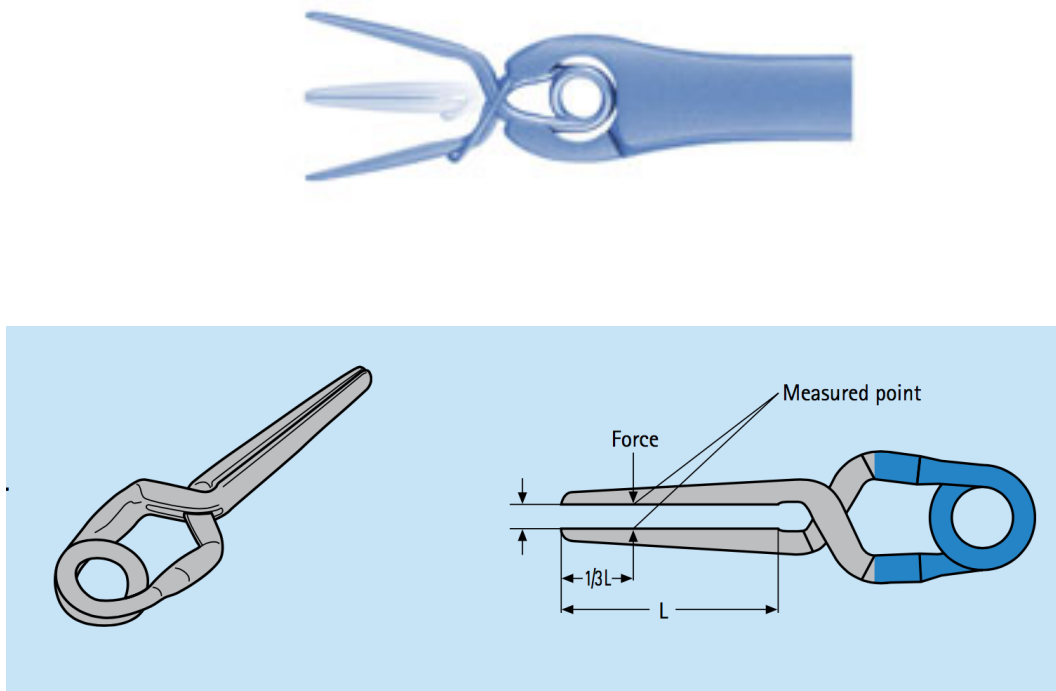


Figura 2.- Imagen magnificada de un clip de aneurisma y su pinza aplicadora.

Con tal finalidad, es necesario diseccionar los vasos cerebrales en la profundidad del espesor de los surcos y cisternas cerebrales, liberándolos de sus adherencias aracnoideas; de tal suerte que queden despejados visualmente y de una forma completa del aneurisma y de todas las estructuras circundantes a las que suelen estar íntimamente adheridos. Tras colocar en el cuello aneurismático uno o varios clips metálicos que impidan la entrada de sangre al saco aneurismático, hay que asegurarse que se preserve el flujo en el vaso aferente y en todas y cada una de las ramas adyacentes y sus perforantes<sup>24</sup>.

El tamaño, número, forma y disposición de los clips es único para cada paciente y su elección queda determinada por la creatividad técnica del cirujano (Figura 3). La utilización rutinaria del microscopio quirúrgico con su capacidad y calidad de magnificación óptica, junto al refinamiento del instrumental y de la técnica, consiguen reducir los eventos isquémicos postoperatorios a cifras inferiores al 5%<sup>20</sup>.

Pequeñas variaciones en el ángulo de aplicación del clip, en la morfología de éste o en la longitud de las puntas de cierre, pueden conllevar inadvertidamente una reducción parcial pero clínicamente significativa del flujo cerebral distal al vaso tratado. Esta oclusión por pinzamiento inadvertido o torsión del ostium de salida de pequeños vasos perforantes, puede conllevar consecuencias clínicas devastadoras como déficits motores severos permanentes en el caso de ramas perforantes que nutran el brazo anterior de la cápsula interna.



Figura 3.- Diseños generales de configuración de clips de aneurismas: estándar, fenestrado, temporal y mini.

La necesidad de minimizar estos riesgos y su pronta corrección exige que el cirujano disponga de las herramientas que le permitan conocer en tiempo real el flujo cerebral y le alerten de la presencia de zonas en riesgo de isquemia. Esta información junto a la pericia técnica exigida debe permitir al cirujano en un tiempo medio de entre 8 y 10 minutos percatarse y solventar estos eventos antes de que la isquemia sea definitiva<sup>25</sup>. No disponer de todos estos recursos conlleva someter al paciente a un riesgo incrementado de morbilidad quirúrgica inadmisibles en el momento actual (Figuras 4, 5 y 6). (Ver vídeo 1)



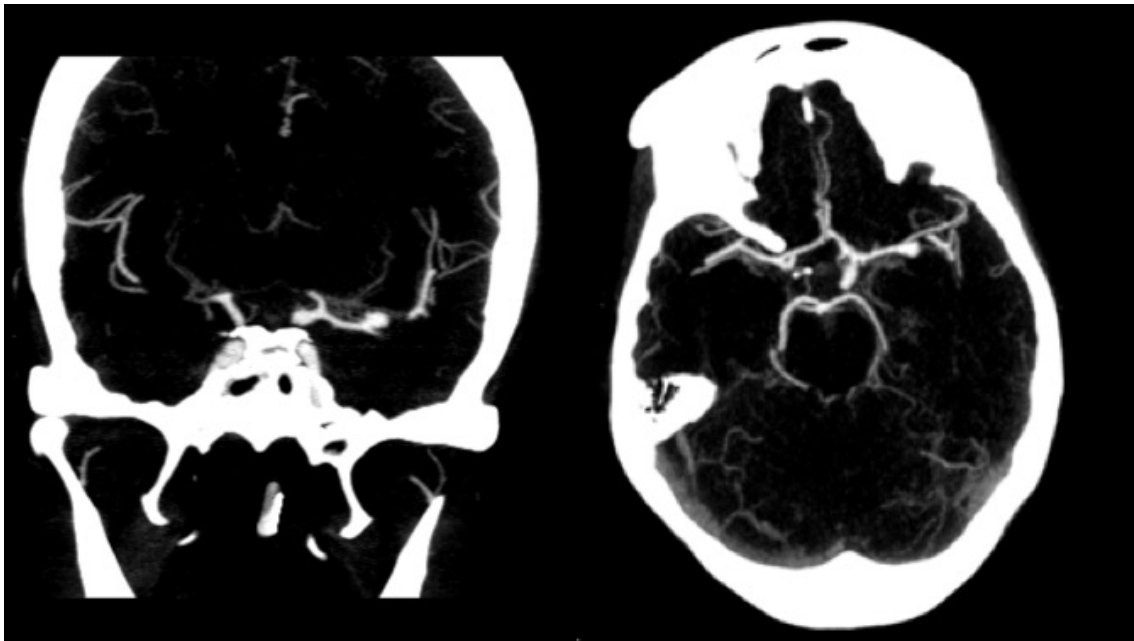


Figura 4.- Aneurisma de bifurcación de arteria cerebral media izquierda.

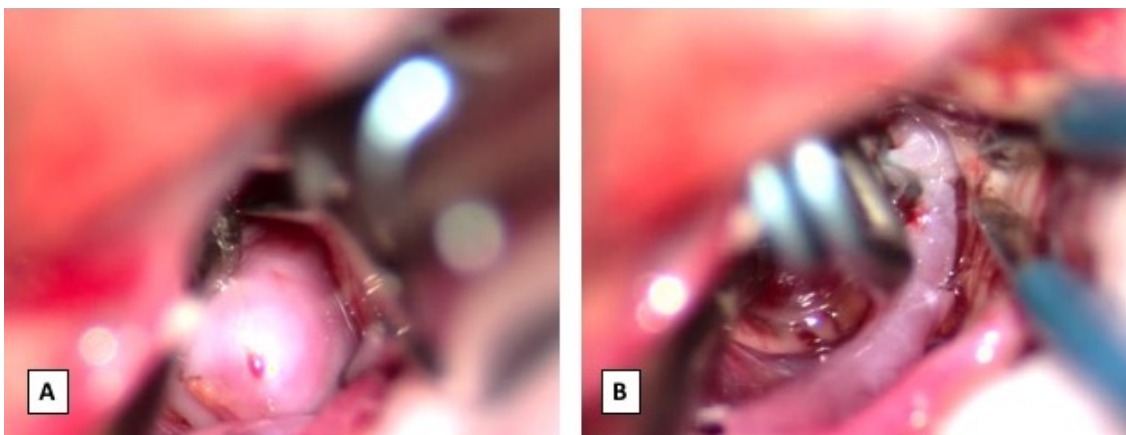


Figura 5.- Cirugía de aneurisma cerebral: Aneurisma de la bifurcación de la arteria cerebral media izquierda. A:/ Exposición del aneurisma previo al cierre del clip. B:/ Verificación visual permeabilidad bifurcación.

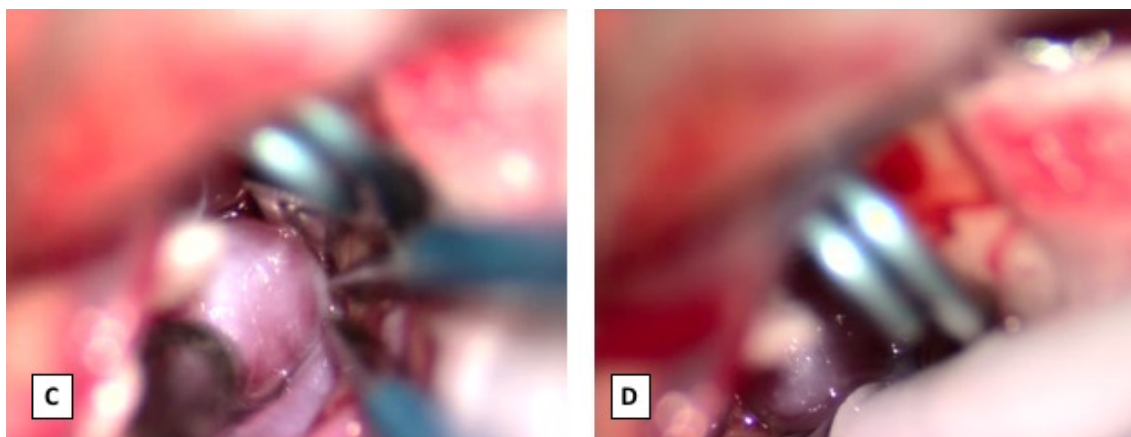


Figura 6.- Cirugía de aneurisma cerebral: Comprobación visual de permeabilidad de ambas ramas. (C) y de la existencia de flujo en ellas mediante ecodoppler (D). Técnica VA-ICG no disponible.

Por este motivo el tratamiento neuroquirúrgico de la patología vascular debe centralizarse en hospitales que dispongan de todos los medios necesarios, de forma que se reduzca la aparición de isquemia y en suma se incremente la seguridad del paciente (Figura 7).

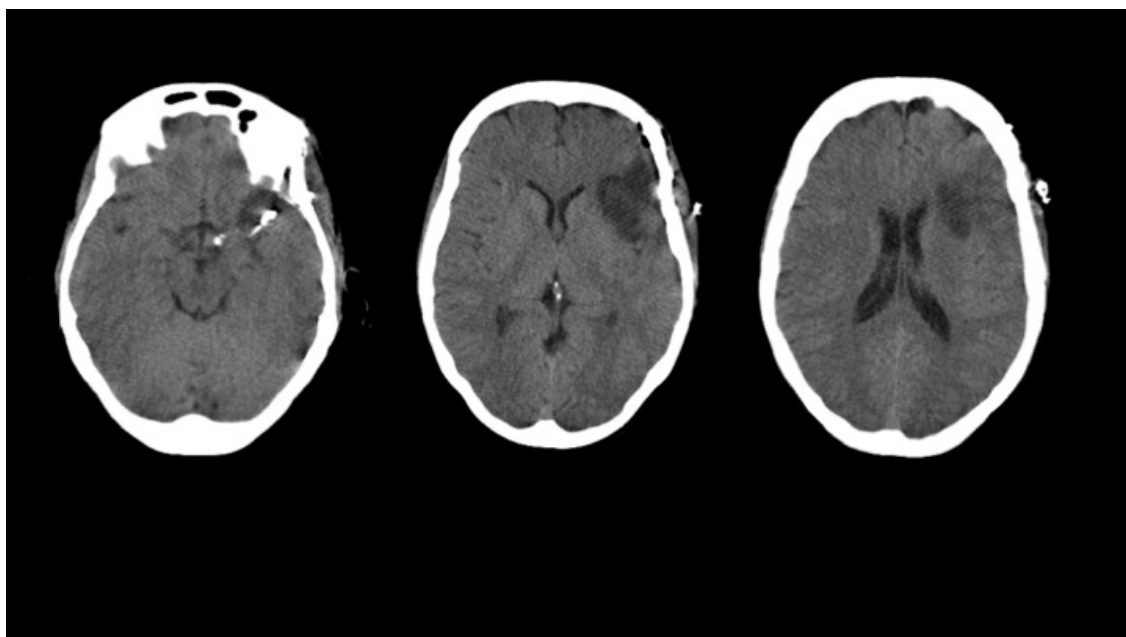


Figura 7.- Isquemia postquirúrgica en territorio elocuente probablemente evitable de haber dispuesto de la tecnología VA-ICG en el momento de la intervención.

### 1.3.2. Cirugía de revascularización cerebral

La revascularización es una opción de tratamiento viable para los aneurismas intracraneales complejos tanto rotos como no rotos<sup>26</sup>. Las técnicas de revascularización son especialmente útiles en pacientes en los que la administración prolongada de antiplaquetarios duales es insegura, en aquellos en los cuales han fracasado los intentos anteriores de reconstrucción con clip o espiras de platino, o en pacientes en los que los aneurismas rotos no son adecuados para la reparación endovascular.

La indicación de cirugía de revascularización en el tratamiento de los aneurismas cerebrales viene dada por la necesidad de reemplazar una arteria parental o aferente, una de las ramas de las bifurcaciones o ambas (Figura 8). Esta técnica también se puede aplicar como medida preventiva cuando se espera una oclusión temporal prolongada y se conoce como *bypass* profiláctico<sup>27</sup>.

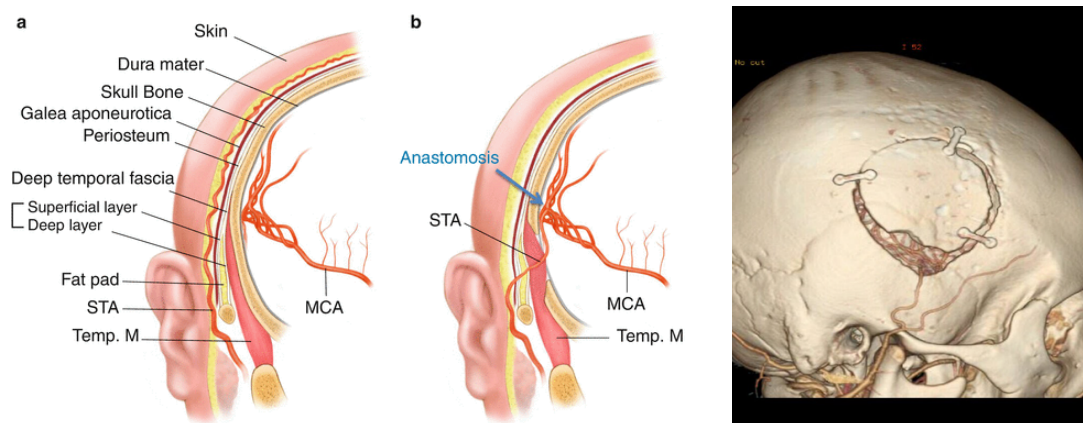


Figura 8.- Esquema de revascularización cerebral de ramas dependientes de carótida interna con arteria temporal superficial, dependiente de carótida externa.

La evidencia sugiere que, durante el sacrificio voluntario de una arteria, se debe planificar simultáneamente un procedimiento de revascularización cerebral para minimizar el riesgo de accidente cerebrovascular<sup>28</sup>.

Asimismo, ante una intervención quirúrgica compleja no se puede descartar la necesidad de precisar una cirugía urgente de revascularización en caso de lesión inadvertida de un vaso<sup>29</sup>.

La isquemia también representa el oponente a batir en los procedimientos de revascularización cerebral mediante anastomosis de injertos vasculares o *bypass* cerebral.

Estos procedimientos representan cuantitativamente una porción muy reducida del volumen total de cirugías vasculares, pero cualitativamente representan el mayor nivel de minuciosidad y dedicación<sup>30</sup> (Figura 9).

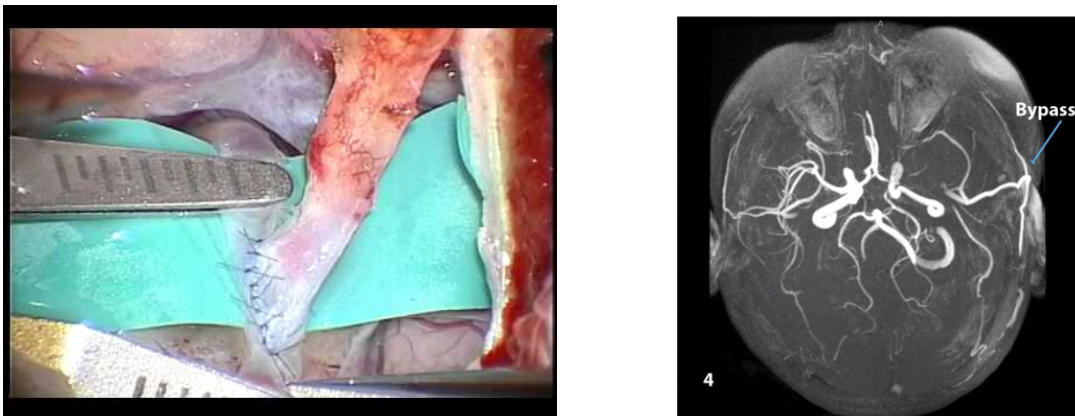


Figura 9.- Detalle de la sutura microvascular con *nylon* CV 10/0 de arteria temporal superficial a rama del segmento M4 de la arteria cerebral media izquierda.

A pesar de una técnica depurada presentan unas tasas de oclusión del injerto que oscilan entre el 4-10%. La estenosis del injerto puede conllevar una reducción adicional de la perfusión cerebral ya de por sí comprometida a nivel del vaso receptor<sup>31</sup>.

#### 1.4. Metabolismo cerebral y flujo cerebral

El cerebro con alrededor del 2% del peso corporal precisa requerimientos de energía relativamente altos, puesto que consume el 20% del oxígeno (O<sub>2</sub>) basal de todo el cuerpo y el 25% del consumo total de glucosa en reposo. Para satisfacer sus demandas de energía, tiene que equilibrar delicadamente su oferta y demanda de energía al recibir tan sólo el 15% del gasto cardíaco en reposo; lo que corresponde a unos 750 ml / min<sup>13,10</sup>.

El cerebro consume energía tanto en situación basal como funcional. La energía basal mantiene la integridad celular: gradientes iónicos y otras funciones celulares básicas. El consumo de energía funcional (60 a 70% del requerimiento total de energía del cerebro) se usa para actividades neuronales de nivel más alto, incluida la generación y propagación de potenciales de acción y la síntesis, liberación y recaptación de neurotransmisores<sup>30</sup>.

En el ser humano despierto, el flujo sanguíneo cerebral global (CBF), compuesto por flujo de sangre para materia gris y blanca, es de 50 ml / 100 g / min, y la tasa metabólica de oxígeno (CMRO<sub>2</sub>) es alrededor de 3.5 ml O<sub>2</sub> / 100 g / min.

El flujo hacia la materia gris es 70 a 80 ml / 100 g / minuto, mientras que el flujo requerido para la sustancia blanca es de tan sólo 15 a 20 ml / 100 g / minuto<sup>33</sup>.

Mientras que la regulación de la CBF se produce principalmente en la microcirculación a nivel de la pía y de las arteriolas, hay evidencia que las arterias cerebrales más grandes también contribuyen a ésta<sup>32</sup>.

#### 1.4.1. Variaciones del flujo sanguíneo cerebral

Aunque los valores globales del flujo sanguíneo y del metabolismo sean estables, el CBF regional puede presentar variaciones enormes como resultado de los cambios en las presiones parciales del oxígeno arterial ( $\text{PaO}_2$ ) y del dióxido de carbono arterial ( $\text{PaCO}_2$ ) en la presión de perfusión local. Debido a que el cerebro carece de reservas energéticas, los cambios en la demanda regional de flujo dependen íntimamente de los mecanismos de autorregulación que permitan ajustes compensadores rápidos en caso de demanda loco-regional. Los procesos autorreguladores ayudan a modular la CBF para que coincida con la demanda en un rango de presiones de perfusión, previniendo así la isquemia. También ayudan a evitar los riesgos de un exceso de perfusión, como hemorragia y edema<sup>35</sup>.

La evaluación del flujo sanguíneo durante la cirugía cerebrovascular es un componente de vital importancia para la ejecución exitosa de la intervención. La información contribuye a la toma de decisiones y confirma el éxito intraoperatorio. La utilidad de las mediciones de flujo intraoperatorio es más evidente en el contexto de la revascularización cerebral y de la cirugía de aneurismas.

En esta introducción se revisan las herramientas y estrategias específicas para utilizar mediciones de flujo, en particular mediciones cuantitativas de flujo de vasos.

#### 1.4.2. Medición del flujo sanguíneo cerebral

No existe un *gold standard* clínicamente relevante para medir CBF. La comparación de técnicas y dispositivos es difícil porque varía su invasividad, al igual que el tiempo y el equipamiento requerido. Dicho esto, se puede estimar el CBF con

ultrasonografía doppler transcraneal, trazado de moléculas, tomografía por emisión de positrones (PET), imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI), videoangiografía con verde de indocianina (VA-ICG), difusión térmica y otras técnicas de medición indirecta<sup>36</sup>. Muchas técnicas invasivas, incluida la técnica de microesferas radiactivas o el método de depuración de hidrógeno, están restringidas a experimentos de laboratorio en animales<sup>37</sup>.

Los primeros enfoques para intentar cuantificar el CBF recurrieron a técnicas de trazado molecular. Estas técnicas persiguen la distribución de moléculas trazadoras (por ejemplo, xenón inyectado o inhalado) y analizar las curvas del trazador<sup>38</sup>. Estos sistemas ofrecen estimaciones del CBF global pero no regional. Precisan de acceso a una arteria periférica, así como un acceso venoso central. Su procesamiento suele ser engorroso y dificulta la evaluación adecuada de los cambios dinámicos en el flujo sanguíneo dentro de un marco de tiempo clínicamente útil<sup>39</sup>.

La tomografía por emisión de positrones y la resonancia magnética funcional son técnicas de imagen no invasivas que requieren equipos complejos y costosos. El coste económico de la primera limita sus aplicaciones clínicas<sup>40</sup>. Sin embargo, estos dos métodos nos permiten correlacionar fácilmente los datos fisiológicos con la información estructural anatómica. Por ahora, no pueden usarse intraoperatoriamente, pero mejoras en la tecnología pueden hacerlas viables.

Tanto la resonancia magnética, la PET como las técnicas de marcadores moleculares más antiguas ofrecen resultados en las mediciones superponibles<sup>41</sup>. Aunque todas las metodologías estiman el CBF promedio cerca de los 50 ml / 100 g / min citados; con frecuencia, los valores pueden desviarse hasta en un 50%<sup>42</sup>.

### **1.4.3 Técnicas para evaluar intraoperatoriamente el flujo sanguíneo cerebral**

Se han descrito muchas técnicas destinadas a determinar el estado del flujo sanguíneo cerebral durante una intervención. Algunas se integran en lo que podemos denominar técnicas fisiológicas que permiten evaluar de un modo directo la dinámica del flujo, ya sea a través de la evaluación de la perfusión parenquimatosa o del flujo de vasos sanguíneos; o por medios indirectos, al evaluar la función electrofisiológica<sup>25</sup>.

Las técnicas adicionales basadas en imágenes para visualizar la permeabilidad de los vasos, como la angiografía por sustracción digital (DSA) convencional o con verde de indocianina (ICG), también son valiosas durante los procedimientos. Cada una de ellas ofrece ventajas y desventajas relativas, que deben expresarse selectivamente para obtener el máximo beneficio durante la cirugía cerebrovascular.

#### **1.4.3.1 Medición directa del flujo de vasos sanguíneos**

##### **A/. Ecografía doppler trans e intracraneal**

Desarrollada por vez primera a principios de la década de 1980<sup>43</sup>, la ecografía Doppler transcraneal es clínicamente accesible, continua y no invasiva. Sin embargo, el uso de la ecografía Doppler transcraneal se limita a las arterias grandes, por ejemplo, la arteria cerebral media y presenta como limitación que exige asumir que la velocidad de los glóbulos rojos y el volumen de flujo sanguíneo están directamente correlacionados<sup>44</sup>. Por lo tanto, puede ser difícil diferenciar la vasoconstricción cerebral o el vasoespasma de los cambios reales en la CBF. Si el diámetro del vaso y la viscosidad de la sangre son constantes, más del 60% de disminución de la velocidad en los pacientes anestesiados se puede asociar con una CBF <20 ml / 100 g / min.

Se puede obtener una evaluación del flujo sanguíneo dentro de vasos específicos



mediante la ecografía Doppler. Esta técnica se utiliza para calcular la velocidad del flujo en función del cambio de frecuencia de las ondas de sonido a medida que se reflejan en la sangre que fluye.

El doppler proporciona una curva de flujo y una señal de audio cuya interpretación depende de la subjetividad del explorador. Estenosis incompletas pueden ser no detectadas y sin embargo ser de una gran trascendencia clínica. Asimismo, un relleno residual del saco aneurismático que se rellene con bajo flujo tampoco podrá ser identificado con esta técnica<sup>42</sup>.

La medición cuantitativa directa del flujo del vaso intraoperatoria ha sido posible tras el desarrollo de la sonda de flujo ultrasónico microvascular (Charbel Micro-Flowprobe, Transonics Systems Inc., Ithaca, NY) que permite medir el flujo sanguíneo de forma directa y cuantitativa<sup>45</sup>. El sistema ha miniaturizado el sistema piezoléctrico del ecógrafo y lo ha adaptado al extremo de un cabezal con forma de U (figura 10).

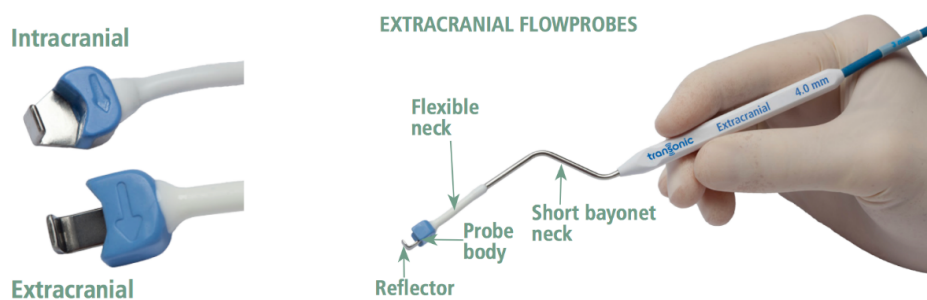


Figura 10.- Detalle de la sonda *Charbel MicroFlowprobe* con detalle ampliado del transductor-receptor (izquierda) y del diseño ergonómico en bayoneta.

Esta sonda utiliza el principio del tiempo de tránsito para medir el flujo en los vasos, independientemente de la turbulencia o el perfil de velocidad de flujo. El dispositivo consta de dos transductores ultrasónicos y un reflector acústico, que forman una sonda en forma de C que se coloca alrededor del vaso de interés.

Una onda de ultrasonido emitida desde los transductores cruza el vaso para rebotar en el reflector acústico. Es recibido por el otro transductor y se convierte en una señal eléctrica que la unidad de detección de flujo transforma en una medida precisa del tiempo de tránsito (el tiempo que tarda la onda de ultrasonido en viajar de un transductor a otro). El tiempo de tránsito se ve afectado por el movimiento de la sangre que fluye a través del vaso, y la diferencia entre el tiempo de tránsito hacia arriba y hacia abajo se usa para medir el flujo de sangre en milímetros por minuto (ml / min).

La sonda se fabrica en una variedad de tamaños (1,5, 2 y 3 mm) para acomodar vasos intracraneales que van de 1 a 3 mm. Tamaños más grandes adecuados para los vasos cerebrales extracraneales también están disponibles. En comparación con la técnica más antigua de las sondas de flujo electromagnéticas, que requiere un ajuste preciso del vaso y el contacto directo con la sonda, la sonda de flujo ultrasónico no requiere un ajuste apretado o contacto directo. El espacio entre el vaso y la sonda circundante se puede llenar con un implante ultrasónico, como gel o solución salina, sin comprometer las mediciones de flujo. Además, la precisión de la metrometría electromagnética puede verse afectada por el nivel de hematocrito o el espesor de la pared del vaso, ninguno de los cuales afecta las mediciones del tiempo de tránsito. La precisión de la sonda de flujo ultrasónico se ha establecido con pruebas tanto in vitro como in vivo.

Sin embargo, a pesar de los esfuerzos de miniaturización, el cabezal de la sonda continúa siendo muy voluminoso para explorar vasos de por sí de pequeño calibre y localizados en la base del cráneo, es decir de acceso angosto y profundo. De manera que su utilidad en cirugía de aneurismas es limitada.

En el momento actual el sistema permite procedimientos directos sobre vasos de calibre superior a 1,5 mm. y su utilidad es innegable en cirugía de revascularización cerebral.

Desde una perspectiva técnica, el uso de la sonda requiere que una porción del vaso de interés se diseccione libremente, de modo que la sonda pueda engancharse alrededor del vaso bajo visión directa. El campo alrededor de la sonda está lleno de solución salina. El flujo sanguíneo se mide y se registra en una tira de flujo que ilustra tanto la forma de onda como el flujo medio, máximo y mínimo. La lectura del flujo medio se utiliza para las comparaciones antes y después de la intervención. Las mediciones pueden realizarse de manera repetitiva y rápida según sea necesario durante la cirugía. Los cambios en los parámetros fisiológicos pueden afectar el flujo de los vasos cerebrales. Específicamente, las modificaciones en la presión arterial, el dióxido de carbono y las maniobras anestésicas (como la supresión eléctrica cerebral) conducen a alteraciones del flujo fisiológicamente esperadas. Por lo tanto, es importante medir el flujo bajo condiciones anestésicas constantes para evitar la mala interpretación de cualquier cambio.

#### **B/. Oximetría cerebral y monitorización de la perfusión intraparenquimatosa**

El flujo sanguíneo cerebral también se puede estimar utilizando la oximetría de bulbo yugular, la oximetría cerebral, la difusión térmica<sup>37</sup> y la espectroscopia de infrarrojo cercano. Son procedimientos invasivos, unos por requerir canulación retrógrada de la vena yugular interna como la oximetría de bulbo yugular, y otros por precisar ser insertados dentro del parénquima para realizar las mediciones; como la sonda de oximetría cerebral Licox (Integra Life- Sciences, Ratingen, Alemania) que requiere atravesar por punción el tejido cerebral para medir la presión parcial de oxígeno en los tejidos adyacentes a la inserción y emplea espectroscopia de infrarrojo cercano, que se

basa en las propiedades de absorción relativas de la oxi y desoxihemoglobina para proporcionar medidas de oxigenación del tejido cerebral<sup>46</sup>.

La oximetría por difusión térmica utiliza una sonda colocada directamente dentro del parénquima y se basa en la medición de la conductividad térmica del tejido, de la que se puede derivar la información sobre el flujo sanguíneo.

Estas técnicas realizan estimaciones de la oxigenación cerebral regional o local en las zonas directamente estudiadas; son muy sensibles detectando penumbra e isquemia cerebral, pero en sí no son técnicas que nos proporcionen de una manera directa información del flujo sanguíneo cerebral y carecen de capacidad de discriminación anatómica de qué vaso es el comprometido. A su vez estas técnicas informan de la presencia de isquemia, pero no proporcionan información relativa al origen de ésta, no discriminan si es por una alteración de la microcirculación por compresión mecánica prolongada del parénquima por los retractores cerebrales, por alteración metabólica o por estenosis de una de las ramas arteriales que se manipulan.

En los procedimientos vasculares neuroquirúrgicos pueden resultar de utilidad, pero en ningún caso son útiles por sí solos como medida del CBF.

Otro inconveniente de estas técnicas es que la información que ofrecen se limita al tejido directamente monitorizado y; además, los tejidos subcorticales o territorios remotos de tejido no pueden ser evaluados.

### **C/. Monitorización electrofisiológica**

La monitorización electrofisiológica de los potenciales evocados es una técnica que se usa para detectar y evitar la isquemia cerebral durante la cirugía cerebral<sup>25</sup>. Una disminución o pérdida de estos potenciales sirve como un indicio de isquemia y actúa

como un marcador sustituto para el flujo sanguíneo cerebral. Sin embargo, esta modalidad está restringida a funciones sensoriomotoras. Por lo tanto, puede dar lugar a falsos negativos dependiendo del territorio vascular de interés. Su utilidad es indiscutible pero no como medida directa del CBF<sup>47</sup>.

#### **1.4.3.2 Visualización de los vasos sanguíneos cerebrales**

##### **A/. Angiografía cerebral**

Tradicionalmente, la determinación de la permeabilidad vascular después de las intervenciones cerebrovasculares se ha basado en gran medida en la visualización del vaso mediante angiografía convencional. La angiografía cerebral rotacional por sustracción digital (DSA) se considera la modalidad diagnóstica de elección o *gold standard* para el diagnóstico de patología cerebrovascular.

Su introducción en quirófano ha supuesto una herramienta de gran utilidad<sup>48</sup>, de tal modo que la información ofrecida ha conllevado la recolocación del clip de aneurisma hasta en un 17,1% de los casos<sup>49</sup> para un resultado postquirúrgico más óptimo.

Ofrece ventajas únicas como es visualizar todo el árbol cerebrovascular, más allá del campo de la exposición quirúrgica o la visualización directa. Es particularmente útil para identificar restos aneurismáticos ocultos o malformaciones y fistulas arteriovenosas residuales<sup>48</sup>. Sin embargo, también presenta limitaciones inherentes a la realización de angiogramas en la sala de operaciones, como son el requisito de personal y equipo específico, junto a la dificultad técnica para realizar la cateterización selectiva del vaso impuesta por la posición operativa del paciente<sup>50</sup>.

La necesidad de contar con un angiógrafo rotacional dentro de la sala quirúrgica presenta unos condicionantes que están al alcance de muy pocos centros hospitalarios. La incorporación de una sala de angiografía al quirófano está ligada a salas de nueva planta o construcción conocidas como quirófanos híbridos donde el tablero de la mesa de quirófano hace las veces de mesa quirúrgica para la intervención como mesa de angiografía. Su implementación implica cumplir con la normativa de bloque quirúrgico y, simultáneamente, con la de protección radiológica. El coste de estas nuevas instalaciones híbridas conlleva un incremento del 100% sobre un quirófano convencional, siendo no asumible para la mayoría de los sistemas de salud<sup>51</sup>.

La imagen proporcionada es de gran calidad e incluye información dinámica sobre el flujo cerebral; pero, más allá de la rapidez de la eliminación del colorante a través de los vasos, poco se puede deducir sobre el flujo real en los vasos. También es cierto que no presenta la desventaja del eco doppler de estar limitada solamente a los vasos expuestos<sup>52</sup>.

Si a estas limitaciones estructurales, les añadimos su carácter invasivo y la reducida capacidad para confirmar la integridad de las pequeñas arterias perforantes o el tiempo sobreañadido al procedimiento que puede oscilar entre 15 y 60 minutos hasta visualizar el resultado, hacen de ésta una opción de utilidad limitada para la prevención final de la isquemia, que como señalamos anteriormente es inferior a 10 minutos. Sin restarle valor a la gran utilidad de la información proporcionada, podemos afirmar que aun siendo considerado el *gold standard* diagnóstico, no se puede considerar a día de hoy el *gold standard* de uso intraoperatorio<sup>53</sup>.

#### **B/. Vídeo angiografía por verde de indocianina**

Esta modalidad de imagen conocida como vídeo angiografía con verde de

indocianina (VA-ICG) se ha convertido rápidamente en el estándar en las cirugías cerebrovasculares. Esta técnica se basa en la inyección intravenosa de colorante verde de indocianina (ICG), que luego se visualiza como fluorescencia intravascular dentro del vaso sanguíneo al iluminar el campo operatorio con luz cercana al infrarrojo<sup>54</sup>.

La VA-ICG es una herramienta útil que permite la visualización de pequeños vasos perforantes no evaluables por angiografía convencional. También es de uso fácil y rápido. Esta modalidad sólo puede evaluar los vasos expuestos directamente en el campo operatorio. Aunque el ICG se puede repetir, normalmente se requiere un retraso de 5 a 10 minutos para lavar la inyección previa de manera adecuada. Además, aunque se puede confirmar la permeabilidad del vaso, la visualización del ICG no proporciona una evaluación directa o cuantitativa del flujo. Se están desarrollando nuevas técnicas para cuantificar la señal de ICG y para proporcionar una indicación del flujo sanguíneo cerebral regional<sup>55</sup>.

Tanto la circulación periférica como la CBF se pueden visualizar con VA-ICG y su incorporación a los quirófanos de neurocirugía ha sido generalizada para evaluar cualitativamente el flujo sanguíneo durante los procedimientos vasculares cerebrales, incluido el *bypass* extra-intracraneal. Los investigadores han validado esta técnica comparándola con la DSA y la tomografía computarizada (TC). La VA-ICG proporciona información focal cualitativa con potencialidad de ofrecer información cuantitativa con el desarrollo de una herramienta informática de análisis de la señal de fluorescencia conocida como FLOW 800<sup>56</sup>.

### **1.5. Plasma sanguíneo y proteínas plasmáticas**

El plasma sanguíneo contiene agua, electrolitos, metabolitos, nutrientes, proteínas y hormonas.

Las proteínas plasmáticas se encuentran en suspensión (o disolución) coloidal en el plasma y, dado que la mayor parte no pueden atravesar membranas o filtros biológicos (son demasiado grandes como para pasar por los poros de las paredes capilares), permanecen en el plasma sin acceder al líquido intersticial, en los animales con sistema circulatorio cerrado, ni a las células, en los de sistema abierto. Ejercen por ello una presión osmótica distinta de la que causan las sustancias disueltas de menor tamaño. Además del efecto coloidosmótico, las proteínas plasmáticas amortiguan los cambios de pH de la sangre<sup>57</sup>.

La separación de las diferentes proteínas de una mezcla tan heterogénea como es el plasma sanguíneo se lleva a cabo mediante electroforesis. En la actualidad se han aislado y caracterizado alrededor de 100 proteínas gracias a esta técnica<sup>58</sup>. Las proteínas purificadas difieren en su movilidad electroforética y peso molecular. La concentración de proteína total en el plasma de seres humanos es de alrededor de 7.0 a 7.5 g/dl, e incluye la mayor parte de los sólidos del plasma.

Las proteínas del plasma en realidad son una mezcla compleja que comprende proteínas no sólo simples sino también conjugadas, como glucoproteínas y diversos tipos de lipoproteínas y otras proteínas vienen definidas por contener metales (transferrina, ceruloplasmina). Casi todas las proteínas plasmáticas se sintetizan en el hígado, si bien algunas proceden de las células endoteliales, y las  $\gamma$ -globulinas lo son de las células plasmáticas.

Se acostumbra separar las proteínas del plasma en tres grupos principales: albúmina, globulinas y fibrinógeno (Figura 11).



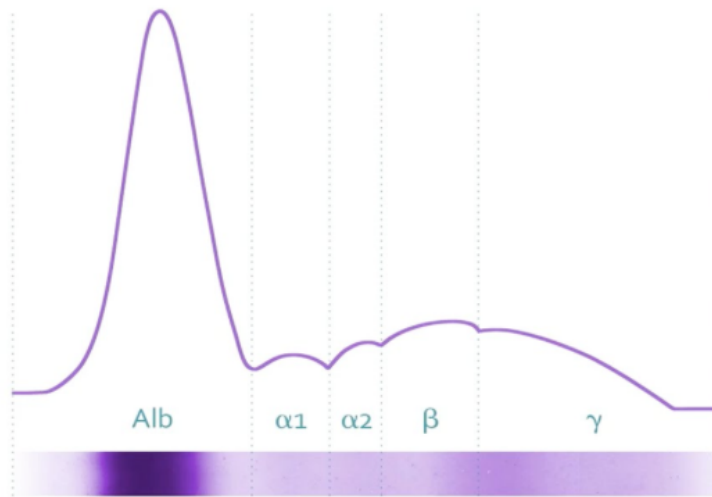


Figura 11.- Curva de distribución de proteínas obtenida por electroforesis que muestra las distintas proporciones de albúmina (Alb) y globulinas alfa, beta y gamma.

#### A/. **Albúmina**

De los tres grupos de proteínas plasmáticas, la albúmina tiene la concentración de masa más elevada, la cual en suero es de 3.5-5.5 g/100ml. y tiene el peso molecular más bajo. Es la principal responsable de la presión coloidosmótica (oncótica) del plasma para evitar la salida de plasma por los capilares, participa en la unión competitiva con iones de calcio y en el control del pH. Como función transportadora se encarga de:

- Transporte de hormonas tiroideas.
- Transporte de hormonas liposolubles.
- Transporte de ácidos grasos libres y de bilirrubina.
- Transporte de fármacos y drogas como warfarina, indometacina, fenitoína, furosemida, aurotiomalato, d-penicilamina, captopril, glutatión, óxido nítrico, cisteína, homocisteína, cisteinilglicina, sulfonamidas, penicilina G, dicumarol y aspirina

Dada su naturaleza hidrofóbica, el transporte de sustancias lipídicas en la sangre se produce mediante la formación de complejos lipoproteínicos. La mayor parte de los triglicéridos, el colesterol y los fosfolípidos se encuentran en el plasma en forma de

gotitas unidas a transportadores proteicos, formando complejos de lipoproteínas que son solubles<sup>57</sup>.

Esta proteína se sintetiza en el hígado con una masa molecular relativamente baja (69 kDa) y es la principal proteína del plasma humano (3.4 a 4.7 g/dl), sumando un 60% de la proteína plasmática total. El hígado produce unos 12 g de albúmina por día, lo que representa alrededor de 25% de la síntesis de proteína hepática total, y la mitad de su proteína secretada. Alrededor del 40 % de la albúmina permanece en el plasma mientras que el 60 % restante se encuentra en el espacio extravascular<sup>58</sup>.

Podemos diferenciar por su origen tres tipos de albúmina: seroalbúmina que es la proteína del suero sanguíneo; ovoalbúmina, la albúmina de la clara del huevo y lactoalbúmina que es la albúmina de la leche.

Una molécula de albúmina promedio abandona la circulación cada 22-24 horas y su vida media de degradación es de 19 días. Se degrada en todos los tejidos, pero el músculo, hígado y riñón son los responsables del 40-60 % del catabolismo. El producto final de la degradación son aminoácidos libres y se produce si la albúmina está desnaturalizada o alterada, ya que la albúmina nativa no es degradada por el sistema endosoma-lisosoma<sup>59</sup>. Su secuencia es rica en aminoácidos cargados (185 iones por molécula, carga neta a pH 7 de -19) lo que facilita su solubilidad. No se encuentra glicosilada ni presenta otro tipo de grupo prostético<sup>59</sup>.

Por otro lado, la albúmina muestra una forma elipsoidal y compacta (Figura 12), lo que significa que no aumenta la viscosidad del plasma tanto como lo hace una molécula alargada, como el fibrinógeno. Debido a su masa molecular relativamente baja y concentración alta, se cree que 75 a 80% de la presión osmótica del plasma de seres humanos depende de la albúmina<sup>58</sup>.

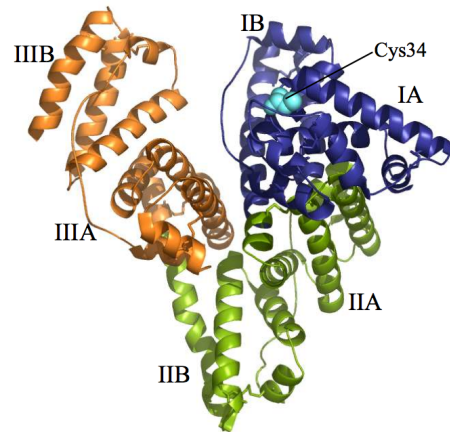


Figura 12.- Estructura tridimensional de la albúmina que muestra su forma compacta.

## B/. Globulinas

Las globulinas son moléculas proteicas insolubles en agua pura, pero solubles en soluciones salinas. Las globulinas séricas son una mezcla heterogénea, compleja, de moléculas proteicas que representan el 38% del total de proteínas plasmáticas, a las que con frecuencia se designa como globulinas  $\alpha$ ,  $\beta$  o  $\gamma$ , en ocasiones con subíndices basado en su movilidad electroforética<sup>59</sup>.

Cumplen funciones de:

1. Función transportadora:  $\alpha$ -globulinas y  $\beta$ -globulinas específicas transportan sustancias tales como la hormona tiroidea, el colesterol o el hierro (esta última se llama transferrina y es la más abundante)

Transferrina, ferritina y ceruloplasmina son globulinas que participan en el metabolismo de metales

2. Coagulación:  $\alpha$ -globulinas y  $\beta$ -globulinas.

3. Reguladoras: ciertas proteínas precursoras de hormonas activadas por señales específicas son  $\alpha$ -globulinas.

4. Funciones inmunitarias: las inmunoglobulinas (anticuerpos) son  $\gamma$ -globulinas. Se

sintetizan principalmente en las células plasmáticas.

Las globulinas tienen una concentración en suero de, 1.5-3 g/100ml. Los valores normales son de:

Globulina sérica: 2.0 a 3.5 g/dL

Componente IgM: 75 a 300 mg/dL

Componente IgG: 650 a 1850 mg/dL

Componente IgA: 90 a 350 mg/dL

### **C./ Fibrinógeno**

Es una molécula fibrilar muy larga compuesta por tres pares de cadenas<sup>35</sup> que en sus extremos tiene cargas fuertemente negativas. Estos extremos permiten la solubilidad del compuesto y también repelen a otras moléculas del compuesto, previniendo la agregación. Es el precursor de la fibrina que forma los coágulos sanguíneos. Su concentración en plasma es de 0.2-0.6 g/100ml.

### **1.6. Vídeo angiografía por verde de indocianina**

Mantener la perfusión tisular es un aspecto esencial en la cirugía neurovascular. Durante las cirugías, los neurocirujanos visualmente confirmamos la permeabilidad del vaso con la ayuda de un microscopio operatorio; sin embargo, es difícil confirmar la exclusión completa de un aneurisma, la oclusión de una fistula dural, la integridad de un vaso aferente o la permeabilidad de todos los vasos perforantes mediante una simple inspección visual. Aunque la DSA es el *gold standard* para la evaluación de la permeabilidad de los vasos; su realización precisa de un tiempo y unos recursos estructurales que no la hacen viable. El uso del colorante conocido como verde de

indocianina (ICG) intraoperatoriamente es una revolución en la cirugía neurovascular ya que permite la visualización *in situ* de la permeabilidad de los vasos. Su integración con un microscopio equipado adecuadamente evita la necesidad de mover el microscopio fuera del campo o realizar cualquier manipulación<sup>60</sup>.

El presente trabajo de investigación pretende analizar las ventajas de esta técnica de visualización de los vasos sanguíneos cerebrales en tiempo real, extendiendo su empleo al laboratorio de cirugía experimental y sentando las bases de los requisitos técnicos de un modelo experimental que nos permita detectar las disminuciones de flujo cerebral con esta tecnología en modelos experimentales inertes.

### **1.6.1 Proteínas y fluorescencia**

Las proteínas no absorben la luz visible, por tanto, son incoloras a menos que contengan un grupo prostético coloreado como el grupo hemo en la hemoglobina o el cofactor de la retina en el pigmento visual rodopsina<sup>61</sup>. Sin embargo, las proteínas sí que absorben toda radiación ultravioleta con dos picos de absorbancia máxima, uno en 190 nanómetros (nm) causado por los enlaces peptídicos y otro en 280 nm causado por las cadenas laterales de los aminoácidos aromáticos<sup>62</sup>.

Dentro de este campo de investigación, el uso de la fluorescencia se ha incrementado y diversificado enormemente en las últimas décadas<sup>63</sup>. Ciertas moléculas, llamadas fluoróforos son capaces de absorber fotones de una cierta longitud de onda, es decir, de un cierto color. Esta absorción, provoca que un electrón de la molécula que está en su estado fundamental ( $S_0$ ), pase a un estado excitado de mayor energía. Cuando dicho electrón vuelve al estado fundamental, esa pérdida de energía se traduce en la emisión de un fotón de cierta longitud de onda (color), característico de dicho fluoróforo (Figura 13).

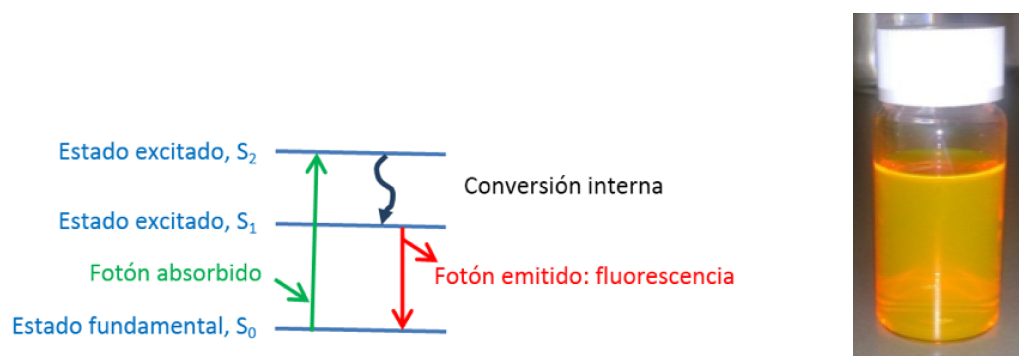


Figura 13.- Diagrama de excitación-relajación energética de un fluoróforo (izquierda) y ejemplo de fluorescencia biológica (derecha).

La fluorescencia es un proceso que ocurre en pocos nanosegundos (ns) y aporta información muy valiosa sobre estructura y dinámica a escala molecular del sistema que estamos estudiando. Cuando una molécula emite luz de una determinada longitud de onda, sólo si hacemos incidir sobre ella luz de otra determinada longitud de onda, hace que sea una técnica que sirva para detectar, localizar e incluso seguir la trayectoria de aquellas moléculas que presenten fluorescencia, con una alta resolución espacial y temporal, incluso en entornos complejos como puede ser una célula<sup>64</sup>.

Las proteínas son macromoléculas formadas por la unión en cadena de muchos aminoácidos que son capaces de plegarse en una estructura tridimensional o estado nativo, fundamental para poder ejercer su función biológica. Algunos de estos aminoácidos son en sí mismos fluoróforos, como es el caso del triptófano, tirosina y fenilalanina. La fluorescencia de las proteínas está generalmente dominada por la del triptófano, que absorbe luz cerca de 280 nm y que emite luz cerca de los 340 nm, en la región del ultravioleta.

Ciertas características fisicoquímicas del ambiente alrededor del triptófano condicionan el espectro de emisión del mismo, entendiéndose por espectro el rango de longitudes de onda donde la molécula emite fluorescencia<sup>64</sup>. De esta forma, mediante la

toma de este espectro se puede hacer un seguimiento del triptófano y de cualquier cambio en la estructura de la proteína que afecte a la zona donde se encuentra.

Así, si un triptófano se encuentra en la superficie de la proteína, expuesto a una disolución acuosa, su espectro estará desplazado hacia mayores longitudes de onda. Sin embargo, en el caso de que el triptófano esté en un entorno más resguardado del agua, su espectro estará desplazado hacia menores longitudes de onda<sup>63</sup>.

En estado plegado o nativo, el residuo suele tener un entorno más resguardado en el interior de la proteína, al desplegarlo, suele quedar totalmente expuesto al entorno acuoso.

Los fluoróforos son muy sensibles a si el aminoácido se encuentra en la periferia o en el centro de la molécula, y por tanto a los cambios que se pueden generar en la proteína si ésta se pliega al interactuar con otra o se desnatura (figura 14). Asimismo, aspectos como el pH o solventes como etanol en el entorno del fluoróforo son a tener muy en cuenta porque modifican sustancialmente el espectro intrínseco de emisión<sup>62</sup>.

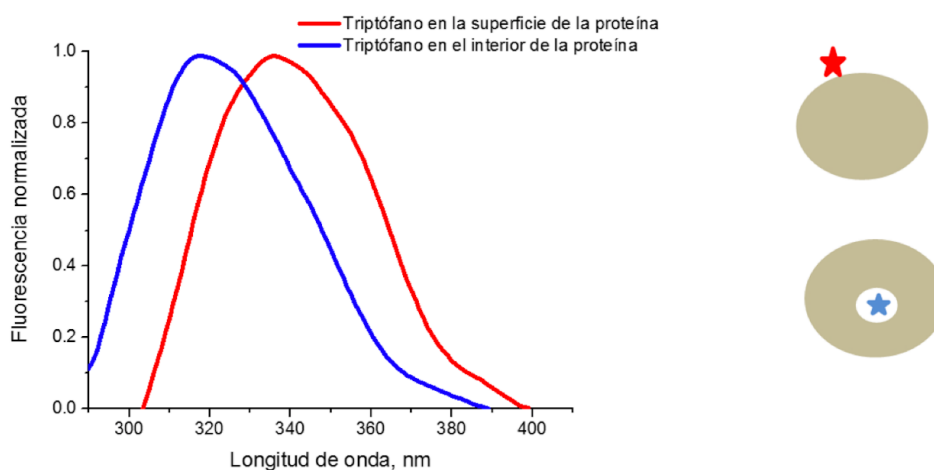


Figura 14.- Espectro de fluorescencia del triptófano en dos localizaciones distintas.

Utilizando el *quenching* o apagamiento de fluorescencia, fenómeno por el que un

fluoróforo pierde fluorescencia por su interacción con pequeñas moléculas como el oxígeno o la acrilamida<sup>65</sup>, o iones pesados como el yoduro ( $I^-$ ) se consigue modificar la duración de la fluorescencia<sup>63</sup>.

Así, si un fluoróforo se encuentra en la superficie de una proteína, su fluorescencia será apagada más fácilmente si le añadimos uno de estos compuestos, que si se encuentra en el interior de la proteína. Este es uno de los motivos por el que el fluoróforo que vamos emplear en el presente trabajo contiene yodo en su composición<sup>66</sup>.

La formación de complejos moleculares por agregación también puede conducir a la extinción de la fluorescencia<sup>62</sup>. Además de la extinción o disminución de fluorescencia puede ocurrir por la formación de estos complejos moleculares no fluorescentes con *quenchers* o por agregación molecular<sup>67</sup>.

Si encontramos un fluoróforo que se fije a alguno de los componentes sanguíneos y se mantenga dentro del torrente vascular sin atravesar el endotelio y que sea eliminado en un periodo breve de tiempo sin necesidad de ser metabolizado ni por hígado ni por riñones, habremos encontrado un método para visualizar el sistema circulatorio en tiempo real. Este fluoróforo es conocido y utilizado en el ámbito médico desde la década de los años 50 del siglo pasado y es conocido como verde de indocianina<sup>68</sup>.

Estas técnicas fluorescentes se desarrollaron en investigación básica para obtener datos sobre la estructura terciaria y cuaternaria de las proteínas. En nuestro caso vamos a extraer información de la unión de estos fluoróforos a proteínas de la membrana celular y a ligandos del plasma, no para analizar su ultraestructura, sino para aprovechar su trazabilidad dentro del torrente sanguíneo.

La comprensión a nivel molecular de estos fenómenos y los aspectos físico químicos es esencial para poder interpretar el comportamiento de la fluorescencia tanto en quirófano como en nuestros modelos experimentales.



### 1.6.2. Historia

El colorante verde de indocianina fue aprobado inicialmente por la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos en 1959 para evaluar las funciones cardiocirculatorias y hepáticas; y, ya a finales de los años sesenta, Feindel utilizó fluoresceína intravenosa para visualizar la anatomía de la circulación epicerebral durante la cirugía de casos vasculares<sup>69</sup>. A partir de 1961, el ICG también se usó en oftalmología para la investigación y el diagnóstico de procesos subretinianos<sup>70</sup>.

El uso del colorante ICG como método no invasivo para estudiar la hemodinámica cerebral fue investigado por Hongo en 1995<sup>71</sup>. Sin embargo, la visualización fluorescente del flujo sanguíneo intracraneal durante los procedimientos neuroquirúrgicos no se convirtió en un estándar en la neurocirugía vascular hasta después de un ensayo prospectivo de dos centros realizado por Raabe en 2005<sup>54</sup>.

Estudios posteriores realizados por los mismos autores compararon los hallazgos de VA-ICG con DSA intra y postoperatorio, y concluyeron que la VA-ICG es comparable a DSA en el 90% de los casos. Desde entonces, la utilización de VA-ICG se ha ampliado a bypass extracraneal intracraneal y malformaciones arteriovenosas cerebrales<sup>72</sup>.

### 1.6.3. Farmacología

El colorante verde de indocianina es un colorante de tricarbocianina soluble en agua y fluorescente cerca del infrarrojo.

Químicamente es una sal de sodio (figura 15) con menos de un 5% de componente yodado: sal sódica del hidróxido de 2-[7-[1,1-dimetil-3-(4-sufobutil) benzo-[e]indolin-2-

iliden]-1,3,5-heptatrienil]1,1-dimetil-3-(4-sufobutil)1*H*-benz-[*e*]-indolinio, cuya fórmula empírica es  $C_{43}H_{47}N_2NaO_6S_2$  y tiene un peso molecular de 751.4 daltons<sup>73</sup>.

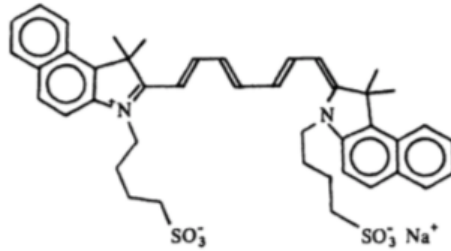


Figura15.- Molécula de verde de indocianina.

La molécula de verde de indocianina es excitada por una fuente de luz con longitudes de onda entre 750-800 nm, con picos de absorción y emisión en 805 y 835 nm respectivamente<sup>73</sup>.

Esta absorbancia máxima es una ventaja puesto que se corresponde con el pico isobéptico de la hemoglobina, por lo que no interfieren en la medición de la fluorescencia. No obstante, se sugiere que parte del verde de indocianina puede quedar unido al endotelio por su afinidad a la bicapa de fosfolípidos del endotelio, como se demuestra *in vitro*, donde el verde de indocianina se exhibe más hidrofóbico que las proteínas plasmáticas por el cambio en el microambiente, lo que modifica el rango de absorbancia máxima entre 826- 835 nm, suponiendo cierta variabilidad en su uso para angiografía respecto a otras aplicaciones médicas.

El producto en forma de polvo se disuelve en agua estéril para inyección intravenosa (figura 16) consiguiendo un pH 6,5. Una vez intravascular, el 98% de ICG se une rápidamente a proteínas, siendo la albúmina plasmática el ligando del 95%. lo que favorece su permanencia en el compartimento intravascular con una mínima proporción

restante que queda libre en el suero y es transportada por la S-glutation transferasa a la vía biliar<sup>61</sup>.



Figura 16.- Extracto en polvo de indocianina.

No sufre una circulación extrahepática ni enterohepática significativa. El tinte es mayormente inerte en el cuerpo humano, ya que hay una captación renal, periférica, pulmonar o cerebroespinal insignificante del tinte. El tinte es absorbido exclusivamente por las células del parénquima hepático y se secreta en la bilis, una característica que lo hace útil para evaluar la función hepática. De entre las proteínas plasmáticas, el componente lipofílico de la molécula de verde de indocianina se une a alfa y beta lipoproteínas en mayor medida que a albúmina, lo que limita su extravasación sin alterar la estructura de la proteína. En la descomposición de la molécula no interviene metabolización alguna, por lo que es excretada exclusivamente por el hígado, se extrae del plasma por las células parenquimatosas hepáticas y se secreta en la bilis; sin someterse a circulación entero hepática, exhibiendo, por tanto, una baja toxicidad. El contraste se elimina exponencialmente en los primeros 10 a 20 minutos desde la aplicación, con una vida media de 3-4 minutos, lo que permite repetir la administración varias veces durante el mismo procedimiento<sup>74</sup>.

A pesar de su interacción con las proteínas plasmáticas, tiene una importante tendencia a la agregación, por lo que su concentración debe permanecer por debajo de 15

mg/L. Estas atracciones producen agregados que pueden dificultar la valoración del paso del contraste por el cuerpo puesto que altera la tendencia lineal de absorbancia.

La preparación del tinte no contiene más del 5% de dióxido de sodio, pero se debe usar con precaución en pacientes con antecedentes alérgicos a yoduros<sup>75</sup>. Se han notificado reacciones anafilácticas y urticariales en pacientes sin antecedentes alérgicos conocidos de yoduros. Las tasas de reacciones adversas son comparables a las de otros medios de contraste, que van del 0,05% al 0,2%<sup>76</sup>. El tinte ICG es catalogado como clase C durante la gestación ya que no se han realizado estudios en animales. Se debe usar en mujeres embarazadas solo si hay indicaciones clínicas absolutas<sup>77</sup>.

Las preparaciones de heparina que contienen bisulfato de sodio pueden reducir el pico de absorción de ICG en la sangre. La semivida del colorante ICG es de 2,5 a 3,0 minutos. No debe estar presente más del 4% de la concentración inicial 20 minutos después de la inyección intravenosa del tinte. La dosis recomendada de tinte ICG para vídeo-angiografía es de 0,2 a 0,5 mg / kg, y la dosis diaria de tinte inyectado no debe exceder de 5 mg / kg<sup>78</sup> (figura 17).



Figura 17.- Imagen del vial en vidrio opaco y agua para inyección.

El ICG se ha utilizado ampliamente en oftalmología durante los procedimientos en pacientes despiertos, con efectos secundarios reportados muy bajos. En los casos neuroquirúrgicos, el ICG se administra generalmente a pacientes intubados y esto podría explicar la todavía menor incidencia de efectos secundarios<sup>76</sup>. El tinte no debe administrarse a pacientes con antecedentes de reacciones adversas al medio de contraste o alergia al yodo.

#### **1.6.4. Tecnología**

El fabricante Carl Zeiss Co. (Oberkochen, Alemania) fue quien desarrolló el microscopio con la tecnología ICG *videoangiography*. El sistema integra imágenes del espectro cercano al infrarrojo (NIR) en el microscopio quirúrgico para obtener imágenes NIR de alta resolución y alto contraste. Un filtro dieléctrico especialmente diseñado para la excitación de la fluorescencia permite el paso de la luz en el rango de longitudes de onda cercanas al infrarrojo que se adapta exactamente a la banda de absorción de la ICG. Un divisor de haz en el microscopio dirige la luz de fluorescencia ICG hacia una cámara en blanco y negro<sup>54</sup>. Se implementa con un filtro conocido como de paso de banda, que detecta automáticamente cuándo se genera fluorescencia ICG. Esta configuración facilita la visualización de imágenes NIR de alta resolución basadas en la fluorescencia del ICG sin la influencia de la luz ambiental<sup>72</sup>.

#### **1.6.5. Aplicación intraoperatoria en lesiones vasculares intracraneales.**

El campo operatorio está iluminado por una fuente de luz que tiene una longitud de onda que cubre parte de la banda de absorción de ICG (rango 700–850 nm, máximo 805 nm). Se prepara una dosis estándar de 25 mg disuelto en 5 ml de agua para inyección. El tinte ICG se administra como inyección en bolo a través de una vena periférica. La

dosis recomendada de VA-ICG es de 0,2 a 0,5 mg / kg. En el Hospital General Universitario de Alicante utilizamos una dosis estándar de 25 mg / inyección para todos los pacientes. Se puede administrar una dosis repetida 10 minutos después de la dosis anterior o hasta que se elimine la fluorescencia residual<sup>73</sup>.

Después de que la solución de tinte llega a los vasos de interés, se induce la fluorescencia de ICG. La fluorescencia (rango de 780–950 nm, máximo de 835 nm) se registra en una videocámara intensificada. El filtro óptico bloquea simultáneamente la luz ambiental y la luz de excitación para que sólo se pueda observar la fluorescencia inducida por el ICG.

La calidad y resolución de la imagen es excelente permitiendo la evaluación intraoperatoria en tiempo real de la circulación cerebral. El tiempo de configuración varía de 1 a 3 minutos, y el tiempo requerido para la investigación e interpretación oscila entre 30 y 40 segundos. Las fases arterial, capilar y venosa pueden diferenciarse entre sí, de forma similar a las observaciones realizadas con DSA. Y, más importante aún, permite visualizar arterias pequeñas y perforantes (<0.5 mm)<sup>79</sup>.

#### **1.6.6 Ventajas de la VA-ICG frente a DSA**

El lapso de tiempo reducido entre la evaluación del clip y el reposicionamiento del clip permite al neurocirujano actuar de inmediato para eliminar o corregir la posición de un clip de aneurisma antes de que se produzca una isquemia cerebral crítica. VA-ICG proporciona una alta resolución espacial en comparación con el DSA tradicional. Incluso en casos complejos que requieren DSA intraoperatoria, VA-ICG aún puede usarse como un complemento para verificar la permeabilidad de los vasos perforantes que no pueden

evaluarse utilizando DSA intraoperatorio<sup>80</sup>.

La DSA intraoperatoria requiere un equipo experimentado y un mínimo de 20 minutos para realizar el procedimiento, que puede exceder el límite isquémico en casos más complejos. El reajuste del clip para los vasos ocluidos después de ver el DSA intraoperatorio se asoció con una tasa del 33% de accidente cerebrovascular<sup>81</sup>. El tiempo ahorrado mediante el uso de VA-ICG debería conducir teóricamente a una disminución de la incidencia de isquemia cerebral durante la evaluación intraoperatoria<sup>82</sup>.

#### **1.6.7 Desventajas de la VA-ICG frente a DSA**

La video angiografía con verde de indocianina está restringida al campo operatorio observado por el microscopio quirúrgico. Su utilidad se limita a los vasos más superficiales que pueden ser evaluados visualmente por el neurocirujano. No se puede observar ningún vaso si está cubierto por coágulos de sangre, aneurisma o tejido cerebral. Por lo tanto, se debe sospechar de una oclusión incompleta y un llenado residual del saco del aneurisma cuando el material de contraste se llene lentamente<sup>83</sup>.

Mientras que la DSA puede revelar un llenado lento de los vasos distales, el VA-ICG puede pasar por alto una estenosis hemodinámicamente relevante después del clipaje<sup>49</sup>.

Los residuos de cuello detrás de los aneurismas son difíciles de detectar con VA-ICG y las calcificaciones y vasos ateroscleróticos de pared gruesa o los aneurismas con trombosis parcial o completa pueden ocultar la señal en el VA-ICG. En estos casos, el DSA intraoperatorio sigue siendo el método de elección para tales casos y para los aneurismas complejos o gigantes, donde la VA-ICG es un complemento para la visualización de pequeñas perforantes<sup>83</sup>.

Uno de los principales problemas durante el clipaje de un aneurisma puede ser una reducción del flujo en una de las ramas aferentes o eferentes respecto al aneurisma tras la colocación del clip, que pase inadvertida con las técnicas previamente consideradas y que, sin embargo, pudiera tener una repercusión clínica posterior. Con la VA- ICG determinar una estenosis con repercusión hemodinámica significativa es difícil y depende probablemente de la localización del vaso estudiado y de la longitud expuesta de éste<sup>84</sup>.

### **1.7. Vídeo angiografía por verde de indocianina (VA-ICG) y FLOW 800**

La VA- ICG presenta como limitación su incapacidad para ofrecer un análisis cuantitativo, en tiempo real y espacialmente preciso del flujo intravascular. Dicho de un modo simplificado, esta técnica nos permite visualizar el flujo, pero no cuantificarlo.

La VA-ICG con FLOW 800 es una evolución de la videoangiografía ICG clásica con infrarrojo, a partir de la cual conserva las características técnicas básicas. La excitabilidad en el espectro de los 800 nm da nombre a esta herramienta informática FLOW 800 desarrollada por Carl Zeiss Meditec AG e integrada en sus microscopios OPMI PENTERO y posteriores. El desarrollo de este software provee de forma pionera y en tiempo real datos semicuantitativos del flujo cerebral<sup>85</sup>. No existe ninguna otra técnica no experimental y no invasiva que proporcione este tipo de información.

Con la aplicación del software FLOW 800, las intensidades de fluorescencia se evalúan en unidades de intensidad arbitraria (AI) correspondientes a la intensidad detectada por la cámara. Además, el software calcula automáticamente los mapas que resumen las intensidades de fluorescencia máximas y los tiempos de retardo, entendiendo por tal al intervalo de tiempo desde el inicio del vídeo hasta que se alcanza el 50% de la fluorescencia máxima. Estos mapas se muestran en la pantalla del microscopio en imágenes en escala de grises de intensidades de fluorescencia máximas o imágenes



codificadas en color que describen la secuencia del flujo sanguíneo de rojo a azul. Informando de la dinámica del flujo en tiempo real: dirección del flujo y discriminación fase arterial de venosa.

La escala de intensidad máxima guarda relación lineal con la velocidad a la que el flujo alcanza el vaso, la mayor fluorescencia y menor retardo en alcanzar el 50% del pico máximo corresponde la fase arterial. El flujo venoso adquirirá su máximo de intensidad de fluorescencia con un valor absoluto menor y con una curva de retardo mayor. Los tiempos e intensidades intermedias equivalen a la fase parenquimatosa<sup>86</sup>.

El mapa de retardo de la dinámica del flujo sanguíneo vascular emplea el color para identificar instantáneamente la dirección y la secuencia del flujo sanguíneo. Esto permite una clara diferenciación entre arterias y venas normales y vasos patológicos. Por ejemplo, las arterias se muestran en rojo, las venas arterializadas en naranja o amarillo y las venas normales en azul (figura 18).

La imagen videoangiográfica ICG puede evaluarse aún más mediante un análisis cuantitativo de intensidades comparando regiones marcadas de interés marcadas en el mapa, o la misma región en condiciones diferentes.

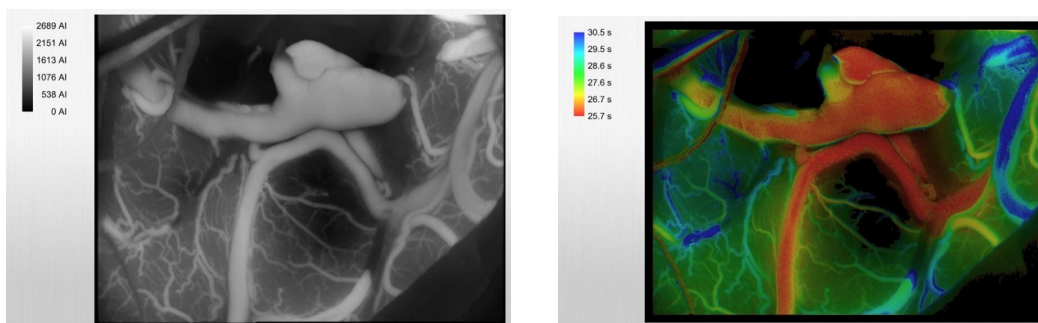


Figura 18.- VA-ICG de aneurisma cerebral y mapa en unidades arbitrarias de intensidad de señal (izquierda) y mapa de retardo con la escala colorimétrica.

El programa ofrece un diagrama donde se describen los cambios de la intensidad de fluorescencia de ICG para cada región de interés (ROI) seleccionada a lo largo del video ICG grabado<sup>81</sup>.

La pendiente del aumento de fluorescencia inicial indica el índice de flujo sanguíneo relativo (rBFI). Cuanto más pronunciado sea el aumento de fluorescencia, más rápido será el flujo sanguíneo. Debido al flujo sanguíneo más rápido en las arterias que en las venas, la pendiente arterial es generalmente más pronunciada que en las venas comparables. En el parénquima, el flujo de sangre es relativamente lento, lo que resulta en un valor de pendiente más bajo.

Para admitir una interpretación rápida de la secuencia del flujo sanguíneo, los tiempos de retardo para cada ROI se muestran en el lado derecho del diagrama en orden ascendente y en el mismo color que el ROI correlacionado. Los tiempos de demora se definen como el tiempo en que la intensidad de fluorescencia alcanza el 50% del valor máximo indicado por la cruz en el diagrama. En general, las arterias aparecen primero, mientras que las venas generalmente muestran tiempos de retraso más largos. Se espera que el parénquima normalmente muestre valores intermedios.

Para generar datos para un análisis semicuantitativo, el microscopio debe mantenerse en una posición fija durante la videoangiografía ICG. El procesamiento de los datos del FLOW 800 y el análisis por parte del equipo quirúrgico requieren un tiempo adicional considerable durante un procedimiento quirúrgico (figura 19).

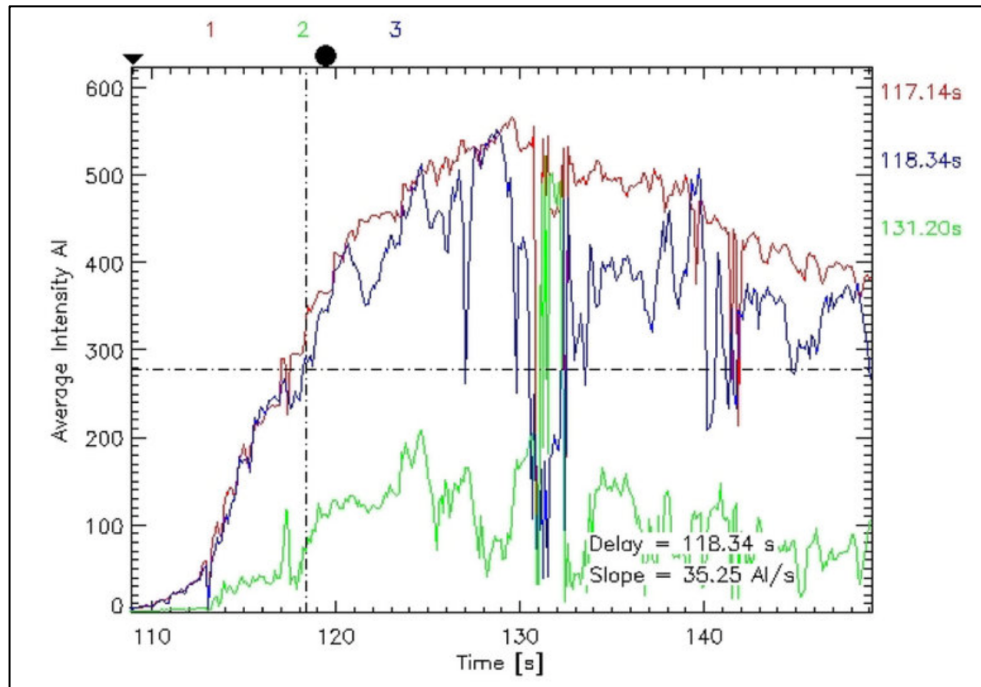


Figura 19.- Mapa cuantificado VA-ICG FLOW 800 tras aplicar pulsos seriados: rojo, azul y verde sobre el mismo ROI en condiciones diferentes.

Cuando se realiza el pulso de fluorescencia, la intensidad de la luz se establece en el 50% y se inicia la grabación de video sincrónica de la visión con luz blanca y la señal de NIR; y se muestra la fluorescencia de ICG en la pantalla.

Durante este tiempo, el microscopio debe mantenerse en una posición fija, sin ninguna manipulación del tejido y sin ningún movimiento de instrumentos quirúrgicos en el área expuesta para garantizar un registro óptimo de los datos para el cálculo de los datos del FLOW 800. El cirujano también debe asegurarse de que las estructuras de interés sean visibles y que el campo de visión esté seco. Y no siempre es posible mantener durante este tiempo el campo en las mismas condiciones sin recurrir a la introducción de un terminal de aspiración o maniobra de disección microquirúrgica.

Para una comparabilidad óptima de los datos de diagramas generados en pulsos de fluorescencia distintos, se aconseja que los tiempos de registro INFRARED 800 sean similares.

Las VA-ICG repetidas en diferentes momentos durante un mismo procedimiento quirúrgico se pueden comparar utilizando la herramienta COMPARE de FLOW 800. Se pueden realizar tres comparaciones diferentes seleccionando el tipo de comparación en la pantalla táctil:

- A. Mapas de intensidad de fluorescencia máxima.
- B. Mapas de retraso codificados por color.
- C. Ejecución de curvas de diagramas documentados.

La aplicación de VA-ICG con FLOW 800 es un método superior para evaluar la dinámica del flujo sanguíneo en comparación con la visualización de fluorescencia ICG solamente. Además, los parámetros derivados de la vídeo-angiografía ICG cuantitativa con FLOW 800, potencialmente, podrían utilizarse para mejorar la evaluación intraoperatoria de la fisiopatología de la perfusión cerebral, la perfusión cerebral intraoperatoria regional y la isquemia en procedimientos quirúrgicos vasculares.

De las tres técnicas expuestas para estudio intraoperatorio del riego cerebral, ecodoppler, arteriografía y vídeo angiografía por fluorescencia, es ésta última la que resulta de mayor utilidad y con una relación coste-beneficio más favorable.



## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**



En el tratamiento de las enfermedades vasculares cerebrales existe una competencia asistencial entre los tratamientos microquirúrgicos y las terapias endovasculares habitualmente desarrolladas por neurorradiólogos. El desarrollo tecnológico de estas terapias ha experimentado una expansión logarítmica, alcanzando en pocos años metas impensables hace años y ampliando sus indicaciones al mismo ritmo. Este hecho ha actuado en detrimento de los tratamientos microquirúrgicos que ven reducidas sus indicaciones a aneurismas complejos y a la cirugía de revascularización cerebral<sup>81</sup>.

La microcirugía vascular cerebral es un campo de excelencia profesional que exige una técnica exquisita en todos y cada uno de los pacientes puesto que los resultados sobre la isquemia resultante son binarios: éxito o fracaso, sin situaciones aceptables intermedias. La adquisición de estas habilidades exige una dedicación extrema, con horas de entrenamiento de los actos quirúrgicos, para que, desde el primer caso tratado, pueda asegurarse el éxito.

Desafortunadamente para la consecución de habilidades, son los casos más complejos y sin posibilidad de tratamiento endovascular los que son remitidos para tratamiento quirúrgico. De tal suerte que la adquisición de destreza y refinamiento manual en casos que puedan considerarse dentro de la idiosincrasia de la enfermedad aneurismática, como usuales, no es factible; ya que éstos son resueltos por radiólogos intervencionistas. Tal es así, que las circunstancias asistenciales actuales nos exigen lidiar con la fiera más brava sin haber podido bregar antes con otras más dóciles.

Esta misma circunstancia competencial es la que se encuentran los cirujanos cardíacos con sus análogos los radiólogos intervencionistas y cardiólogos. Aprovechando



las sinergias en recursos e infraestructura con ellos, pretendemos desarrollar el presente trabajo.

Por otro lado, los laboratorios de microcirugía permiten el entrenamiento en modelos animales vivos, fundamentalmente ratas o cerdos anestesiados; y la sutura en modelos inertes como el ala de pollo. Del mismo modo que en el aprendizaje de muchas disciplinas los simuladores complementan, pero no reemplazan a la realidad estudiada, en microcirugía neurovascular se precisa del desarrollo de modelos de entrenamiento ex vivo que reproduzcan fidedignamente las mismas condiciones que in vivo.

Con estos planteamientos previos, este trabajo persigue evaluar la aplicabilidad de la vídeo-angiografía intraoperatoria con verde de indocianina y su herramienta FLOW 800 en modelos experimentales no vivos y que permitan reproducir escenarios quirúrgicos con riesgo de isquemia análogos al vivo.

La microcirugía vascular es el arte de reconstruir la anatomía vascular cerebral manteniendo el flujo adecuado al tejido cerebral circundante, conjugando la habilidad técnica y mental del cirujano, con el empleo de tecnologías que le informan de la posible alteración del flujo cerebral y le ayudan a adoptar la mejor decisión en sus actos con el objetivo último de evitar la isquemia cerebral.

De las técnicas que complementan al neurocirujano, la vídeo-angiografía intraoperatoria por fluorescencia con verde de indocianina y el procesamiento informático de la información con FLOW 800, es la que consideramos que presenta mayor potencial y utilidad práctica.

La fluorescencia estudiada mediante estas técnicas permite la visualización por transiluminación de la pared del vaso durante un período de tiempo que no se prolonga más allá de los quince minutos. Es pues, un procedimiento reversible donde el agente

empleado viaja adherido a las proteínas plasmáticas sin que se verifique interacción con la pared del vaso o extravasación del agente fluorescente empleado, el verde de indocianina. Esta molécula viaja a través del flujo sin dejar huella de su paso al cabo de unos minutos, tiempo suficiente para adquirir información cualitativa y semicuantitativa de la dinámica del flujo.

Aprovechando esta transitoriedad de la fluorescencia emitida, los pulsos son reproducibles en las mismas condiciones que el inicial, permitiendo comparar los datos obtenidos en pulsos diferentes tras modificar las condiciones del vaso estudiado.

En cirugía, la destreza se adquiere mediante la repetición continuada de los mismos actos que se realizan en la sala de quirófano: exposición, disección, remodelamiento de la pared del vaso y reperfusión de las áreas cerebrales de influencia.

La necesidad de entrenamiento exige trasladar al laboratorio de microcirugía las mismas condiciones dinámicas que se dan en la sala de operaciones; verbigracia: precisamos de modelos anatómicos de árboles vasculares humanos y la disponibilidad de aplicar en ellos pulsos repetidos de vídeo angiografía por ICG para simular las mismas condiciones de dinámica de flujo cerebral y perfeccionar las habilidades manuales y de decisión en el intervalo de tiempo más corto posible.

Resulta necesario describir las condiciones de laboratorio que generaron el presente trabajo de investigación. Éste, se fraguó tras observar un comportamiento no esperado al aplicar la técnica ICG-Flow 800 sobre un polígono de Willis de cadáver humano formalizado. Se pretendía generar externamente estenosis progresivas de la pared del vaso y analizar la información semicuantitativa del flujo con la herramienta Flow 800 tras realizar pulsos seriados de fluorescencia.

En el Laboratorio de Cirugía Experimental del Servicio de Neurocirugía del Hospital General Universitario de Alicante con el objetivo de simular las condiciones de entrenamiento microquirúrgico se canuló y perfundió un polígono de Willis completo humano procedente de cadáver a partir de ambas arterias carótidas internas, así como ambas arterias vertebrales. Se ocluyeron las arterias cerebrales medias y anteriores, así como todas las ramas perforantes para evitar fugas a través del fluido circulante a través de ellas.

Tras un primer pulso de ICG el comportamiento fue el esperado y análogo al encontrado en el vivo; reproduciéndose la misma intensidad de fluorescencia, con curvas de intensidad y áreas bajo la curva superponibles a las encontradas intraoperatoriamente. La adquisición de datos prolongada en el tiempo para su posterior análisis con el software FLOW 800 fue posible y no mostró incidencia alguna.

El hecho inesperado fue que las paredes vasculares continuaban emitiendo fluorescencia de una forma intensa y persistente una vez había finalizado el pulso de fluorescencia, no retornando a una situación basal de ausencia fluorescencia (Ver vídeo 2).

El no recuperar su situación de nula emisión de fluorescencia al cabo de unos minutos, tal y como sucede en el vivo, invalidaba ese espécimen para la realización de pulsos sucesivos sobre el mismo polígono de Willis. Habida cuenta de que el rendimiento de la técnica ICG-Flow 800 se fundamenta en la realización de pulsos repetidos secuenciales sobre el mismo segmento vascular y su posterior comparación y procesamiento, inutilizaba el modelo experimental sugerido.

Esta fluorescencia persistente solamente se puede explicar por fijación de la molécula de ICG a la pared del vaso. Se verificó que la fluorescencia no se minoraba con

el paso del tiempo, ni se pudo revertir con lavados continuos de suero así como tampoco empleando agentes mecánicos ni químicos sobre la pared del vaso.

Este contratiempo experimental nos suscitó una primera batería de preguntas sobre lo sucedido:

1.- Al tratarse de un experimento *ex vivo*, el bolo de verde de indocianina debería ajustarse, pero ¿cuánto menor debe ser la dosis? En el vivo se calcula por peso, se inyecta por vía venosa periféricamente y cuando alcanza el árbol arterial cerebral ha sido ya distribuido por toda la volemia del organismo, llegando muy diluido. Parece razonable que la cantidad necesaria para los modelos experimentales sea mucho menor.

2.- Conociendo la farmacocinética de la molécula de indocianina, la fijación permanente a las paredes vasculares probablemente se pudo deber a la ausencia de proteínas en la mezcla de suero fisiológico empleada para la infusión<sup>73</sup>.

3.- La conservación del formol pudo afectar la integridad del endotelio las venas tienen endotelio y hacerlo permeable al ICG.

Se plantean tres preguntas iniciales en la búsqueda de una solución a la reproducibilidad de los pulsos en nuestro modelo experimental:

¿Es un problema de la dosis empleada de ICG?

¿Es cuestión de carecer de proteínas a las que ir ligado el ICG?

¿Influye la conservación del endotelio vascular en formol?



### **3. OBJETIVOS**



Con estos antecedentes, en el presente trabajo doctoral nos hemos planteado los siguientes objetivos:

### **Objetivo general**

Diseñar y validar un modelo experimental de aplicación de la técnica de vídeo angiografía por fluorescencia con verde de indocianina (ICG) y *software* FLOW 800 que permita el entrenamiento microquirúrgico vascular sobre arterias de polígonos de Willis de cadáveres humanos, en condiciones superponibles a las quirúrgicas *in vivo*.

### **Objetivos específicos**

1.- Conseguir un medio fluido apropiado para conducir el agente fluorescente verde de indocianina y evitar su fijación a la pared vascular.

2.- Establecer dosis y ritmo de infusión de verde de indocianina apropiados en el modelo experimental.

3.- Analizar su aplicabilidad a vasos arteriales y venosos procedentes de explantes tanto en fresco como preservados en formol.

4.- Analizar los datos de FLOW 800 en el modelo experimental y su extrapolación a los casos *in vivo*.





## **4. MATERIAL Y MÉTODO**



#### 4.1 MATERIAL

La constatación experimental que motivó el presente trabajo radica en la observación de que el uso de suero salino fisiológico como fluido conductor de ICG para intentar estudios vasculares ocasiona una fluorescencia no sólo intensa sino permanente en el espécimen empleado, no retornando la pared del vaso a su situación basal. Ello implica que el empleo de este fluido permite estudios vasculares de fluorescencia en una única ocasión, esto es, en pulsos únicos aislados, sin capacidad de reproducibilidad del estudio con nuevos pulsos seriados; y, por tanto, impide la realización de estudios comparativos fundamentados en pulsos seriados sobre el mismo espécimen tras haber modificado sus condiciones.

La pretensión de definir las condiciones óptimas de un nuevo modelo experimental de VA-ICG en segmentos vasculares inertes, no hallando en la literatura modelos de trabajo similares en los que fundamentarnos para su desarrollo; nos hacían presumir la aparición de dificultades técnicas que supusieran cambios conceptuales y procedimentales a lo largo del estudio, lo que hacía poco razonable intentar acotar el tamaño muestral de forma juiciosa en las primeras fases del mismo, teniendo en cuenta la más que probable necesidad de precisar de un número creciente de especímenes, lo que fue finalmente confirmado.

En nuestro trabajo se exponen de forma secuencial las dificultades técnicas encontradas en el desarrollo del modelo experimental a estudio, seguidas de las medidas tomadas para abordar cada una de las mismas, lo que ha supuesto un reto, dado que cada uno de estos obstáculos y sus soluciones, implicaban nuevas dudas metodológicas por resolver a cada paso de la investigación.

La dinámica experimental nos ha conducido a plantear hipótesis accesorias precisando de su resolución secuencial en cada uno de los pasos de la experimentación,

por lo que resulta imprescindible referir los resultados intermedios de estas fases iniciales del trabajo conjuntamente con el material y método, exponiéndolos además con la misma cronología con que se obtuvieron, para una mejor comprensión de este flujo experimental.

Por todo ello, se ha dividido el presente estudio en dos fases: fase de iniciación técnica y fase de validación.

Una primera fase, denominada **Fase de Iniciación Técnica o Fase 1** para el estudio y definición de las mejores condiciones del modelo experimental, empleando especímenes de complejidad creciente pero no procedentes de encéfalos humanos. Y una segunda fase, denominada **Fase de Validación o Fase 2**, para evaluar la validez de las condiciones del modelo experimental obtenidas en la fase anterior, al aplicarlas sobre polígonos de Willis de encéfalos de cadáveres humanos.

La escasez de polígonos de Willis de cadáveres humanos de que se dispone y la necesidad de reservarlos para la fase 2 de validación, requirió iniciar una búsqueda de especímenes hábiles para esta experimentación, cuya disponibilidad en número no fuese limitante y cuya naturaleza inherente (tejido vascular) permitiese aproximar el modelo experimental en desarrollo a las condiciones habituales de trabajo. Ello condujo a fijar la mirada en los Servicios de Cirugía Cardíaca y de Cirugía Vascular del Hospital General Universitario de Alicante, como fuente de especímenes y de fluidos biológicos de origen vascular, manteniendo el objetivo de economía de medios.

Cabe destacar que diariamente por parte de estos dos servicios se generan especímenes de índole biológica que son directamente enviados al contenedor de desechos, esto es: en Cirugía Vascular se obtienen largos segmentos de vena safena procedentes de intervenciones para tratamiento de la insuficiencia venosa de miembros inferiores (safenectomías); y, por otro lado, en Cirugía Cardíaca se obtienen segmentos

de vena safena y arteria mamaria como excedentes de los que se emplean como injertos en cirugía de revascularización cardíaca.

Asimismo, teniendo en cuenta el deseo de conseguir un modelo experimental que reprodujera de la forma más verosímil las condiciones reales de trabajo en Neurocirugía, hubo que considerar la posibilidad de precisar un fluido conductor similar al biológico, es decir, sangre. Es por ello que se consideró que, de nuevo, el Servicio de Cirugía Cardíaca podría ofrecer una fuente de sangre humana en cantidad no limitante para la presente investigación, procedente de remantes no retornables al paciente del sistema de circulación extracorpórea, que son diaria y sistemáticamente desechados como residuos biológicos.

#### **Máquina de circulación extracorpórea o máquina de derivación cardiopulmonar**

El corazón y los pulmones funcionan en forma conjunta para mantener las células del cuerpo oxigenadas.

En algunos procedimientos es necesario detener el corazón para reparar el músculo cardíaco, las válvulas u otras estructuras. La máquina de circulación extracorpórea permite al cirujano detener el corazón cuidadosamente sin interrumpir la circulación sanguínea.

Esta máquina consta de una bomba, que cumple la función del corazón, y un oxigenador, que cumple la función de los pulmones oxigenando la sangre. De esta manera, el corazón permanece inmóvil durante la operación, lo cual es necesario para la cardiotoromía. Cuando el paciente está conectado a una máquina de circulación extracorpórea, ésta realiza las mismas funciones que realizarían el corazón y los pulmones. La máquina transporta la sangre desde la aurícula derecha a un recipiente especial denominado oxigenador.

Dentro del oxigenador las burbujas de oxígeno se mezclan con la sangre y se introducen en los glóbulos rojos; esto hace que la sangre cambie de color rojo oscuro (pobre en oxígeno) a vivo (oxigenada). Seguidamente, un filtro retira las burbujas de aire de la sangre rica en oxígeno y la sangre pasa por un tubo de plástico o cánula a la raíz aórtica, arteria femoral o subclavia, de vuelta al organismo (figura 21).

Durante este proceso, cabe destacar que queda un pequeño remanente de sangre en algunas estructuras del propio sistema que se considera y maneja como desecho y en ningún caso se devuelven al paciente, procediendo a su destrucción como residuo biológico al finalizar la cirugía.

De las diferentes partes de un sistema de bomba extracorpórea se destacan a continuación, aquellas que generan los residuos hemáticos al contener pequeños recovecos en los diferentes filtros:

- La bomba hace las funciones de corazón con dos métodos de bombeo de uso generalizado: de rodillo o centrífuga. Implicando el primero de los sistemas mayor grado de hemólisis. En el caso del Hospital General de Alicante se emplea el segundo.

En el Hospital General Universitario de Alicante se emplea la máquina de circulación extracorpórea modelo Stockert S5m (Figura 20).

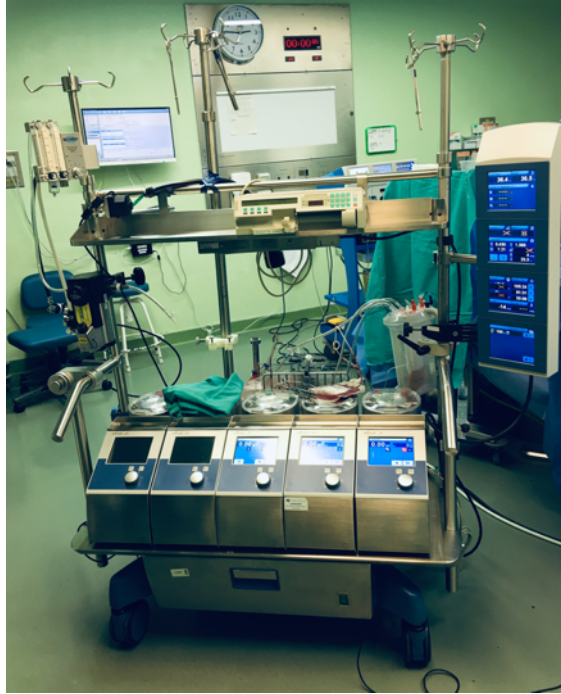


Figura 20.- Vista anterior de máquina de circulación extracorpórea del Hospital General Universitario de Alicante.

- El oxigenador: Es desde el punto de vista de este modelo experimental el que mayor interés tiene por ser la principal fuente de sangre remanente, tras realizar el lavado del sistema. Puede ser de 2 tipos:

a. De membrana: son membranas permeables compuestas por polipropileno con micro-poros o silicona y actúan como la membrana alveolo-capilar, permitiendo así el intercambio gaseoso.

b. De burbujas: permiten el contacto directo sangre-gas.

- Reservorio de cardiología: es el lugar al que pasa la sangre después de la cánula e incluye otro filtro donde hay micro y macropartículas; permite añadir fármacos, sangre y fluidos, además de atrapar las burbujas. Asimismo, trabaja como reservorio de los aspiradores de campo.

-Anticoagulación: El procedimiento se realiza en circuitos heparinizados con dosis de inducción es 1–1,5mg/kg de heparina no fraccionada. Posteriormente, se iniciará



perfusión de heparina a dosis de 2mg/kg/día, precisando de rangos superiores al finalizar los procedimientos por requerir menores flujos y, consecuentemente, mantener al paciente más anticoagulado. Este hecho es relevante para el modelo experimental de este trabajo porque proporciona sangre heparinizada en rangos altos de anticoagulación y que facilitan la preservación y manejo posterior de la sangre.

La máquina de circulación extracorpórea retorna al paciente la mayor parte de su sangre oxigenada, pero al finalizar la cirugía e interrumpir la derivación cardiopulmonar y aun reuniendo las condiciones más óptimas, siempre queda un remanente de sangre que no es posible retornar al paciente, y que rellena en diferentes proporciones las distintas partes del sistema: bomba, filtros y codos de tubuladuras. Esta cantidad de sangre ronda el rango de las decenas de mililitros que se obtienen del lavado del sistema, por lo que no se emplea para el paciente y, por tanto, no presenta repercusión hemodinámica.

Este remanente de sangre es inherente al funcionamiento del sistema de bomba extracorpórea y es el que se pretende emplear para este estudio. En ningún caso se extrae sangre adicional al paciente para investigación. Para este trabajo podrían emplearse pues, los restos de desecho del filtro y sistema de tubuladuras tras el lavado del sistema antes de ser eliminados en el contenedor de residuos biológicos del centro hospitalario como se realiza rutinariamente (Figura 21).

En caso de precisar un fluido conductor para la molécula de ICG de mayor complejidad biológica, esta sangre de desecho permitirá refinar y optimizar el diseño del modelo experimental a estudio.



Figura 21.- Vista posterior de la máquina de circulación extracorpórea del Hospital General Universitario de Alicante. La estrella señala el oxigenador.

A tal fin se puso en conocimiento del Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), de los Servicios de Cirugía Cardíaca y de Cirugía Vascular del Hospital General Universitario de Alicante el objetivo de este estudio. Tras presentar una memoria científico-técnica y elaboración de los documentos informativos y de consentimiento informado de uso de los residuos sanguíneos del paciente con fines experimentales, se recibió conformidad por parte del Comité de Ética del centro hospitalario. Al no almacenarse la muestra porque continúa con el mismo circuito de eliminación de desechos, no se incluye en Biobanco.

(Ver ANEXO A)

#### 4.1.1 Material empleado para la fase de iniciación técnica o fase 1

En esta primera fase se describen de forma secuencial los ensayos dirigidos a establecer un modelo experimental para el uso de la técnica ICG y FLOW 800 en especímenes no procedentes de encéfalos humanos.

Es preciso recalcar que se persigue diseñar un modelo para la reproducción repetida de pulsos de ICG en polígonos de Willis de cadáveres humanos en condiciones superponibles a la cirugía in vivo, con la calidad técnica adecuada que permita adquirir datos cuantitativos con el programa FLOW 800 para su ulterior análisis.

Para una mejor comprensión del uso del material en el flujo experimental transitado es imprescindible considerar los siguientes tres aspectos sobre el mismo:

- Tipo de fluido conductor de ICG: fluido empleado para transportar ICG.
- Origen del material soporte del flujo de ICG o especímenes: no biológico vs biológico.

En lo referente a si se trata de una estructura artificial o a una estructura de origen vascular humana no encefálica.

- Disponibilidad del material empleado: no limitante vs limitante.

Es el aspecto que condiciona a los elementos anteriores, en tanto en cuanto, la disponibilidad restringida de un material, ya sea el fluido conductor o el espécimen empleado, supondría que la consunción de dicho material impediría continuar con el desarrollo de la investigación y por tanto limitaría el estudio.

De la combinación de estos aspectos fundamentales, se obtiene la siguiente clasificación del material disponible para el presente estudio, que queda resumida en esta tabla (Tabla 1) :

Tabla 1.- Resumen del material empleado en la fase 1 indicando su origen y disponibilidad;

MATERIAL	DISPONIBILIDAD		ORIGEN
	NO LIMITANTE	LIMITANTE	
ESPECÍMENES	Tubos PVC	(-)	NO BIOLÓGICO
	V. Safena / A. Mamaria	Poligonos Willis	BIOLÓGICO
FLUIDO CONDUCTOR	Suero salino	(-)	NO BIOLÓGICO
	Fracc. Proteicas NO humanas: ovoalbúmina	Fracc. Proteicas / Sangre HUMANAS	BIOLÓGICO

Fracc: fracciones; (-): No empleado;

En una descripción pormenorizada, para la consecución del objetivo principal de este estudio se dispone de los siguientes recursos materiales:

#### A) Especímenes

A.1. Especímenes no limitantes:

A.1.1. No biológicos: Sistemas de tubulares plásticos de PVC, obtenidos de sondas de aspiración de color verde o negro de diámetros externos entre 2 y 5 milímetros (mm) similares al de los vasos cerebrales tratados habitualmente como las arterias cerebrales medias o vertebrales (Figura 22).

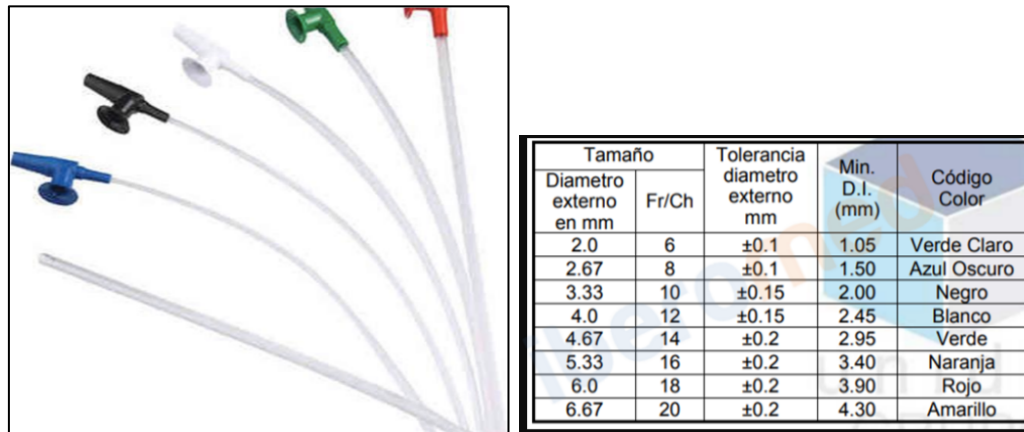


Figura 22.- Imagen de las sondas de aspiración empleadas como tubos de PVC. A la derecha imagen de un cuadro con los diferentes tipos de sondas de aspiración y sus diámetros externos.

#### A.1.2. Biológicos: Segmentos de vena safena y/o arteria mamaria.

Segmentos de vena safena:

Los segmentos de vena safena se obtienen de safenectomías realizadas para el tratamiento de la insuficiencia venosa crónica (Figura 23) por parte del Servicio de Cirugía Vascular del Hospital General Universitario de Alicante.



Figura 23.- Segmento de vena safena en fresco cateterizada para la infusión de un fluido.

Ocasionalmente, se obtuvieron segmentos vasculares arteriales procedentes de amputaciones de miembros inferiores en el contexto de vasculopatías (origen

arterioesclerótico). A diferencia de los primeros, cuya pared se encuentra sana, éstos segundos correspondían a vasos patológicos ateroscleróticos.

El número de especímenes obtenidos con esta fuente no es limitante para el diseño experimental, al tratarse de un servicio que realiza una media superior a las 700 cirugías de forma programada, cifra en aumento en los últimos años (ver Anexo B).

También pueden obtenerse segmentos de vena safena tomados como injertos en intervenciones realizadas por el Servicio de Cirugía Cardíaca para cirugía de revascularización cardíaca (Figura 24). A diferencia de los obtenidos en pacientes con arterioesclerosis, *a priori*, no existe en los primeros, alteración de la pared vascular.

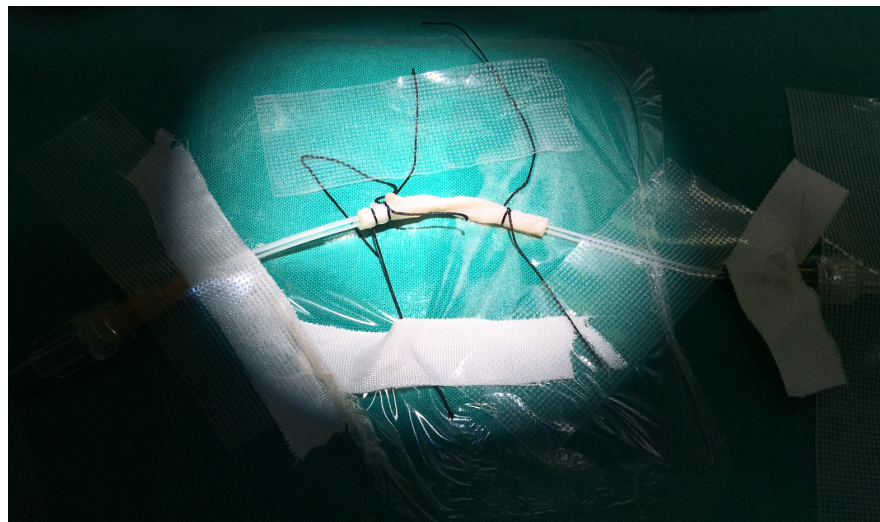


Figura 24- Segmento de vena safena en formol (10 días) cateterizada para la infusión de un fluido.

Segmentos de arteria mamaria:

La disección de la arteria mamaria es una técnica rutinaria en la mayor parte de los procedimientos quirúrgicos realizados por el servicio de Cirugía Cardíaca del Hospital General Universitario de Alicante.

A pesar del elevado número de dichos tratamientos que se realizan en este centro, cifrados en unas 289 cirugías programadas, sin considerar los procedimientos urgentes (ver Anexo B), el número de segmentos de dicha arteria remanentes no empleados en el tratamiento de revascularización cardíaca es inferior al total de fragmentos de vena safena. Sin embargo, tampoco resulta limitante para el diseño del presente estudio a medio plazo.

A.2) Especímenes limitantes:

Arterias disecadas del polígono de Willis de encéfalos de cadáveres humanos donados con fines educacionales a la facultad de medicina de la Universidad Miguel Hernández.

**B) Fluido conductor**

B.1) No limitantes:

B.1.1) No biológicos:

- Suero salino fisiológico 0,9%: disolución acuosa de cloruro de sodio en una proporción de 9 gramos por litro (donde cada mililitro contiene 9 miligramos de cloruro de sodio) con un pH: entre 4,5 -7,0.

B. 1. 2) Biológicos

Fracciones proteicas de origen no humano:

Ovoalbúmina: extraída de la clara del huevo (60-65% de las proteínas totales). Se emplean 500 mililitros de clara de huevo líquida pasteurizada marca Pascual.

B.2) Limitantes

B.2.1) No biológicos

No se han empleado

B.2.2) Biológicos

B.2.2.1) Fracciones proteicas de origen humano:

Albúmina humana (Alburex 20: solución para perfusión intravenosa 200g/L)

Inmunoglobulina humana normal (IgIV):  
Flebogamma DIF 50 mg/ml, solución para perfusión.

B.2.2.2) Sangre humana heparinizada



#### 4.1.2 Material empleado para la Fase de Validación o Fase 2

En esta segunda fase se comprueba la validez del modelo experimental obtenido en la fase previa para considerar la utilidad de la técnica ICG y FLOW 800 aplicándolo en especímenes procedentes de encéfalos humanos.

Se destinan para esta fase los especímenes biológicos limitantes por su escasez, esto es, los sistemas arteriales disecados de encéfalos de cadáveres humanos.

Se denomina Polígono de Willis a la anastomosis entre las dos arterias carótidas internas (circulación anterior) y las dos arterias vertebrales (circulación posterior) de cada encéfalo (Figura 25). Dicha comunicación la comprenden las dos arterias cerebrales anteriores unidas por la arteria comunicante anterior y las dos arterias cerebrales posteriores unidas a la carótida interna por sendas arterias comunicantes posteriores. Esta arquitectura asegura que ambos hemisferios cerebrales mantengan su perfusión sanguínea aún en el caso de que alguna de las mismas se ocluya.

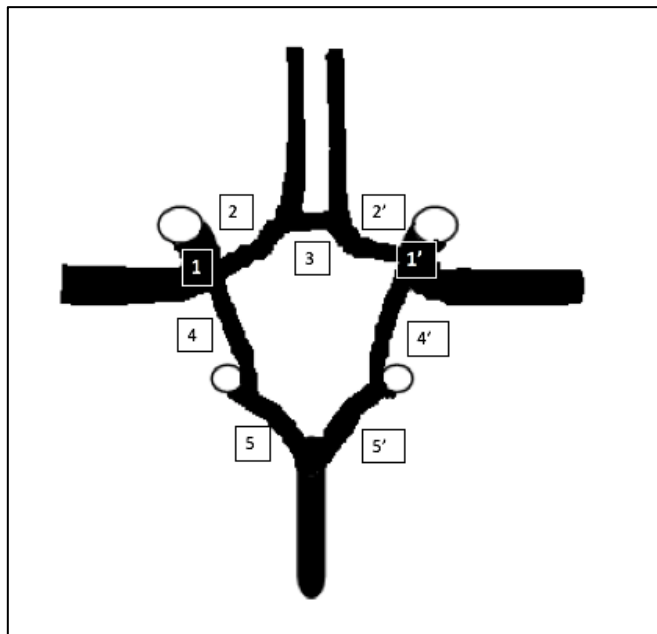


Figura 25.- Esquema (visión basal) de un polígono de Willis y sus arterias constituyentes: 1 y 1': arteria carótida interna y su homóloga contralateral respectivamente; 2 y 2': arteria cerebral anterior, segmento precomunicante o A1; 3: arteria comunicante anterior; 4 y 4': arteria comunicante posterior; 5 y 5': arteria cerebral posterior, segmento precomunicante o P1.

Sin embargo y a pesar de que a lo largo del estudio es frecuente la referencia al uso de los polígonos de Willis como especímenes biológicos, en realidad se han empleado ejemplares con sistemas arteriales encefálicos completos (Figura 26), haciendo valer por tanto, no sólo las arterias previamente descritas, sino también las arterias basilar, ambas vertebrales (segmento intradural o V4) y sendas arterias cerebrales medias (segmentos horizontal o M1 e insular o M2) como se puede ver en la figura a continuación.



Figura 26.- Ejemplo de sistema arterial encefálico disecado, en una visión basal (se señalan numéricamente las arterias del lado derecho, dejando libres las homónimas contralaterales): 1: Arteria carótida interna; 2: Arteria cerebral media (ACM), segmento horizontal o M1, 2': ACM segmento insular o M2; 3: Arteria cerebral anterior; 4: Arteria comunicante anterior; 5: Arteria comunicante posterior; 6: Arteria cerebral posterior; 7: Arteria cerebelosa superior; 8: Arteria basilar; 9: Arteria vertebral; 10: Arteria cerebelosa posteroinferior (PICA); 11: Arteria espinal anterior.

### 4.1.3 Material común a ambas fases

#### Verde de indocianina (ICG):

A lo largo del estudio, tanto para la primera como para la segunda fase, se ha empleado verde de indocianina, de la marca Verdye®, en viales de vidrio ámbar que contienen 25 mg de verde de indocianina en polvo (para reconstituir con 5 ml de agua para preparaciones inyectables). Cada recipiente está herméticamente cerrado con un tapón de goma gris y fijado con una tapa de aluminio cubierta por una tapa de polipropileno azul que se retira antes de su utilización (Figura 27).



Figura 27.-. Vial de verde de indocianina empleado durante el estudio

#### Cánula vascular

Se emplean cánulas vasculares de punta roma de 3 mm tipo DLP Medtronic, usadas habitualmente en el quirófano de Cirugía Cardíaca, que permiten un flujo unidireccional anterógrado, impidiendo el reflujo una vez canalizado el vaso en cuestión, cuya forma cónica facilita la canulación de las estructuras vasculares de interés (Figura 28).



Figura 28.- Detalle de la cánula unidireccional Medtronic.

### Microscopio quirúrgico:

Se emplea el microscopio quirúrgico OPMI® Pentero® 900 de Zeiss (figura 29), equipado con un sistema de detección de infrarrojos (*near infrared integrated videoangiography detection system*) y herramienta FLOW 800® (INFRARED 800, Carl Zeiss Medite AG, Oberkochen, Germany.)



Figura 29.- Microscopio quirúrgico empleado y mesa de trabajo.

### **Micropipeta**

Micropipeta de un solo canal de laboratorio, de volumen ajustable, con un rango entre 20-200 microlitros ( $\mu\text{L}$ ) marca Four E's Scientific (Figura 30).

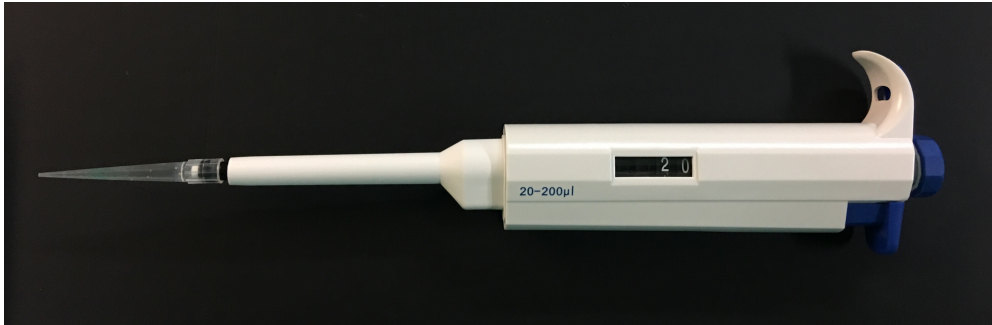


Figura 30.- Micropipeta empleada en el trabajo.

### **Micrómetro**

Sistema de medición micrométrico, con un rango de precisión que oscila desde 0.001 milímetros (mm) a 25 mm. El cilindro de medición presenta una superficie circular plana (figura 31).



Figura 31 : Detalle del micrómetro digital empleado.

### **Bomba inyectora:**

Bomba inyectora de contraste OptiStat, de administración manual (figura 32), habitualmente empleada para la administración de contraste en la realización de



tomografía axial computerizada (TAC) que permite la inyección de bolos desde un mínimo de 1 ml de volumen a una velocidad mínima de hasta 1 ml por segundo (ml/s).



Figura 32.- Imagen de la bomba inyectora, indicando los controles manuales para modificar el volumen del bolo y la velocidad de infusión del mismo. El botón verde central activa la inyección. Junto a la bomba, imagen de la jeringa precargada para la inyección.

Para la administración del fluido deseado, normalmente contraste, se emplea una jeringa precargada de 100 ml, que para el estudio actual será rellena del fluido conductor que corresponda. El sistema se conecta al espécimen a través de un sistema de tubuladura transparente o alargadera enroscada (Figura 33).

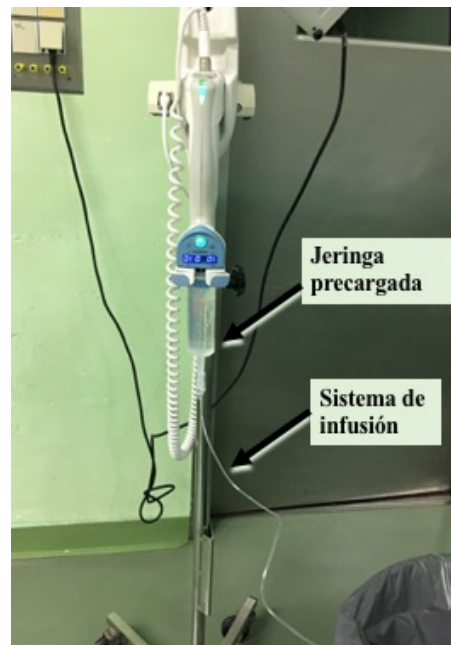


Figura 33.- Bomba inyectora con la jeringa cargada y conectada al sistema, preparada para la infusión.

## 4.2 MÉTODO

En un intento de hacer un uso racional de los medios de que se dispone, el objetivo de esta fase es encontrar un espécimen y un fluido conductor de la molécula de ICG que siendo los menos complejos a nivel biológico permitan la generación de pulsos repetidos de fluorescencia y su interpretación, evitando la experimentación animal.

La línea experimental sigue pues el principio de dar prioridad a los recursos no limitantes. La constatación experimental que motivó el presente trabajo doctoral de que el suero salino como vehículo de ICG conduce a la fijación permanente de éste a la pared del vaso y su consecuente inutilización posterior, lleva al razonamiento de que es preciso emplear los recursos no limitados en número (venas safenas primordialmente) y por tanto no limitantes, en la fases iniciales de esta experimentación y reservar los recursos limitados (vasos cerebrales humanos de cadáver) para la fase final de confirmación del modelo experimental desarrollado.

Es preciso recalcar que los modelos vivos animales contarían con la ventaja de no precisar provisionarse de sangre circulante por el hecho inherente de estar vivos y disponer de un sistema circulatorio *per se*. Por el contrario, los modelos inertes empleados en este estudio deben complementarse no sólo con un fluido circulatorio sino también con un sistema de circulación.

Siguiendo con la línea de razonamiento anterior, en fases iniciales se recurrirá al suero salino como vehículo por ser el menos complejo biológicamente, con solutos proteicos gradualmente más complejos y, por último, se utilizará sangre humana, solamente en caso de no conseguir reproducir las condiciones de repetición de pulsos de fluorescencia utilizando los fluidos conductores más sencillos previamente.



#### 4.2.1 Método común a ambas fases de la investigación

Tanto en la fase de iniciación técnica como en la fase de validación del estudio, se emplea como método fundamental la realización repetida de pulsos de vídeo-angiografía por fluorescencia con verde de indocianina como se expone a continuación:

##### **Pulsos secuenciales de vídeo-angiografía por fluorescencia.**

A la administración de la molécula verde de indocianina para su inmediata visualización bajo la luz del microscopio quirúrgico se le denomina **bolo o pulso**.

Para poder suministrar el verde de indocianina es imprescindible diluirlo previamente puesto que se presenta en forma de polvo. Cada vial que contiene 25 mg de ICG se diluye con 5 ml de agua destilada estéril para preparaciones inyectables, quedando la molécula por tanto a una concentración de 5 mg/ml. De esta mezcla se tomarán diferentes cantidades en función las necesidades surgidas en cada fase del estudio, como se refiere más adelante.

La dosis recomendada para cada pulso es la inyección de un bolo de 25 mg de ICG, en definitiva, 5 ml de la dilución previamente detallada, que es posible repetir en varias ocasiones sin exceder el máximo de 5mg por kilogramo (kg) de peso del paciente al día.

Para la adecuada detección de fluorescencia es importante que el microscopio se disponga a una distancia focal de entre 25-30 cm del espécimen, lo que viene prefijado por el propio programa informático del aparato, apareciendo un mensaje en la pantalla cuando dicha distancia no es la adecuada (Figura 34).

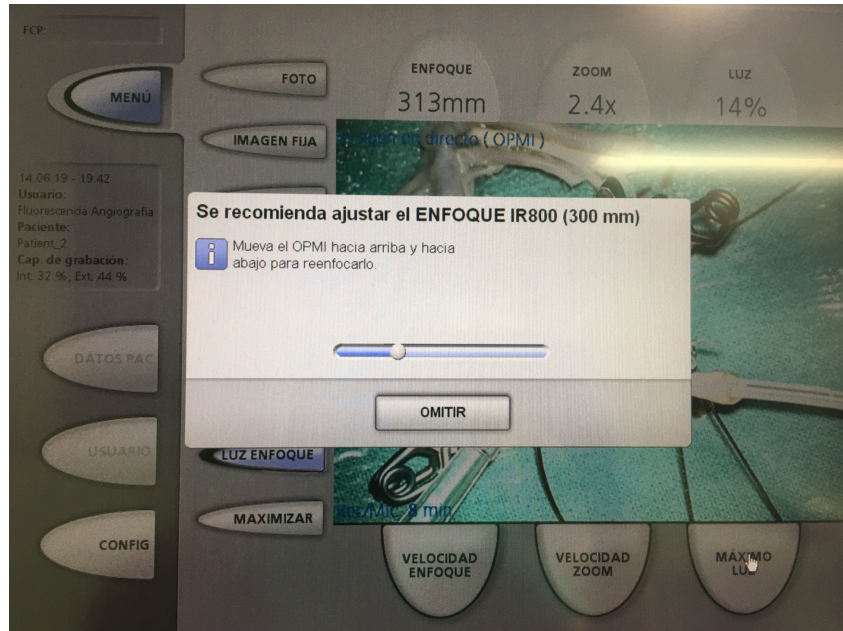


Figura 34.- Mensaje automático para ajustar la distancia focal del microscopio antes de realizar el pulso de ICG.

El inicio del modo de visualización y grabación INFRARED 800 es ordenado pulsando un botón en uno de los mandos del microscopio (varía en función de la configuración del mismo). Tras la corrección de la distancia focal en caso de ser necesaria, se pulsa por segunda vez el botón previo, iniciándose así el módulo de visualización de fluorescencia, momento en el que se administra el verde de indocianina según el bolo determinado previamente. La fluorescencia del ICG relevante, en condiciones intraoperatorias reales suele aparecer unos 10 segundos tras la administración del bolo, desapareciendo unos 30 segundos después. Sin embargo, para una mejor caracterización de los datos de flujo el fabricante aconseja mantener la grabación hasta 60 segundos aproximadamente. En este trabajo se han intentado reproducir en cada caso los parámetros recomendados, manteniendo tiempos constantes de grabación similares en todos los pulsos.

Resulta de suma importancia que durante la grabación de la fluorescencia no se manipule ninguna de las estructuras estudiadas ni se realice movimiento alguno sobre el

campo observado porque esto podría alterar la capacidad de visualización de la fluorescencia y por tanto su interpretación.

Al detener la grabación en modo de fluorescencia se reproduce automáticamente en vídeo el pulso de vídeo-angiografía en 2 velocidades: una denominada “*short replay*” donde se recogen los segundos de máxima intensidad de fluorescencia, seguida de un segundo modo de vídeo denominado “*long replay*” que recoge el pulso completo, en este caso, los cerca de 60 segundos registrados.

En la primera reproducción (*short replay*) se obtiene información cualitativa, en definitiva, si existe o no fluorescencia en el espécimen observado, tras la administración de ICG en la dilución propuesta, lo que se recoge como SÍ o NO.

En la segunda reproducción (*long replay*) se obtiene información igualmente cualitativa, pero para poder determinar si desaparece la fluorescencia tras el momento de máxima intensidad de la misma o persiste, lo que se comprobará posteriormente visualizando el espécimen bajo la luz microscópica sin una nueva administración de ICG. En definitiva, por cada pulso se recogen dos parámetros:

Fluorescencia tras el primer pulso: SÍ (+) o NO (-), como valor cualitativo.

Fluorescencia residual tras el pulso: SÍ (+) o NO (-), igualmente como valor cualitativo.

Tras la reproducción de cada pulso y su vídeo correspondiente, los valores obtenidos son procesados por el microscopio arrojando dos tipos de datos:

- Mapas de máximo de intensidad de fluorescencia: se visualizan en escala de color entre blanco y negro, dados en términos de unidades arbitrarias de intensidad (Figuras 35 y 36).

- Mapas de retardo de intensidad: se visualizan con escala de color desde rojo al azul (figura 37), dados objetivamente, aunque de modo impreciso en términos de tiempo (segundos).

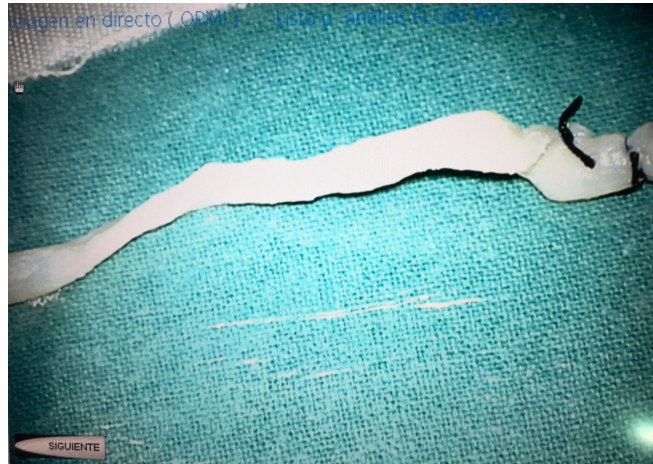


Figura 35.- Segmento de vena safena formolizada visualizada mientras se procesan los datos de fluorescencia tras la video-angiografía.



Figura 36.- Mapa de máximo de intensidad de fluorescencia del segmento de vena safena formolizada anterior: véase la escala de color que ofrece información cualitativa sobre la existencia de fluorescencia y su intensidad, así como cuantitativo de forma aproximada en la columna de la izquierda, en términos de AI.

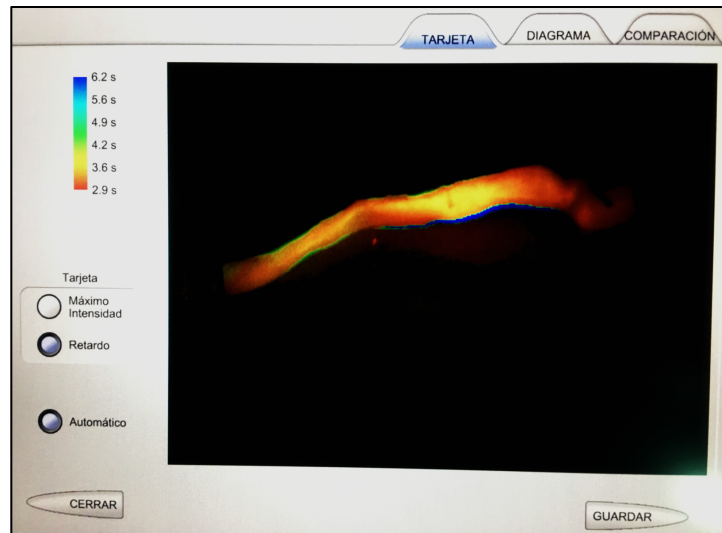


Figura 37.- Mapa de máximo de retardo de intensidad del segmento de vena safena formolizada anterior: véase la escala de color que ofrece información cualitativa sobre el tiempo de tránsito de la fluorescencia, así como cuantitativo de forma aproximada en la columna de la izquierda, en términos de segundos.

Para cada espécimen se realiza un primer pulso registrando estos datos, comprobando a continuación si queda fluorescencia residual y en caso negativo se repite el pulso, las veces precisadas, manteniendo las mismas condiciones del inicial.

#### **4.2.2. Método y resultados de la fase de iniciación técnica o fase 1**

Con la idea de intentar reproducir en el laboratorio unas condiciones similares a las de la práctica clínica con el uso de la vídeo-angiografía, se pensó en emplear sistemas arteriales de cadáveres humanos.

Para ello se obtuvo parte de un sistema encefálico arterial basal de cadáver humano en la sala de disección del Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández de Elche, como se desarrollará en detalle más adelante, comprendiendo ambas arterias cerebrales posteriores, cerebelosas superiores, arteria basilar, arterias cerebelosas anteroinferiores (AICA) y ambas arterias vertebrales (Figura 38).

En éste se instauró un sistema circulatorio, canulando con un tubo de plástico una la arteria vertebral izquierda, con oclusión de todas las ramas colaterales y perforantes del sistema, ocluyendo además la arteria vertebral contralateral para evitar en la medida de lo posible una fuga del fluido empleado para la administración del verde de indocianina y valorar el flujo unidireccional en una determinada arteria.



Figura 38.- Visión basal del sistema arterial encefálico canulado para la infusión de fluidos: 1: cánula de plástico en el interior de 2: Arteria vertebral izquierda; 3: A. Basilar; 4: A. Vertebral derecha; 5: A. Espinal anterior ocluida; 6: rama perforante de la A. Basilar ocluida; 7: A. Cerebelosa anteroinferior (AICA) izquierda ocluida.

Como fluido conductor de ICG se emplea una infusión continua de suero fisiológico colocado sobre una bomba infusora a una presión de 120 milímetros de mercurio (mmHg), queriendo asemejar el gasto cardíaco *in vivo*.

Sobre esta infusión continua se administra un bolo de 5 ml de la dilución estándar previamente mencionada visualizando una intensa fluorescencia en todo el sistema arterial empleado, que por otro lado, queda impregnado de tinte verde. (Ver Vídeo 2)

Se realizan lavados del espécimen con suero fisiológico y a pesar de ello, persiste la tinción y, por ende, la fluorescencia, como se comprueba al utilizar el microscópico con la luz de infrarrojos sin administrar más ICG (Figuras 39 y 40).





Figura 39.- Imagen del mismo polígono anterior en donde se aprecia macroscópicamente el tinte verde en todo el sistema arterial.

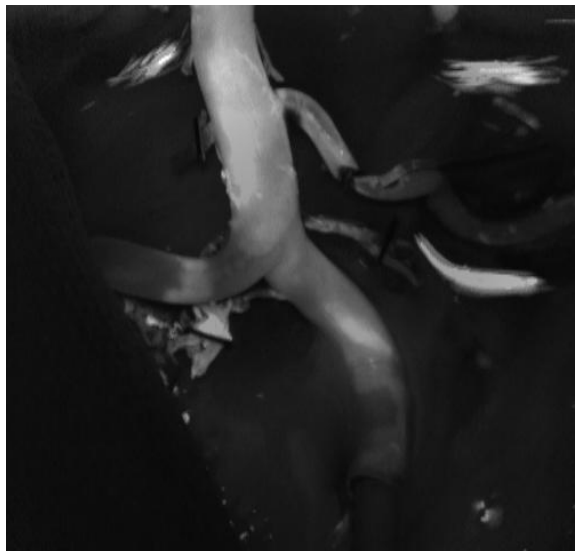


Figura 40.- Fluorescencia residual en el sistema arterial sin que se haya administrado una nueva dosis de ICG.

Aun así se decide repetir un pulso con ICG para valorar si es posible detectar cambios en la fluorescencia y se comprueba que el remanente de aquélla impide la visualización de nuevos pulsos.

De ello se infiere la necesidad de diseñar un modelo experimental que permita la reproducción de pulsos repetidos de ICG en las condiciones más cercanas a la realidad posibles.



### **Búsqueda del espécimen, fluido y dosis de ICG adecuados para el modelo experimental**

El método diseñado se fundamenta en la realización de baterías de pulsos de fluorescencia empleando especímenes y fluidos con la menor complejidad estructural y biológica posible.

La idoneidad del modelo vendrá dada por el cumplimiento de dos circunstancias que constituyen condiciones *sine quibus non*:

- 1) Fluorescencia: Tras la realización de un primer pulso debe permitir registrar fluorescencia.
- 2) Ausencia de residuo: Que no se recoja fluorescencia residual al visualizar el espécimen habiendo administrado un pulso previamente.

Se progresa en la secuencia de complejidad biológica de testeo con el mismo tipo de espécimen si y sólo si, se considera apto para ambos parámetros. En caso contrario no se continúa la línea experimental con ese espécimen y /o fluido conductor, pasando a emplear otros de mayor complejidad biológica.

Así pues, en orden de complejidad biológica y disponibilidad limitante creciente los especímenes empleados en esta fase son: tubos de PVC < vena safena formolizada < arteria mamaria formolizada < vena safena en fresco < arteria mamaria en fresco.

Del mismo modo, los fluidos conductores se ordenarían de la manera siguiente: suero salino con ovoalbúmina < suero salino con albúmina humana < suero salino con albúmina humana y gammaglobulina humana < sangre humana.

Siguiendo el principio de complejidad biológica creciente, el espécimen más sencillo en cuanto a su origen inerte y su disponibilidad no limitante es el uso de tubos de PVC.

De los aspectos farmacocinéticos ya mencionados de la molécula de ICG, cabe destacar la fijación selectiva del ICG a las proteínas plasmáticas. Por ello, en un intento de asemejar el fluido conductor al plasma, se inicia el estudio con suero fisiológico con ovoalbúmina disuelta en él.

Se infunde de forma continua una mezcla de 450 ml de suero fisiológico con 50 ml de clara de huevo (Figura 41), atendiendo a que la ovoalbúmina supone el 65% de la composición de la misma, y se compara la administración del bolo de verde de indocianina con una perfusión de suero fisiológico (Figura 42).



Figura 41.- Preparados de suero fisiológico con ovoalbúmina (A) y sólo fisiológico (F)

En ambos sistemas se administra un bolo de ICG de 0,01 ml de la mezcla estándar (25mg de verde de indocianina disueltos en 5 ml de agua estéril, concentración de ICG 5mg/ml), la menor cantidad medible de líquido que se puede tomar con las jeringas de que se dispone. Dicha cantidad ha sido adaptada a tenor de los resultados en la primera

experiencia. La intensa fluorescencia obtenida en el caso originario del estudio podría estar relacionada con una dosis excesiva de ICG.



Figura 42.- Sistema de inyección simultánea de verde de indocianina en ambos preparados (A: ovoalbúmina, F: fisiológico).

El resultado es que el fluido con la ovoalbúmina es tan denso que no permite la infusión de la mezcla a la misma velocidad que la de suero fisiológico, incluso repitiendo el experimento empleando cantidades decrecientes de clara de huevo (Ver vídeo 3). Por otro lado, no se observa a penas fluorescencia como se muestra en la figura a continuación (Figura 43).

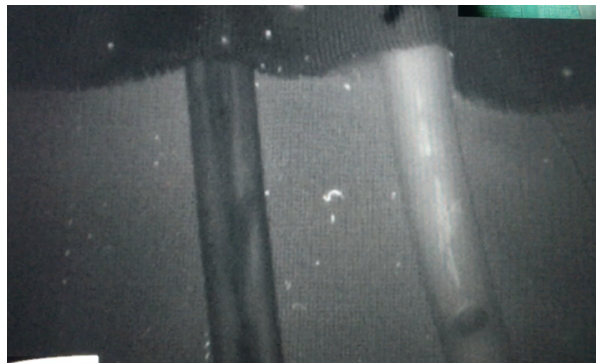


Figura 43.- La tubuladora de la izquierda porta la infusión con ovoalbúmina e ICG. La tubuladora derecha porta la suero fisiológico e ICG.

Por tanto no cumple la primera premisa del modelo de experimentación, es decir, la obtención de fluorescencia, pudiendo concluir que el empleo de albúmina de huevo no es adecuado para la realización de pulsos reproducibles de vídeo-angiografía en este estudio, sin que se realicen nuevos experimentos con este fluido.

Se realizarán nuevas pruebas con otro fluido más parecido al plasma.

En un intento de aproximarse a las proporciones plasmáticas de las proteínas (7% del volumen total, 60% albúmina, 40% globulinas), de los 500 ml de suero fisiológico previo se toman 465 ml y los 35 ml restantes se completan respetando las proporciones anteriores con 21 ml de albúmina humana en preparado inyectable para infusión intravenosa y 14 ml de inmunoglobulina G humana Grifols.

Se emplea el mismo tipo de espécimen, esto es, tubos de PVC, obteniendo fluorescencia moderada pero también residual por lo que no se emplea este espécimen nuevamente, repitiendo la prueba con un fragmento de vena safena conservada en formol.

Se canula el segmento de vena safena por ambos extremos y se conecta al sistema de infusión continua de la mezcla de suero salino y fracciones proteicas humanas referida previamente con un bolo de 0,01 ml de ICG de la dilución estándar.

Se observa una fluorescencia moderada tras el pulso de ICG (cumple la primera condición para ser el modelo experimental) pero la pared del vaso queda igualmente impregnada de colorante verde, aunque con menor intensidad, por tanto, no se repite un segundo pulso con este mismo espécimen (Ver vídeo 4).

Aumentando en complejidad biológica y de disponibilidad se repite el mismo procedimiento con un fragmento de arteria mamaria conservada en formol, intentando dilucidar si la fijación observada tuviera relación con la estructura de la pared venosa compuesta por 3 capas (túnica interna, túnica media y adventicia) y carente de las láminas

elástica interna y externa de las paredes arteriales. Sin embargo, se obtuvo un resultado similar en cuanto a fluorescencia inicial (moderada) y residual.

Suponiendo que el fluido conductor sea apropiado puesto que permite la fluorescencia con menor intensidad de residuo cabe preguntarse si la impregnación de las paredes vasculares con ICG depende de alguna alteración estructural de las mismas que pudiera derivarse del uso de formol.

Ante esta hipótesis de que la fijación del contraste a las paredes de los vasos se deba a la desestructuración del endotelio secundaria al uso de formol, se toman dos medidas:

1.- Espécimen en fresco: Realizar una prueba en las mismas condiciones de fluido conductor y bolo de ICG, pero empleando un segmento vascular en fresco.

2.- Estudio anatomopatológico: Analizar histológicamente si se verifica algún daño en la estructura del vaso comparando un vaso fresco con vaso formolizado tras realizar en ambos segmentos los pulsos con ICG.

### **Uso de especímenes en fresco**

Para la primera medida se emplea un segmento de arteria femoral humana en fresco (obtenida por Cirugía Vasculat del Hospital General Universitario de Alicante, procedente de una cirugía de amputación de miembro inferior por patología aterosclerótica, fragmento que iba a ser desechado). Tras su extracción, se canaliza de forma inmediata en fresco, de la misma manera que en los experimentos previos y se realiza infusión continua de suero con globulinas y un bolo de ICG en idénticas condiciones a las anteriores. Se registra la fluorescencia obtenida, objetivando también fluorescencia residual a pesar de no estar impregnado con formol.

Una posible explicación a este hecho es que la arteria empleada presentaba una severa ateromatosis, precisando la extracción de las placas de ateroma antes de la canulación del vaso, es decir, que la endarterectomía previa al pulso de ICG v podría ser el motivo de fijación de éste.

Por ello se repite el procedimiento empleando un segmento de arteria mamaria humana sana en fresco (obtenida por Cirugía Cardíaca del Hospital General Universitario de Alicante, cirugía de revascularización coronaria. Se registra la fluorescencia tras el primer pulso, cumpliendo la primera premisa, pero persiste igualmente fluorescencia residual a pesar de ser un vaso sano y no estar impregnado en formol, ni haber sometido su endotelio a manipulación.

De ello se infiere que la posible desestructuración tisular secundaria al efecto del formol o a la endarterectomía no es la causa de la fijación del producto.

Si bien, sí que se verifica **un cambio cualitativo** porque sí que es posible visualizar el paso de un nuevo bolo de contraste a pesar de haberse quedado fijado previamente, hecho que no era posible en los experimentos previos.

Se repite el experimento empleando segmentos de vena safena obteniendo los mismos resultados.

#### **Estudio anatomopatológico:**

Para la segunda medida, se remiten para estudio histológico por parte del servicio de Anatomía Patológica del Hospital General de Alicante, dos segmentos vasculares con una importante fluorescencia residual uno preservado en formol (Figura 44) y el otro en fresco sin que se haya descubierto alteración estructural alguna que justifique este comportamiento del ICG (Figura 45).

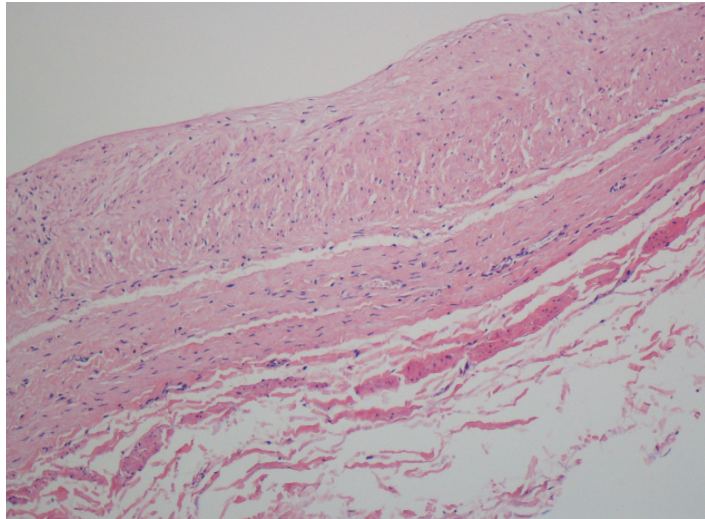


Figura 44.- Corte histológico de vena safena formolizada que mostraba fluorescencia residual tras un pulso de ICG.

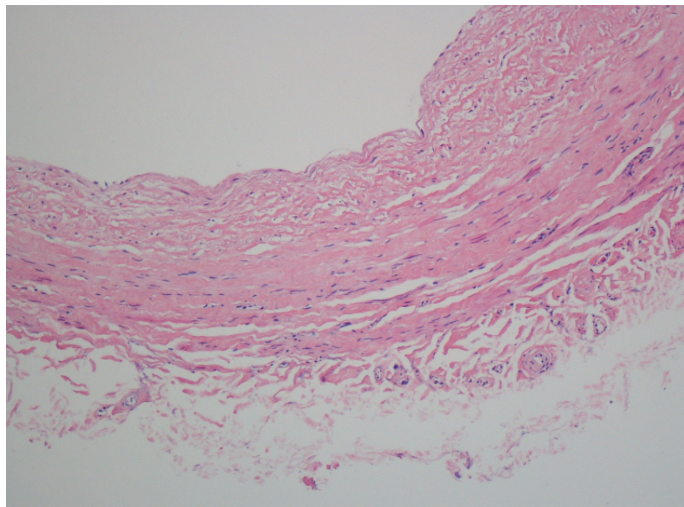


Figura 45.- Corte histológico de vena safena visualizada en fresco, que mostraba fluorescencia residual tras un pulso de ICG, sin diferencias con respecto a la de la imagen anterior.

Los resultados hasta el momento no permiten avanzar significativamente en la consecución de un modelo experimental empleando recursos no complejos ni de disponibilidad limitante. Se propuso otro brazo experimental donde se planteó la posibilidad de impermeabilizar el endotelio con medios físicos.

Teniendo en cuenta que la fluorescencia se registra por iluminación a través del espesor de la pared del vaso, cabe plantearse si la impermeabilización del interior del vaso con un aerosol de silicona podría impedir la fijación del ICG.

### **Impermeabilización del segmento arterial**

Se diseñó un pulso experimental con un segmento no empleado de arteria vertebral formolizada remanente del espécimen empleado en otra etapa de experimentación inicial.

Para intentar evitar la fijación del ICG a las paredes del vaso arterial, sobre otro segmento distinto (de arteria vertebral de otro polígono de willis disecado de cadáver humano) se impregna la pared interior con un aerosol sellante de impermeabilización (Novadry <sup>TM</sup>). Se procede del mismo modo que en etapas previas en cuanto a la cateterización del segmento arterial y preparación del suero que se perfunde.

Al realizar la vídeo-angiografía se observa que el contraste no se fija a las paredes de la arteria pero tampoco permite visualizar la fluorescencia a través de la pared del vaso, que incluso se ve en negativo.

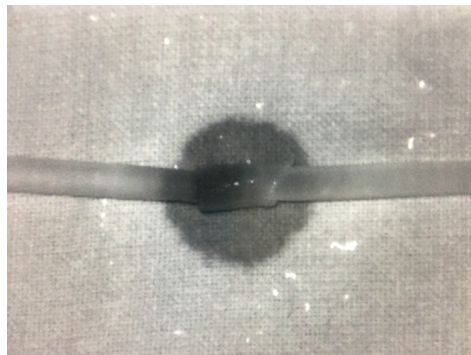


Figura 46.- Segmento de vaso arterial impermeabilizado cateterizado con infusión de verde de indocianina, que no permite visualizar la fluorescencia a su través.



Para facilitar la comprensión, se resumen en una tabla todos los materiales empleados hasta el momento con sus resultados de fluorescencia y fijación (Tabla 2)

Tabla 2.- Tabla resumen del material, método y resultado de la fase 1.

ESPÉCIMEN		FLUIDO CONDUCTOR (vol + soluto)	BOLO ICG (vol, [c])	FLUOR. PULSO 1	FLUOR. RESIDUAL	FLUOR. PULSO 2	OBSERVACIÓN
POLIGONO WILLIS CADÁVER		500ml SS	5 ml, (5mg/ml)	+++	+++	-	La fijación inicial impide la repetición de pulsos
TUBOS PVC		450 ml SS + 50 ml ovoalbúmina	0,01 ml, (5mg/ml)	+	-	∅	Elevada densidad del fluido.
		465 ml SS + 21 ml Alb + 14 ml IgG	0,01 ml (5mg/ml)+ SS+Alb+IgG	++	+++	∅	Colorante fijado en las paredes del tubo.
FORMOL	VENA SAFENA	465 ml SS +	0,01 ml (5mg/ml)+ SS+Alb+IgG	++	+++	∅	Colorante fijado en las paredes del vaso.
	ARTERIA MAMARIA	21 ml Alb + 14 ml IgG		++	+++	∅	Colorante fijado en las paredes del vaso.
	ARTERIA VERTEBRAL			++	++	∅	Colorante fijado en las paredes del vaso.
FRESCO	ARTERIA FEMORAL (arterioscler.)	465 ml SS + 21 ml Alb + 14 ml IgG	0,01 ml (5mg/ml)+ SS+Alb+IgG	++	+++	∅	Colorante fijado en las paredes del vaso.
	ARTERIA MAMARIA SANA			++	++	++	Colorante fijado en las paredes del vaso.
	VENA SAFENA SANA			++	++	++	Colorante fijado en las paredes del vaso.
ARTERIA VERTEBRAL CADÁVER IMPERMEAB.		465 ml SS + 21 ml Alb + 14 ml IgG	0,01 ml (5mg/ml)+ SS+Alb+IgG	-	-	∅	No permite visualizar fluorescencia.

Tabla 2: Vol: volumen, expresado en ml; [c]: concentración: expresada en mg/ml; SS: suero salino; FLUOR. : Fluorescencia, codificada como: Ausente: (-); Presente: + (leve), ++ (moderada), +++ (intensa), ∅: no se ha realizado, Alb: albúmina humana, IgG: inmunoglobulina G, IMPERMEAB.: impermeabilizada.

Parece claro que los resultados no dependen del modo de conservación del espécimen, en fresco o en formol, ni del origen del mismo, arterial o venoso. Queda pues por discernir si el escollo a salvar es el fluido conductor.

El empleo de suero salino con distintas soluciones proteicas como vehículo de ICG no ha superado las premisas iniciales fijadas para la experimentación, con lo cual se pasa a una segunda fase experimental donde se procede a buscar una fuente de plasma sanguíneo que cumpla las condiciones de economía de recursos.

### **Fluido conductor biológico**

En esta segunda fase de iniciación técnica se intenta valorar la aptitud de la sangre como fluido conductor en los distintos especímenes, atendiendo al principio de complejidad técnica creciente, así como la cantidad mínima imprescindible de ICG, ambos con el fin de conseguir fluorescencia sin dejar residuo de la misma.

Tal y como se ha descrito en apartados precedentes, y previa autorización del paciente para emplear su material biológico, se recurre a la utilización de sangre excedente de los procedimientos de Cirugía Cardíaca con máquina de circulación extracorpórea que, a modo de residuo y en cantidades aproximadas de 50 ml por procedimiento, es desechada habitualmente para su eliminación por incineración.

Tratando de mantener proporciones similares a las empleadas en el vivo y teniendo en cuenta que para el volumen medio sanguíneo de un adulto de 4500 ml se emplea un bolo de 5ml de ICG de la dilución estándar recomendada de 5mg/ml, se calcula que para un volumen aproximado de 50 ml de sangre heparinizada debería emplearse un bolo de 0,05 ml de ICG de la misma concentración previa.

En esta muestra sanguínea de 50 ml, se diluyen 0,1ml de ICG de la concentración previa (valor mínimo que es posible recoger con los medios disponibles, como mejor aproximación a los 0,05ml calculados). De estos 50 ml de sangre con ICG diluido se infunden bolos de 10 ml que se consideran como los pulsos para la vídeo-angiografía (Figura 47).

Para realizar dichas infusiones de forma continua, el fluido sanguíneo se almacena en bolsas para administración intravenosa y se colocan en sistemas de presión a 120 mmHg, remedando las condiciones de la práctica clínica.

Se obtiene un segmento de vena safena humana (Cirugía vascular, cirugía de insuficiencia venosa). Una vez canulada, se inicia una infusión continua con otros 50 ml de sangre fresca heparinizada interrumpida por los bolos de sangre mezclada con ICG (Figura 48).



Figura 47.- Sistemas de presión con que se realiza la infusión continua de sangre.

Se realiza un primer pulso con 10 ml de la mezcla previamente relatada registrando la fluorescencia obtenida con el mapa de intensidad, así como el de retardo de intensidad-FLOW 800 y se lava con la infusión continua de sangre fresca heparinizada.

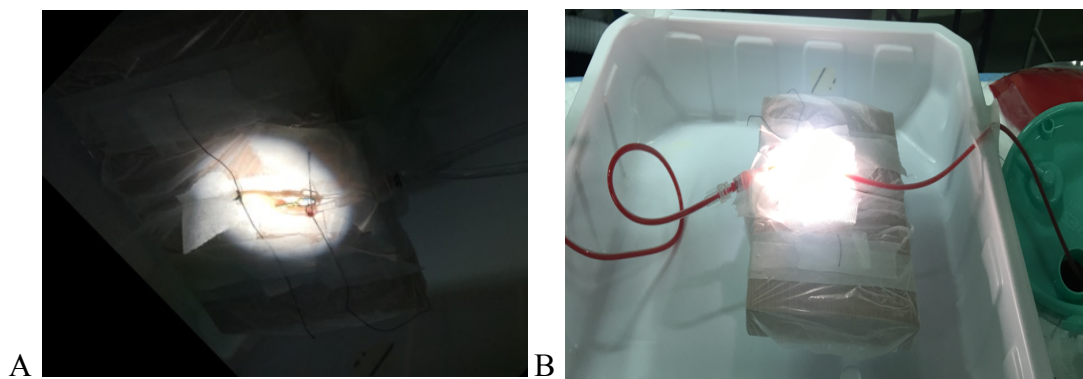


Figura 48.-: A: espécimen vena safena canulada preparada para la infusión; B: infusión de sangre continua a través del segmento de vena safena.

A los 15 minutos se realiza una segunda visualización con microscopio en modo infrarrojos sin inyectar bolo de ICG y se observa que la pared del vaso ha quedado teñida pero únicamente en un pequeño segmento de la misma.

Se efectúa un segundo pulso con ICG, obteniendo fluorescencia y observando fijación posterior en el mismo segmento previo de la pared venosa, quedando el resto de vaso libre de fluorescencia.

De ello puede inferirse que usando sangre heparinizada se consigue obtener fluorescencia, lo que cumpliría la primera condición para constituir un modelo experimental, y además el grado de fijación del ICG a la pared es menor, lo que, aunque es un cambio cualitativo significativo respecto a las experiencias previas, todavía no permite su uso como modelo experimental ideal de fluido conductor en este trabajo.

#### **Obtención de una dilución mínima de ICG para permitir fluorescencia sin fijación a la pared del vaso estudiado**

De los resultados obtenidos en el experimento previo, se plantea la hipótesis de si la dosis empleada de este producto podría continuar siendo demasiado elevada para el espécimen empleado respecto de las proporciones empleadas en el vivo.

Así se hace necesario encontrar una dosis mínima de ICG que permita la emisión de fluorescencia a través del vaso estudiado sin que se genere fijación a la pared del mismo.

Se diseña una nueva batería de pulsos empleando una micropipeta sensible entre 20 a 200 microlitros ( $\mu\text{L}$ ) para tomar la muestra de ICG.

Se inicia el experimento utilizando la dosis mínima medible con la micropipeta, 20  $\mu\text{L}$  (un 0,4% de la dosis empleada previamente), y se repetirá el procedimiento duplicando la dosis sucesivamente para, contrastando los resultados, determinar aquella dosis que permita una fluorescencia adecuada sin fijación a la pared o con la mínima fluorescencia remanente que no interfiera en la realización y ulterior interpretación de nuevos pulsos de ICG.

En esta ocasión de la muestra de sangre heparinizada se extraen 10 ml en los que se diluyen 20  $\mu\text{L}$  de ICG de la concentración previa; y ésta es la cantidad que se considera como dosis bolo de partida de ICG , a través de un segmento de vena safena (Figura 49).

Diluyendo los 20  $\mu\text{L}$  de ICG tomados de la dilución estándar (5mg/ml de ICG) en 10 ml, se administran 0,1 mg de la molécula quedando ésta en una concentración final de 0,01 mg/ml, superponible a las condiciones in vivo.

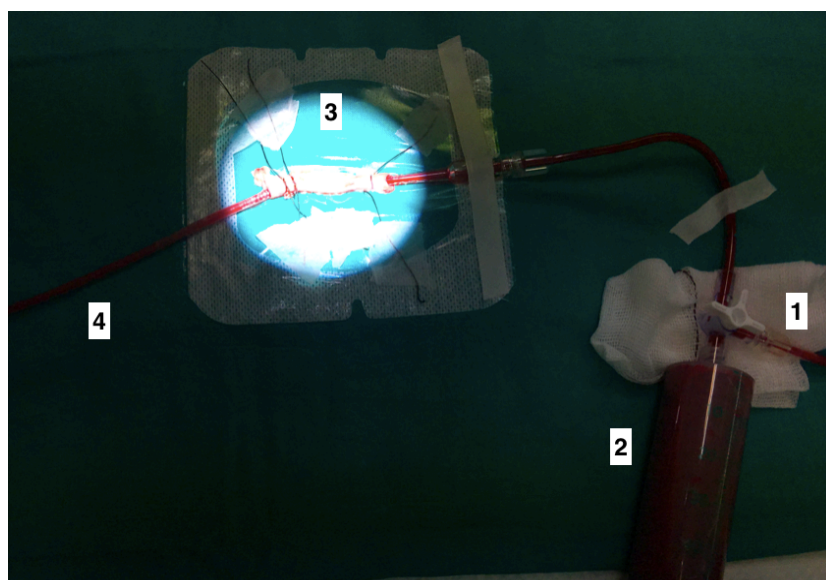


Figura 49.- Sistema de estudio: 1. Cánula aferente para infusión continua de sangre. 2: jeringa con la mezcla de ICG para la infusión de bolos. 3: vaso estudiado canulado. 4: cánula eferente.

Con estas premisas, se realiza un primer pulso y se objetiva fijación del contraste en las paredes del vaso, aunque con menor intensidad que en experimentos previos.

En un intento de diluir la cantidad de ICG administrada se prepara un segundo bolo con 20  $\mu$ L de ICG disueltos en 40  $\mu$ L de suero fisiológico y 10 ml de sangre, pero continúa observándose fijación del contraste. Lo que sucede igualmente al realizar un tercer bolo doblando la dilución, empleando 80  $\mu$ L de suero fisiológico.

Ello lleva a deducir que la fijación de ICG depende no sólo del volumen de dicho compuesto, 20  $\mu$ L, sino también del volumen de sangre en que se diluye, ergo, retomando el razonamiento inicial, si el bolo de ICG con la cantidad estándar se suele administrar para un gasto cardiaco promedio de 4500 ml por minuto, con un peso promedio de entre 70-80 kg, la dosis de ICG que debe circular por un modelo experimental de a penas unos miligramos de peso debe diluirse en una cantidad de sangre proporcional al dicho modelo.

Empleando un segmento diferente de vena safena, se pipetea nuevamente otros 20  $\mu$ L de la dilución estándar de ICG (5mg/ml) pero se diluyen en 50 ml de sangre fresca heparinizada, administrándolo al sistema de infusión con un bolo de 10 ml de esta mezcla.

El resultado es que con esta dilución se visualiza adecuadamente el pulso de fluorescencia (primer supuesto del modelo experimental) y tras lavar el segmento con sangre fresca se confirma que no se produce fijación residual significativa en la pared vascular (Figura 50).

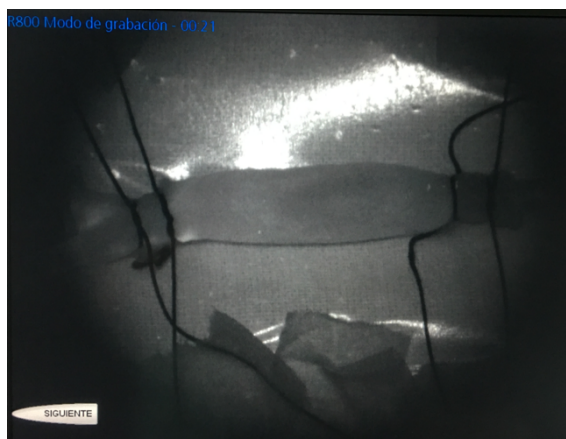


Figura 50.- Segmento de vena safena iluminado con filtro del microscopio quirúrgico para fluorescencia, objetivando la ausencia de fijación de ICG en las paredes del vaso tras un pulso previo.

Tras realizar un segundo pulso con las mismas características se visualiza bien la fluorescencia y de nuevo se confirma que no se produce fijación en la pared del vaso.

La dilución, por tanto, aparentemente válida para reproducir las condiciones quirúrgicas *ex vivo* parece ser ésta: pulso de 10 ml de una mezcla de 20  $\mu$ L de la dilución estándar, 5mg/ml, de ICG en 50 ml de sangre fresca heparinizada (Ver vídeo 5).

#### **Comprobación de la dilución mínima para obtener fluorescencia sin fijación a la pared del vaso estudiado en vena safena formolizada**

Una vez determinada la posible dilución adecuada sobre segmentos vasculares frescos, se diseña el siguiente experimento para refrendar si existe diferencia de comportamiento en función del modo de conservación del espécimen.

Con el pulso obtenido como modelo en el experimento anterior (bolo de 10 ml de una mezcla de 20  $\mu$ L de la dilución estándar 5mg/ml de ICG en 50 ml de sangre heparinizada) se realizan pruebas sobre un segmento distinto de vena safena humana conservada en formol.

Tras un primer pulso se registra fluorescencia. Se lava con una infusión continua de sangre heparinizada, tras lo cual se examina el segmento nuevamente con el filtro del microscopio sin administración de ICG y no se registra fluorescencia.

Se repite la operación con un segundo bolo idéntico (Pulso 2), obteniendo fluorescencia sin fijación residual.

Finalmente se comprueba hasta con un tercer pulso de ICG con idénticos resultados.

Puede plantearse entonces esta dilución como adecuada para reproducir en el laboratorio las condiciones quirúrgicas reales, tanto empleando vasos en fresco como aquellos segmentos conservados en formol.

**Búsqueda de un sistema para estenotar el vaso a estudio. Comprobación de la dilución mínima para obtener fluorescencia sin fijación a la pared del vaso y su comportamiento en condiciones de estenosis vascular.**

Otro de los objetivos del modelo expuesto es reproducir aquellas situaciones reales en las que se produce una estenosis o estrechamiento de la luz de la estructura vascular que está siendo manipulada, con un potencial efecto nocivo en el flujo cerebral. Para lo cual, es preciso desarrollar un sistema que permita la constricción progresiva del espécimen vascular empleado y que al mismo tiempo proporcione una medida objetiva de tal estenosis para asegurar su reproducibilidad.

Por consiguiente, en esta última prueba de la fase de iniciación técnica además de establecer el método de estenosis del vaso estudiado, se comprobará el comportamiento de la fluorescencia obtenida en situación de disminución del calibre del vaso.



Así pues, con el bolo obtenido como modelo en el experimento precedente se realizan pruebas sobre un segmento de vena safena humana en fresco.

Se realiza un primer pulso con ICG sobre el segmento del vaso estudiado, previa medición del calibre externo del mismo con un micrómetro, que se dispone abrazando la estructura vascular de forma paralela, lo que se considera la situación basal.

En este caso resulta ser de 1,9 mm.

Se lava con una infusión continua de sangre igual que previamente. Se registran los datos de fluorescencia obtenidos en términos de intensidad de fluorescencia (mapa de intensidad, escala de grises, unidades arbitrarias de intensidad) así como en términos de retardo de intensidad (mapa de retardo, FLOW 800, segundos). Estos valores se consideran como basales.

Tras el lavado mencionado, se realiza de nuevo la vídeo-angiografía sin administración de ICG comprobando que no existe fluorescencia residual en la pared del vaso (Figura 51).



Figura 51.- Visualización con vídeo-angiografía del segmento venoso estudiado con infusión de sangre sin ICG, comprobando ausencia de fluorescencia.

Con ayuda del mismo micrómetro, se constriñe el vaso hasta reducir a la mitad su diámetro externo basal y se realiza un pulso con ICG. Se registran nuevamente los valores de fluorescencia (Figura 52), sin que se aprecien, *a priori*, cambios en la coloración ni

intensidad de fluorescencia en puntos pre y post-estenóticos, cuya interpretación quedará por determinar en la segunda fase..

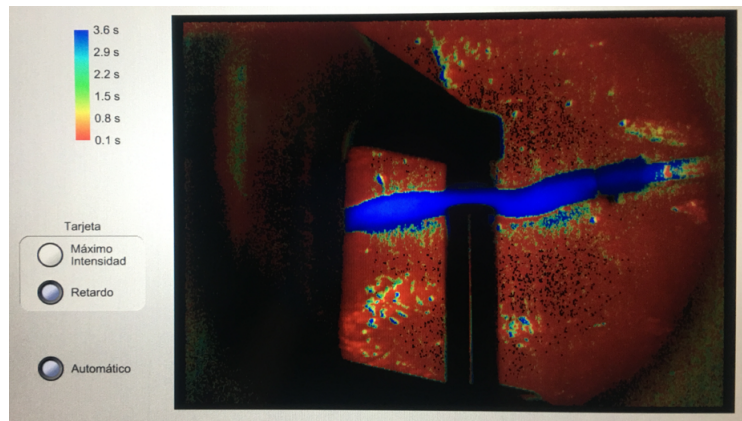


Figura 52.- Mapa de retardo de intensidad (FLOW 800) en el vaso estenosado en el 50% de su diámetro externo por el micrómetro.

Tras este último pulso se propone comprobar si podrían obtenerse los mismos resultados en cuanto a la fluorescencia inicial y residual evitando el uso de sangre y empleando esta nueva dosis muy reducida de ICG. Para ello, se repite el procedimiento substituyendo el volumen de sangre por la misma cantidad de suero fisiológico (50 ml) y diluyendo en éste los 20  $\mu\text{L}$  de la dilución estándar de ICG (5mg/ml). El resultado de intensidad y retardo de la misma se registran y aparentemente son similares a los obtenidos con el uso de sangre, pero aparece fluorescencia residual .

Esto confirma que es necesario el uso de sangre heparinizada para poder reproducir *ex vivo* las condiciones reales tanto en la administración de ICG como para el lavado del mismo.

### **Estandarización de la forma de administración del bolo de ICG**

Atendiendo al hecho de que los dos factores fundamentales para la interpretación de la fluorescencia obtenida son la intensidad de señal y el tiempo en que ésta tarda en alcanzarse, surge la cuestión de si la forma de administración del bolo de ICG podría

alterar el fruto de las pruebas realizadas en los diferentes especímenes, esto es, si la velocidad y la fuerza con la que se administren podrían perturbar la interpretación de lo obtenido.

Es por ello que se intenta buscar un instrumento que permita la administración de pulsos iguales a la misma presión y ritmo de infusión. Con ayuda del Servicio de Radiología del Hospital General Universitario es posible acceder a una bomba inyectora de contraste que facilita la realización de bolos programando el volumen de cada bolo a una velocidad constante de hasta un 1ml/s.

Se diseña una batería de pulsos con el bolo de ICG considerado modelo (20  $\mu$ L de la dilución estándar de ICG (5mg/ml), diluido en 50 ml de sangre, mezcla con la que se carga la jeringa de la bomba inyectora.

Como espécimen se emplea un segmento de vena safena formolizada cateterizada según el procedimiento habitual creando un sistema de circulación estanco, con una cánula de entrada conectada a la bomba inyectora y otra de salida cuyo contenido se desecha.

Se realiza un primer pulso con el bolo de ICG idéntico a los previos de 10 ml, en 10 segundos, por tanto, a velocidad de 1 ml/s (Figura 53). Se registra la fluorescencia obtenida:

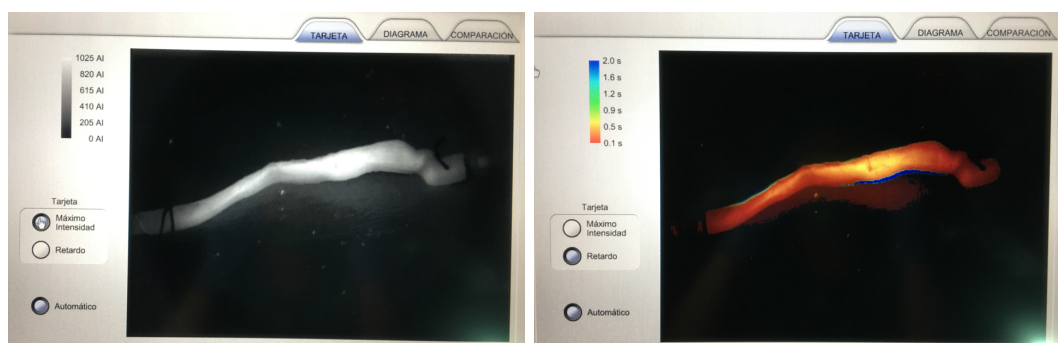


Figura 53.- Mapas de intensidad de señal y retardo de intensidad tras el pulso de 10ml a 1 ml/s.

Se repite la vídeo-angiografía sin administración de ICG comprobando la ausencia de fluorescencia residual (Figura 54).

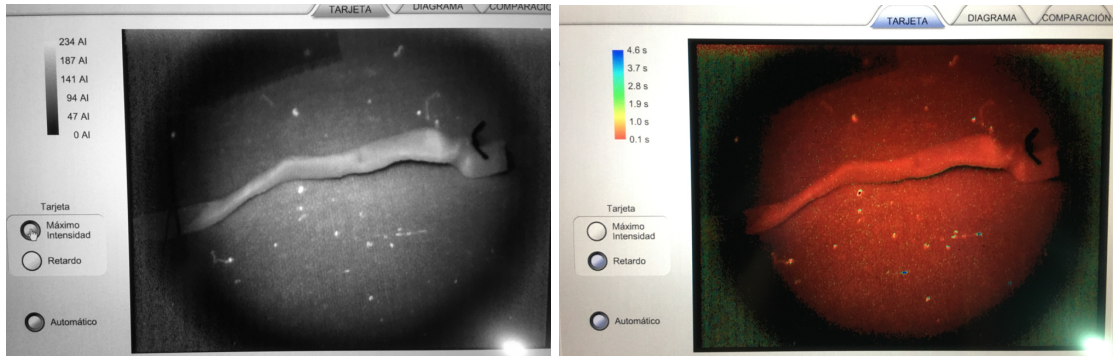


Figura 54.- Mapas de intensidad de señal y retardo de intensidad tras lavar el primer pulso y sin administrar nueva dosis de ICG, observando ausencia de fluorescencia residual significativa.

Se realiza un segundo pulso de ICG con el mismo bolo, pero a diferente velocidad de infusión, 15 segundos, 0,6 ml/s, obteniendo un cambio cualitativo en la escala de color del mapa FLOW800 (Figura 55).

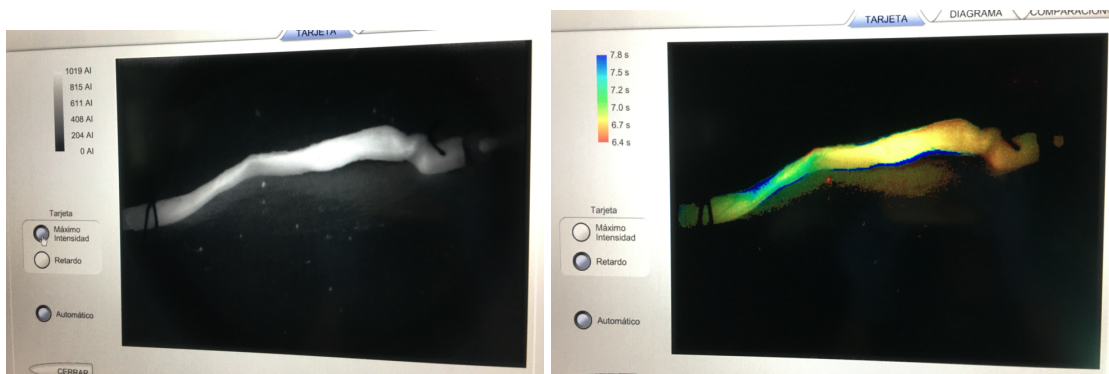


Figura 55.- Mapas de intensidad de señal y retardo de intensidad con un segundo pulso administrado a 0,6 ml/s.

Los datos sugieren que un enlentecimiento en la administración del bolo podría modificar los valores de retardo de intensidad de la fluorescencia, por lo que todos los pulsos deben ser administrados a la misma velocidad, siendo aparentemente más apropiado el ritmo previo de 1 ml/s.

Finalmente se realiza un último pulso reduciendo a la mitad el volumen del bolo, 5 ml, lo que permitiría economizar al máximo el recurso tan limitado como es la sangre, pero en la mitad de tiempo, manteniendo la velocidad de infusión previa constante de 1 ml/s.

Con esto se consigue obtener una escala de intensidad y color muy similar a la inicial (Figura 56).

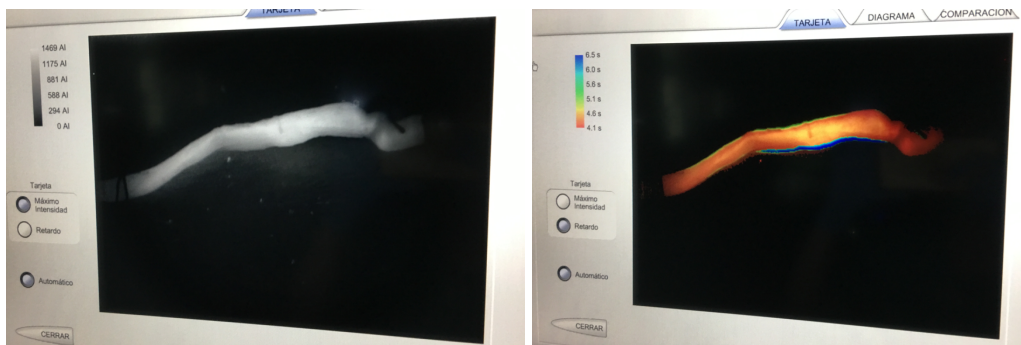


Figura 56.- Mapas de intensidad de señal y retardo de intensidad con un tercer pulso de 5 ml administrado a la velocidad inicial de 1 ml/s.

En conclusión, para el modelo experimental se administrarán con la bomba inyectora bolos de 5 ml, a una velocidad de 1 ml/s, tomados de una mezcla de 50 ml de sangre con 20  $\mu$ L de la dilución estándar de ICG (5mg/ml) (Tabla 3)

Tabla 3.- Tabla resumen del material, método y resultado de la fase 1: búsqueda de la dosis de ICG.

ESPÉCIMEN	FLUIDO CONDUCTOR SANGRE (vol)	BOLO ICG (vol, [c])	FLUOR. PULSO 1	FLUOR. RESIDUAL (Fr1)	FLUOR. PULSO 2	FLUOR. RESIDUAL (Fr2)	OBSERVACIÓN
VENA SAFENA (Fresco)	50 ml Sangre	0,1 ml, (5mg/ml)	+++	++	+++	+	Leve fijación inicial que no impide fluorescencia en un pulso repetido.
VENA SAFENA (Fresco)	10 ml Sangre	20 µL (5mg/ml)	+++	+	∅	∅	Fluorescencia residual menor que en experimentos previos
		20 µL (5mg/ml) + 40 µL Suero	+++	+	∅	∅	Fluorescencia residual similar a la previa.
		20 µL (5mg/ml) + 80 µL suero	+++	+	∅	∅	Fluorescencia residual similar a la previa.
	50 ml Sangre	20 µL (5mg/ml)	+++	-	+++	-	No queda fluorescencia residual significativa que impida la realización de nuevos pulsos.
VENA SAFENA (Formol)	50 ml Sangre	20 µL (5mg/ml)	+++	-	+++	-	No queda fluorescencia residual significativa que impida la realización de nuevos pulsos.

Tabla 3.- Vol: volumen, expresado en ml; [c]: concentración: expresada en mg/ml; SS: suero salino; FLUOR. : Fluorescencia, codificada como: Ausente: (-); Presente: + (leve), ++ (moderada), +++ (intensa); ∅: no se ha realizado; Alb: albúmina humana; IgG: inmunoglobulina G; µL: microlitros

### 4.2.3. Método de la fase de validación o fase 2

#### **Sistemas arteriales encefálicos**

Como modelo experimental se emplean arterias procedentes de cerebros de cadáver humano donados para fines educacionales a la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández.

En la sala de disección del Departamento de Anatomía de dicha Universidad se obtuvieron cinco sistemas arteriales encefálicos, esto es polígonos de Willis con sus correspondientes troncos y ramas principales de cadáveres previamente fijados con formol al 40%, de ambos sexos y edades variables, que no han sido considerados en este estudio, de los que se desconoce la causa de fallecimiento, aunque se excluyen los de causa traumática.

La disección de los encéfalos fue realizada mediante craneotomía fronto-parieto-temporo-occipital para exposición de la base de cráneo, así como laminectomía de la primera y segunda vértebras cervicales, C1 y C2 respectivamente. Se secciona la duramadre a ambos lados de los senos sagital superior y transversos, permitiendo cierto grado de tracción superior y anterior para la disección del seno recto, hasta la confluencia de senos. Una vez liberados los anclajes duros se procedió a la tracción del encéfalo en dirección superior con sección del tallo hipofisario y nervios craneales en la localización más próxima a la base de cráneo posible (Figura 57). De este modo se obtuvieron los encéfalos conservando prácticamente indemnes el sistema vascular y nervios craneales, así como el resto de estructuras encefálicas.





Figura 57.- Imagen basal de uno de los encéfalos disecados, que conserva por completo el sistema vascular, así como el resto de estructuras neurales.

Posteriormente, los vasos fueron observados y estudiados *in situ* diseccionando previamente las cisternas encefálicas por donde éstos discurren, para finalmente, ser disecados del parénquima cerebral, observados y estudiados en un caso y en otro con la ayuda de un microscopio quirúrgico Zeiss tipo Opmi 6.

Se estudiará la posibilidad de que la técnica de vídeo-angiografía por ICG y FLOW 800 permita detectar y cuantificar cambios en la dinámica de flujo tras inducir una disminución del diámetro externo del 50% de diferentes arterias de estos polígonos, respecto a su calibre inicial, así como una estenosis en un punto de dichos vasos, tratando de asemejar este modelo de laboratorio a algunas de las condiciones que se dan en cirugía vascular cerebral.



En el laboratorio de Cirugía Experimental, con el segmento arterial objeto de estudio identificado, se toma medida del diámetro externo del mismo (Figura 58), colocando el vaso entre los brazos de un micrómetro.

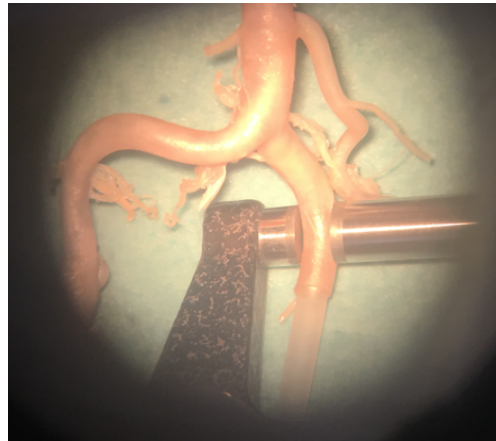


Figura 58.- Disposición del micrómetro sobre el vaso estudiado, en la imagen una arteria vertebral.

Posteriormente, se diseñan sistemas circulatorios cerrados de perfusión conectados a estos especímenes. Los segmentos arteriales a estudio se canulan con sondas de plástico de calibre adaptado en la medida de lo posible al diámetro del segmento observado. De esta forma el segmento arterial examinado queda aislado en un extremo por un tubo o cánula aferente por donde se infundirá el fluido conductor, colocándose otra cánula en otra arteria cercana para actuar como vía de salida o eferente del sistema circulatorio artificialmente creado (Figura 59).

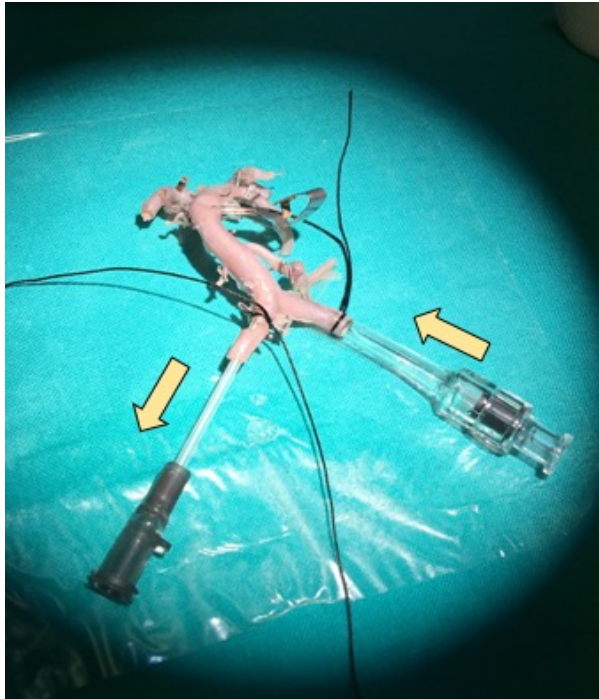


Figura 59.- Imagen de la cara basal de un sistema arterial de circulación posterior, con ambas arterias vertebrales canuladas. Las flechas amarillas representan la dirección del flujo en la infusión del fluido conductor.

Para evitar que el fluido difunda hacia otros puntos del sistema arterial estudiado de forma indeseada se ocluyen con clips quirúrgicos de aneurismas en las principales arterias adyacentes a la observada, distintas a la canulada para ser eferente, así como en todas las pequeñas ramas arteriales perforantes y/o colaterales, empleando igualmente sutura de nylon, miniclips vasculares o con coagulación bipolar, tras lo cual se somete a pruebas hidrostáticas con suero salino hasta confirmar la ausencia de fugas y la canalización óptima del flujo (Figura 60), lo que se denomina prueba de estanqueidad.



Figura 60.- Imagen basal del mismo sistema arterial de circulación posterior, con ambas arterias vertebrales canuladas. Las puntas de flecha amarillas señalan los clips colocados sobre las ramas colaterales y perforantes para ocluirlos. La estrella amarilla señala el clip quirúrgico sobre la arteria basilar para que el flujo discurra desde la arteria vertebral izquierda su homóloga contralateral cateterizada.

Es precisamente dicha prueba de estanqueidad el principal escollo para poder estudiar una arteria. Por la forma de obtención y conservación de los especímenes arteriales muchos de ellos presentan poros coincidiendo con puntos de avulsión de pequeñas ramas perforantes, casi imperceptibles incluso durante la inspección externa microscópica, pero que se hacen muy patentes cuando se instila suero a través del vaso. Algunos de ellos pueden solucionarse con la metodología mencionada anteriormente (uso de clips, puntos de sutura) pero en muchas de las arterias que potencialmente podrían haber servido para el estudio no se consigue evitar las fugas de fluido a través de estos puntos por tratarse de defectos muy numerosos, extensos o irreparables.

Es por ello que para el estudio únicamente se consideran aquellas arterias para las que se consigue instaurar un sistema circulatorio totalmente estanco o que presente una mínima fuga que no impida la visualización del vaso estudiado durante la realización de

la vídeo-angiografía. Este hecho, lamentablemente, limitará aún más el número de la muestra a examen.

Una vez asegurada la estanqueidad o *quasi* estanqueidad de este sistema circulatorio artificial se procede a la infusión de sangre con ICG para estudiar los valores de fluorescencia.

Para la administración de ICG se emplearán las condiciones de modelo experimental de infusión con sangre humana establecidas en la Fase 1 del presente trabajo.

Se considera un pulso de ICG a la administración mediante la bomba inyectora de un bolo de 5 ml a una velocidad de 1 ml/s, tomados de una dilución de 50 ml de sangre heparinizada que contiene 20  $\mu$ L de ICG a la concentración estándar de 5mg/ml. Cada pulso es lavado del sistema mediante la infusión de otro bolo de volumen similar de sangre que no contiene ICG.

En cada arteria estudiada se realizan 3 pulsos secuenciales:

El primero (F1) se realiza con el vaso en situación basal (100% del diámetro externo, enumerado como  $D_{100}$ ).

A continuación, se repite el procedimiento (segundo pulso o F2) aplicando una compresión externa a la pared del vaso que conlleve una reducción del diámetro exterior del 50% del valor inicial registrado ( $D_{50}$ ). La reducción del calibre exterior y la estenosis de la luz del vaso secundaria generada, se realiza con el cilindro-émbolo medidor del micrómetro digital.

Finalmente se realiza un tercer pulso (F3) con una estenosis del vaso en un único punto, que implique una estenosis inferior a la mitad del diámetro externo.

En cada uno de estos pulsos, la fluorescencia es visualizada en tiempo real inmediatamente desde la inyección, y se procede a su grabación en vídeo (formato mpeg-

4) así como a la recogida de datos obtenidos en términos de intensidad de la fluorescencia (mapa de intensidad de señal) y retardo de la misma con escala colorimétrica (FLOW 800).

Para cada uno de los pulsos se recogen los siguientes parámetros:

Emisión o no de fluorescencia

Posibilidad de recogida de datos FLOW 800 y valor cualitativo del mismo (escala colorimétrica).

Presencia de fluorescencia residual (Fr con el subíndice correspondiente al pulso tras el que se observa)

Además, en los tres casos se estiman los valores de fluorescencia para puntos localizados en distintos lugares sobre la superficie arterial fluorescente. Dichos puntos (ROIs) se sitúan en localizaciones proximales a la estenosis (pre-estenosis) y distales a la misma (post-estenosis), con el fin de determinar si la técnica resulta fiable para evaluar cambios en el calibre de los vasos estudiados y por tanto extrapolar su utilidad en la cirugía vascular cerebral. De estos puntos se obtienen gráficas que relacionan la intensidad de señal con el tiempo transcurrido para alcanzarla.

Todos estos datos se comparan en las arterias estudiadas del siguiente modo:

1. F1 *versus* (vs) F2

Intensidad de señal (AI)

Retardo de intensidad (escala colorimétrica)

Curvas gráficas derivadas de los diagramas.

2. F1 vs F3

Intensidad de señal (AI)

Retardo de intensidad (escala colorimétrica)

Curvas gráficas derivadas de los diagramas.

El escaso número de la muestra permite tan solo un análisis estadístico poco potente, por lo que se trata de un análisis descriptivo.

Se considerará que el modelo experimental en cadáver humano queda validado, siendo útil para futuros estudios cuantitativos de flujo cerebral, si se registra fluorescencia en los pulsos repetidos, sin dejar fluorescencia residual significativa. Y secundariamente se considerará la técnica FLOW 800 válida si permite detectar - cuantificar cambios en el flujo tras estenotar el vaso.



## **5. RESULTADOS**





De los cinco sistemas arteriales encefálicos de cadáver disecados únicamente se han podido emplear para el estudio de las hipótesis planteadas, cuatro de ellos. El primero, quedó impregnado en fluorescencia tras un único pulso, lo que ha supuesto la génesis del presente trabajo de tesis doctoral, pero lo excluye para la interpretación de los resultados.

Para la exposición de los resultados cada uno de estos sistemas encefálicos se denomina “caso” enumerados del 1 al 4 según el orden de realización. De cada uno de ellos se analizan las arterias aptas para ello, tal y como se refiere en la metodología, resultado un total de 11 arterias estudiadas.

Como dato descriptivo se tiene en cuenta la localización de la arteria, lateralidad y su diámetro externo que viene dado en milímetros.

Los datos obtenidos sobre la fluorescencia en los pulsos sucesivos se muestran con imágenes para cada caso, resumiendo estos datos de forma más detallada en tablas al final de este apartado (Tabla 4, subdividida en tablas para) cada caso.

Por otro lado, y aunque podría englobarse en otros apartados, se adjuntan en este apartado de resultados las imágenes descriptivas de los sistemas encefálicos para facilitar la posterior comprensión una vez que éstos se encuentran disecados.

## 5.1 CASO 1

### 5.1.1 Descripción:

Imágenes descriptivas del sistema arterial disecado:

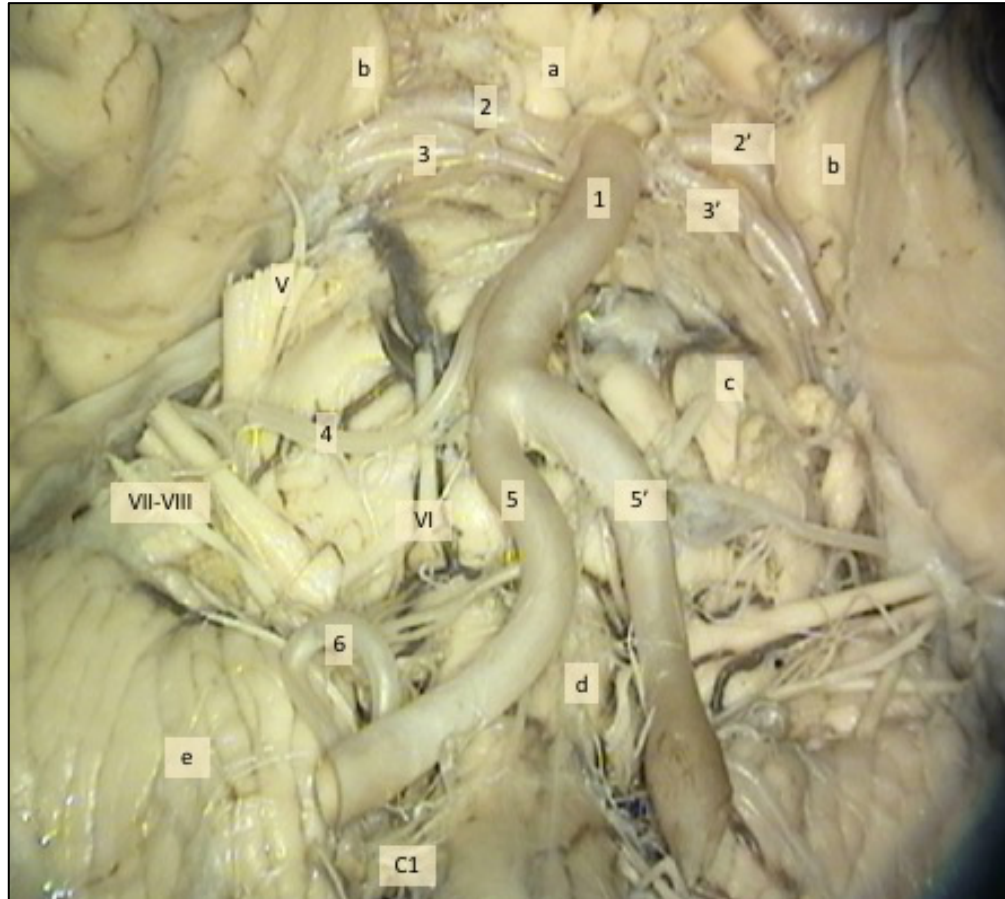


Figura 61.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 1: los números se refieren a estructuras vasculares, las letras minúsculas representan estructuras encefálicas adyacentes y finalmente los números romanos enumeran los nervios craneales. 1: A. Basilar; 2 y 2': AA. Cerebrales Posteriores; 3 y 3': AA. Cerebelosas superiores (ACS); 4: AICA derecha (en clara relación con los nervios VII y VIII); 5 y 5': AA. Vertebrales; 6: Arteria cerebelosa posteroinferior (PICA) derecha. a: Cuerpos mamilares; b: Uncus (lóbulo temporal) c: Protuberancia; d: Bulbo raquídeo; e: Cerebelo; V: V par o Nervio (N.) Trigémico; VI: VI par o N. Abducens/Motor ocular externo; VII: VII par o N. Facial; VIII: VIII par o N. Vestibulococlear; C1: Raíz espinal C1.

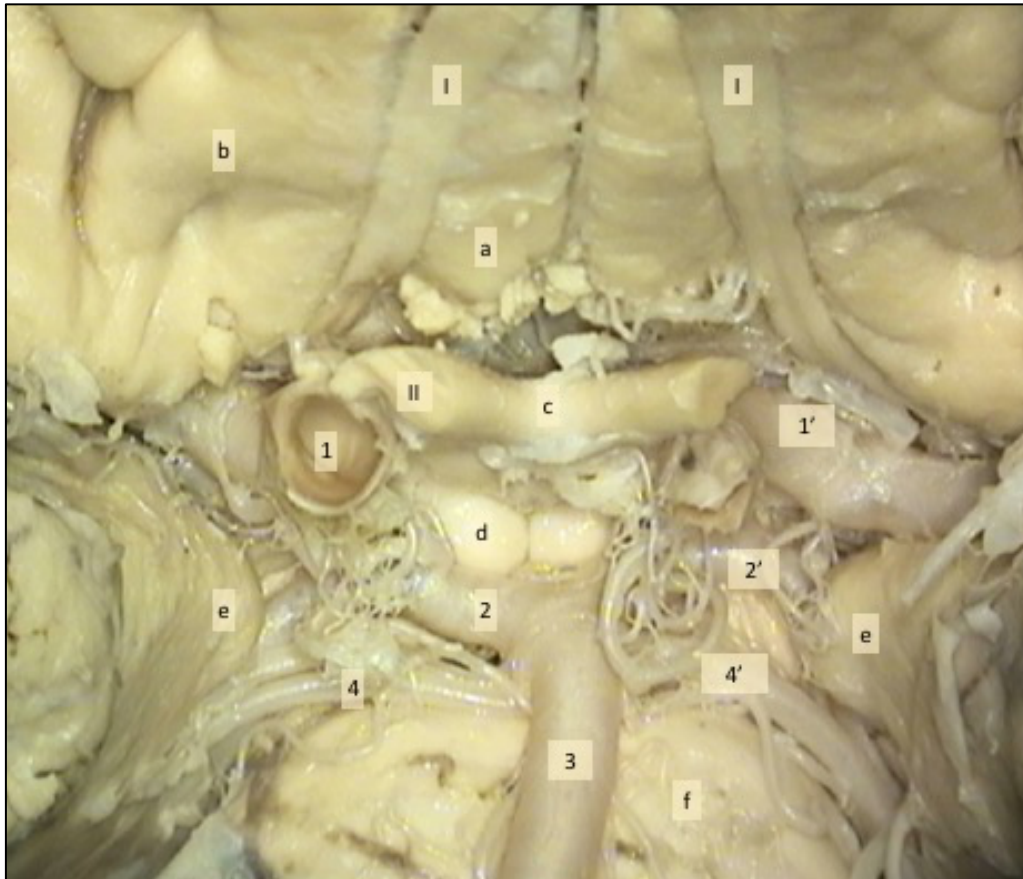


Figura 62.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 1, centrada en la unión de las circulaciones anterior y posterior: 1 y 1': ACI; 2 y 2': ACP; 3: A. Basilar; 4 y 4': ACS a: Giro recto (lóbulo frontal); b: Giros orbitarios (lóbulo frontal); c: Quiasma óptico; d: Cuerpos mamilares; e: Uncus (lóbulo temporal); f: Protuberancia; I: I par craneal o N. Olfatorio; II: II par craneal o N. Óptico;

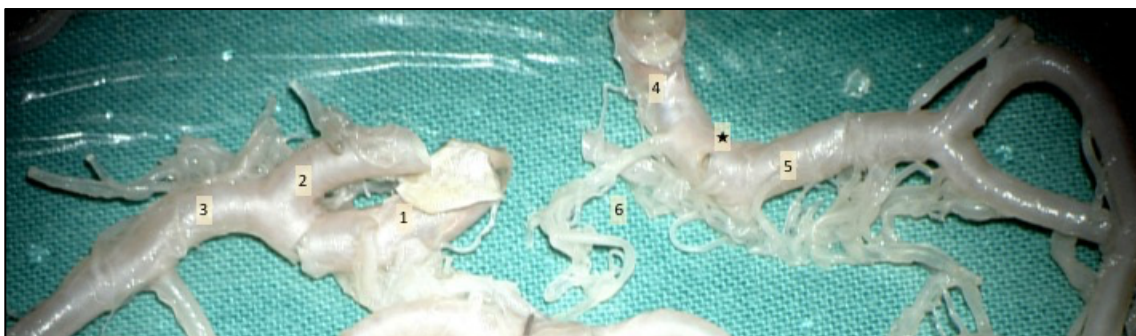


Figura 63.- Visión basal del mismo sistema encefálico, ya diseccionado del resto de estructuras encefálicas, centrado en la parte correspondiente a la circulación anterior (nótese la ausencia de las AA. Cerebrales anteriores y A. Comunicante anterior que se habían diseccionado del cadáver para otro estudio ajeno al actual). 1: A. Carótida Interna (ACI) derecha; 2: A. Cerebral anterior derecha (segmento precomunicante o A1); 3: A. Cerebral Media (ACM) derecha; 4: ACI izquierda; 5: ACM izquierda; 6 A. Comunicante posterior izquierda; La estrella señala un defecto en la pared, probablemente por avulsión accidental de alguna de las ramas.

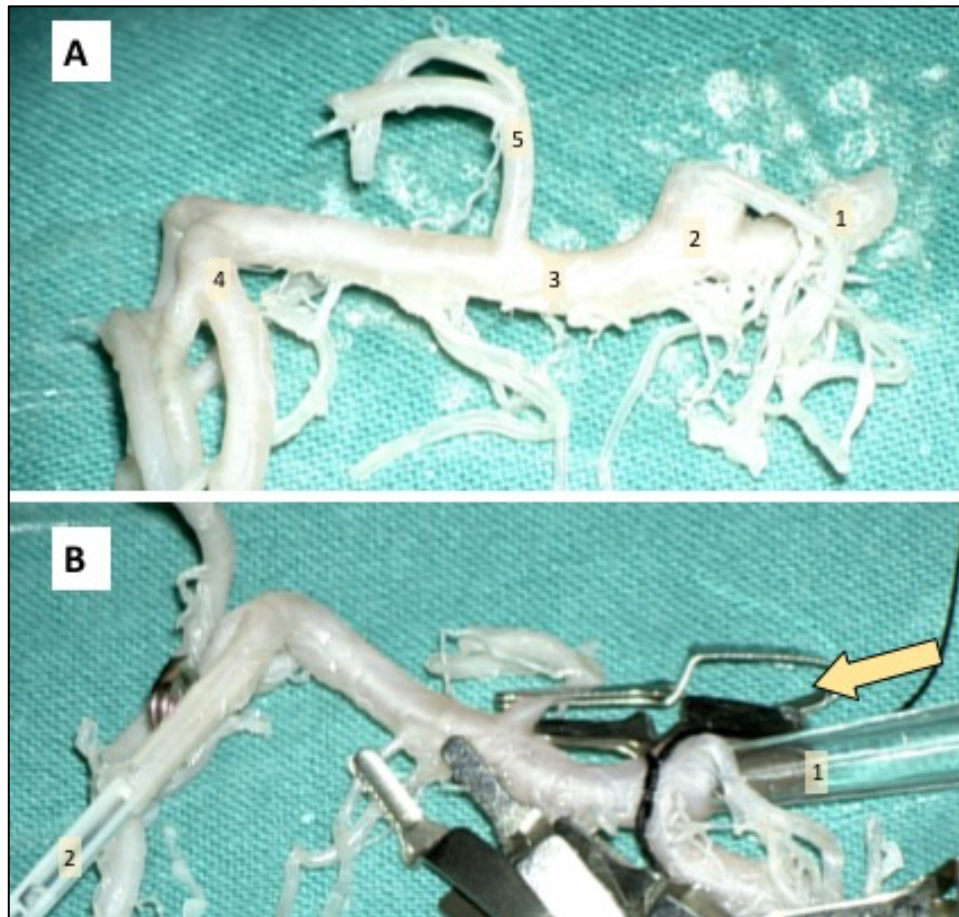


Figura 64.- Imagen de la primera arteria estudiada de este sistema arterial (Caso 1), la arteria cerebral media derecha. A: 1: ACA derecha; 2: ACI derecha; 3: ACM derecha, segmento horizontal o M1; 4: ACM derecha, segmento insular o M2, 5: A. Temporal Anterior. B: Mismo espécimen canulado y con clips ocluyendo las ramas y arterias perforantes no pertinentes para el estudio. 1: cánula aferente (entrada del fluido); 2: cánula eferente (salida del fluido); La flecha amarilla señala la dirección del flujo.





Figura 65.- Visión basal del mismo sistema encefálico (Caso 1), ya disecado del resto de estructuras encefálicas, centrado en la parte correspondiente a la circulación posterior. 1: A. Comunicante Posterior derecha; 2: A. Cerebral Posterior derecha; 3: A. Cerebelosa Superior derecha; 4: A. Basilar; 5: A. Cerebelosa Anteroinferior (AICA) derecha; 6: A. Vertebral derecha; 7: PICA izquierda.



Figura 66.- Detalle de las arterias vertebrales disecadas (visión basal): 1: A. Basilar; 2: AICA derecha, 2': homóloga izquierda; 3: A. Vertebral derecha; 4: A. Vertebral izquierda; 5: A. Espinal anterior; 6: PICA izquierda.

### 5.1.2 Análisis de fluorescencia

De este primer sistema arterial se emplean 3 arterias: la arteria cerebral media (ACM) derecha y ambas arterias vertebrales.

Se desestiman ambas arterias carótidas internas por tratarse de segmentos muy cortos, imposibles de canular. La ACM izquierda se desdeña por un defecto en la pared que no permite la estanqueidad del sistema circulatorio artificial. Por último, las arterias cerebrales posteriores, cerebelosas superiores, AICA y PICA, igualmente no se consideran aptas para el estudio porque su reducido calibre no permite reproducir las pruebas de reducción del calibre.

#### 5.1.2.1 Arteria cerebral media derecha (segmento M1)

##### PULSO 1 (F1):

Diámetro externo: 3,5 mm

Al realizar el pulso, se produce una fuga masiva de sangre (Ver que se puede vídeo 7), que no se había detectado durante la prueba de estanqueidad con suero (Ver vídeo 6), a través de un defecto en la pared que no es posible reparar, invalidando la arteria para nuevos pulsos.

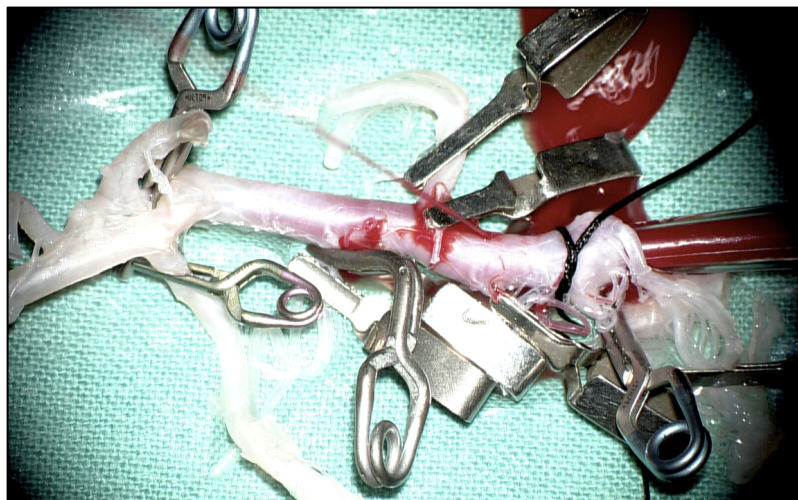


Figura 67.- Instantánea del momento en el que se inicia la infusión de sangre con salida de gran cantidad de la misma a presión, a través de un defecto en la pared.

Aún así, con este primer pulso se obtiene fluorescencia.

Dicha fluorescencia se valora en términos de unidades arbitrarias de intensidad (AI) mediante el mapa de ICG, lo que permite valorar cualitativamente una fluorescencia intensa (blanca) y aparentemente uniforme en todo el segmento estudiado, que en la escala adyacente se cuantifica en 708 AI, sin posibilidad de otra cuantificación más precisa (Figura 68).

El análisis de la fluorescencia en términos de retardo de intensidad, esto es, correlacionando la intensidad de señal con la velocidad a la que alcanza ésta se obtiene un color en la escala de rojos de 0,1 a 4 segundos, no uniforme, a lo largo del segmento estudiado, que correspondería en condiciones reales a un flujo arterial, presentando áreas que quedan coloreadas en azul (24,2 s) que dibujan las cánulas aferente y eferente del sistema observado (Figura 69).

No se realizan diagrama de flujo ni nuevos pulsos por la alteración de los datos que supone la fuga del fluido conductor a través de un defecto irreparable de la pared vascular.

Mapa de intensidad:

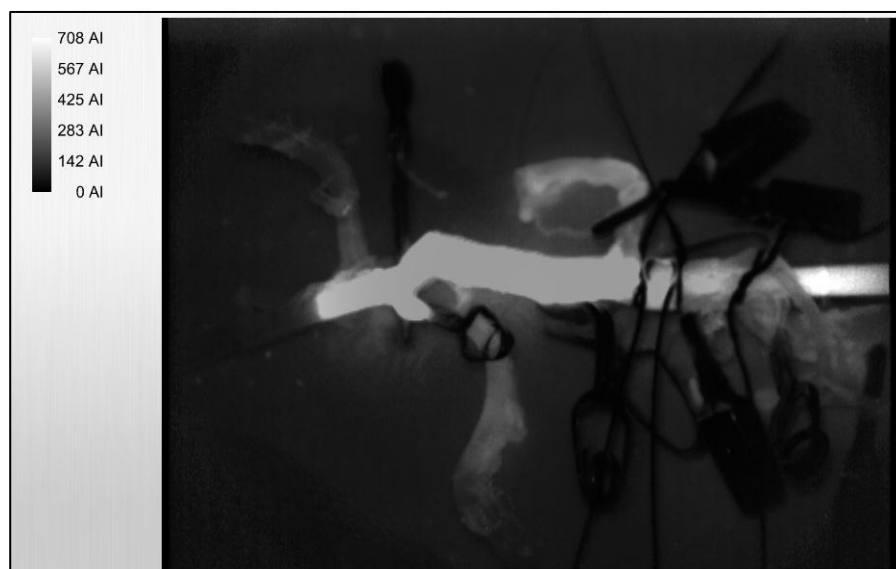


Figura 68.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda.



Mapa de retardo de intensidad:

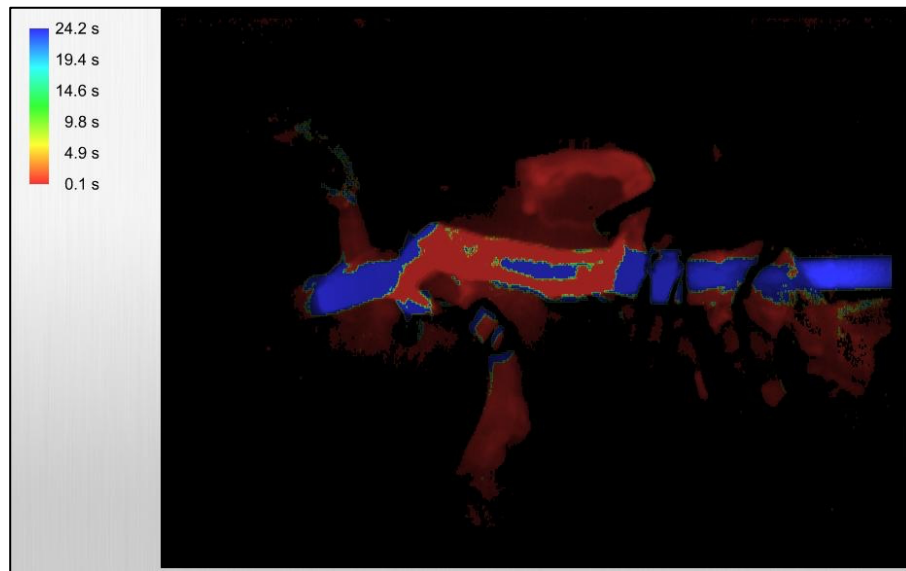


Figura 69.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda.

### 5.1.2.2 Arteria vertebral izquierda:

#### PULSO 1 (F1):

Diámetro externo: 4,312 mm

En este primer pulso a través de la arteria vertebral izquierda se detecta fluorescencia.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco, 1019 AI) uniformemente. Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo arroja valores entre los 29,9 y 30,2 s, siendo imposible precisar el valor cuantitativo exacto, que en la escala colorimétrica corresponden al espectro anaranjado, de forma pareja en todo el segmento (Figuras 70 y 71).

El diagrama muestra una pendiente ascendente muy pronunciada, lo que correspondería a un flujo rápido (arterial en un modelo real) con unos tiempos de demora de 30,45 s para el punto proximal a la estenosis y 30,59 s para el distal (Figura 72).

Mapa de intensidad:

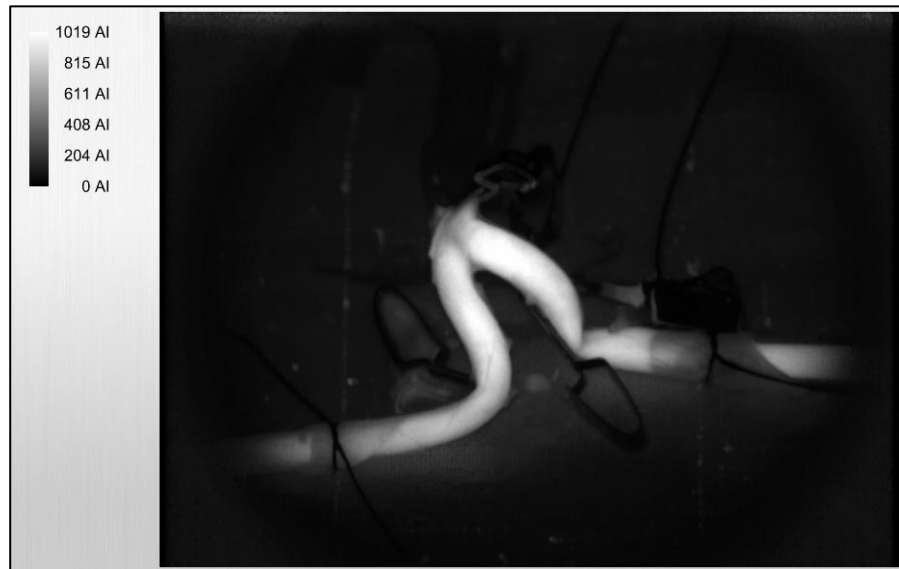


Figura 70.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (visión basal o anterior de la misma)

Mapa de retardo de intensidad:

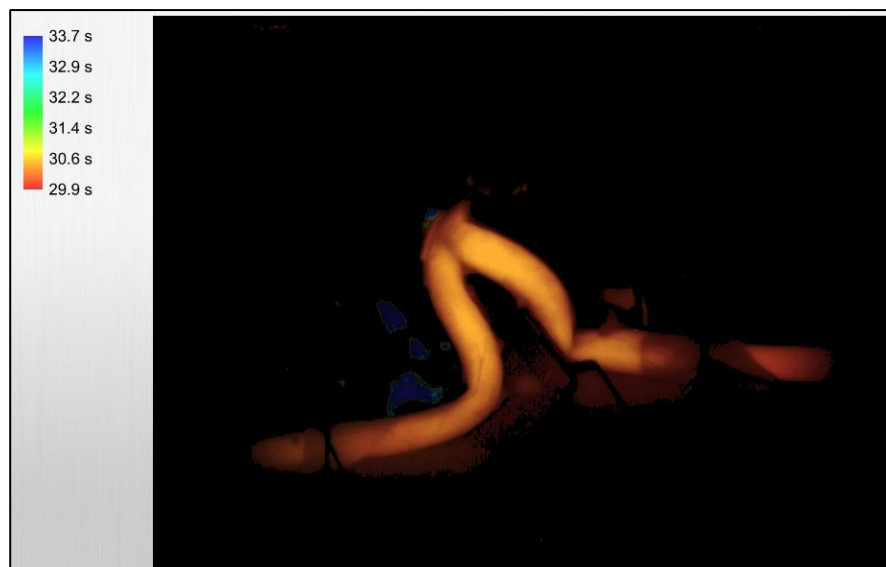


Figura 71.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda, expresado en segundos.

Diagrama:

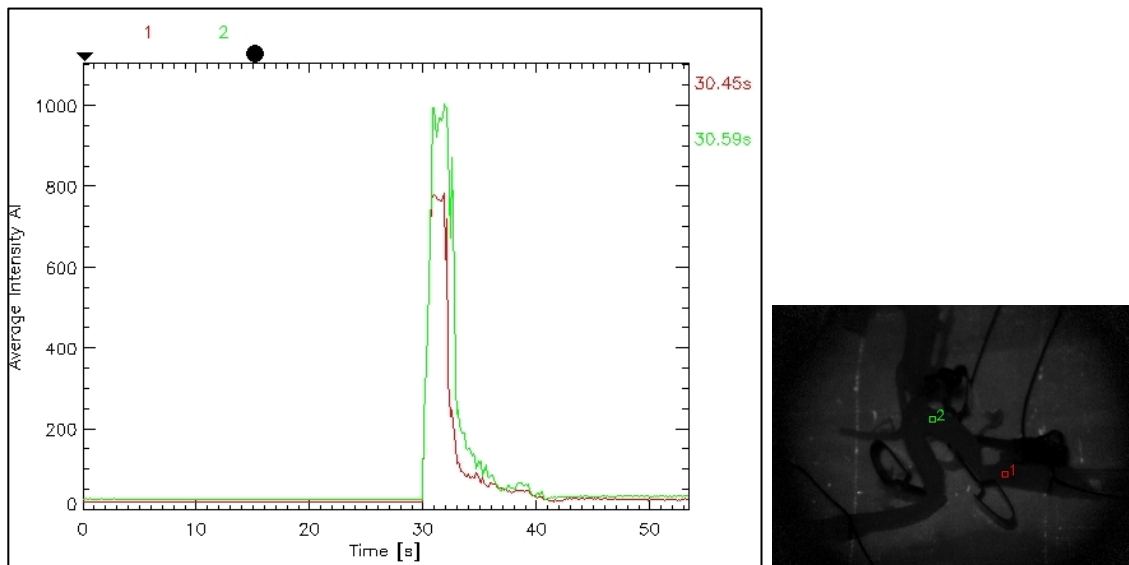


Figura 72.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda. A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto pre-estenosis y el verde al punto post-estenosis que se establecerá en los siguientes pulsos.

Tras el primer pulso no se detecta fluorescencia residual.



Figura 73.- Imagen que muestra la ausencia de fluorescencia tras el primer pulso.

**PULSO 2 (F2):**

Diámetro 50%: 2,156 mm

En este segundo pulso a través de la arteria vertebral izquierda igualmente se detecta fluorescencia.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco, 810 AI), con mayor intensidad que en el segmento inmediatamente distal a la estenosis (Figura 74). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un intenso color rojo cuya traducción cuantitativa aproximada es de 39,5 s. Este color, sin embargo, parece de la misma intensidad en el segmento distal al estrechamiento inducido en la arteria (Figura 75)

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada, con unos tiempos de demora de 30,86 s para el punto proximal a la estenosis y 40,06 s para el distal, esto es 9,74 s de diferencia entre ambos (Figura 76).

Mapa de intensidad:



Figura 74.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda con su diámetro externo reducido a la mitad del valor inicial por el micrómetro.

Mapa de retardo:

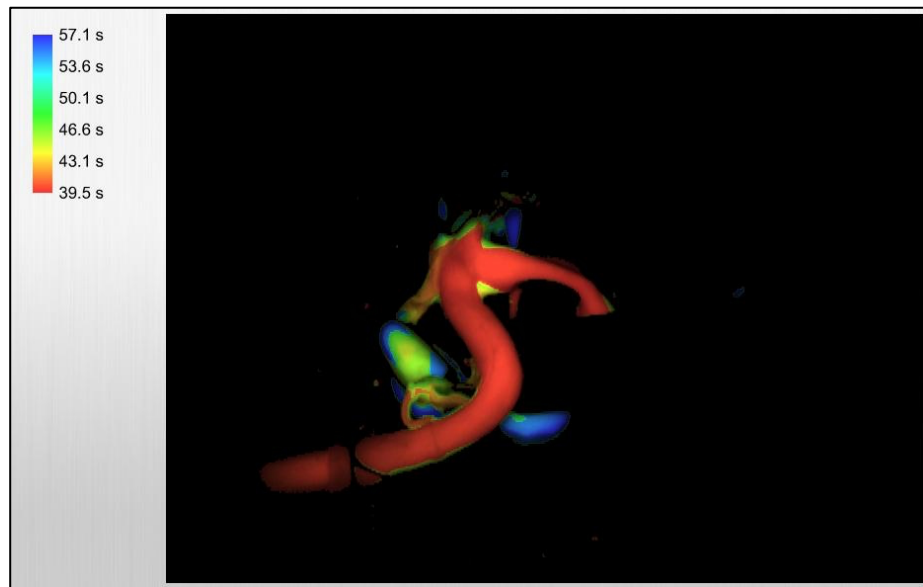


Figura 75.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda con su diámetro externo reducido a la mitad del valor inicial por el micrómetro.

Diagrama:

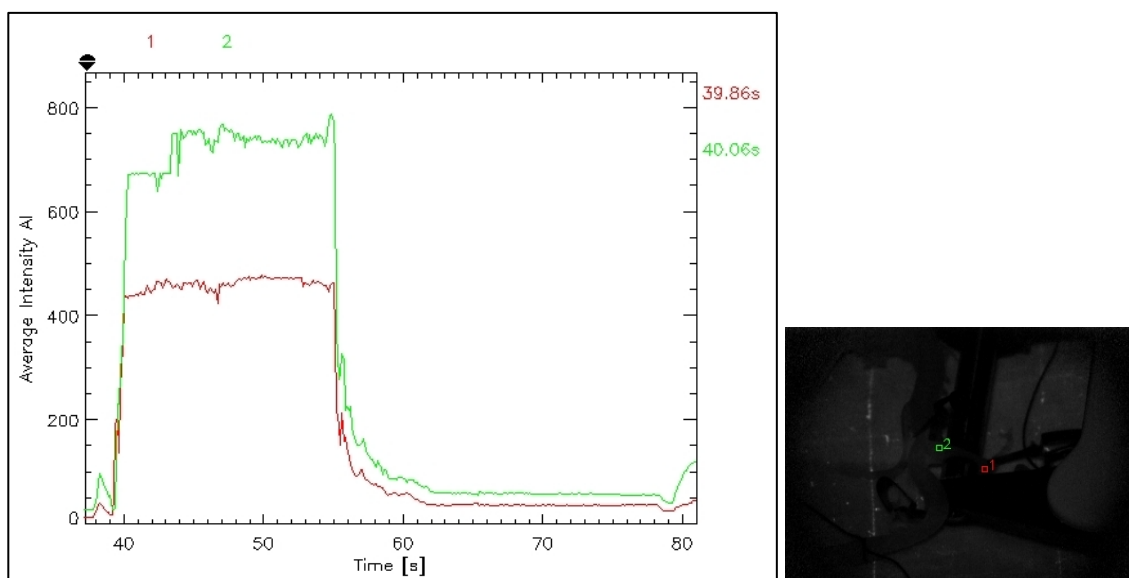


Figura 76.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el segundo pulso (F2) sobre la arteria vertebral izquierda. A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto pre-estenosis y el verde al punto post-estenosis que se ha realizado, dispuestos de forma análoga al pulso previo.

Tras este segundo pulso tampoco se objetiva fluorescencia residual.

**PULSO 3 (F3):**

Estenosis en un punto de la arteria con un clip quirúrgico.

En este tercer pulso en la arteria vertebral izquierda también hay fluorescencia. Aunque se produce una fuga de contraste alrededor del sistema pero aún así es posible visualizar el vaso y por ende, es posible el estudio de fluorescencia.

El análisis cualitativo de la intensidad de dicha fluorescencia arroja el valor máximo de dicha escala (color blanco, 1246 AI), con valores superiores a los del pulso previo (Figura 77). En el mapa de retardo se mantiene en la franja roja de la escala colorimétrica con un valor aproximado de 6,1s, muy inferior al del pulso previo (Figura 78).

El diagrama asimismo muestra una pendiente ascendente pronunciada, con unos tiempos de demora de 6,61 s para el punto proximal a la estenosis y 6,79 s para el distal, con una diferencia menor a la del pulso previo, 0,18 s (Figura 79).

Mapa de intensidad:



Figura 77.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico. Obsérvese la fuga del contraste, que sin embargo no impide la visualización del vaso.

Mapa de retardo:

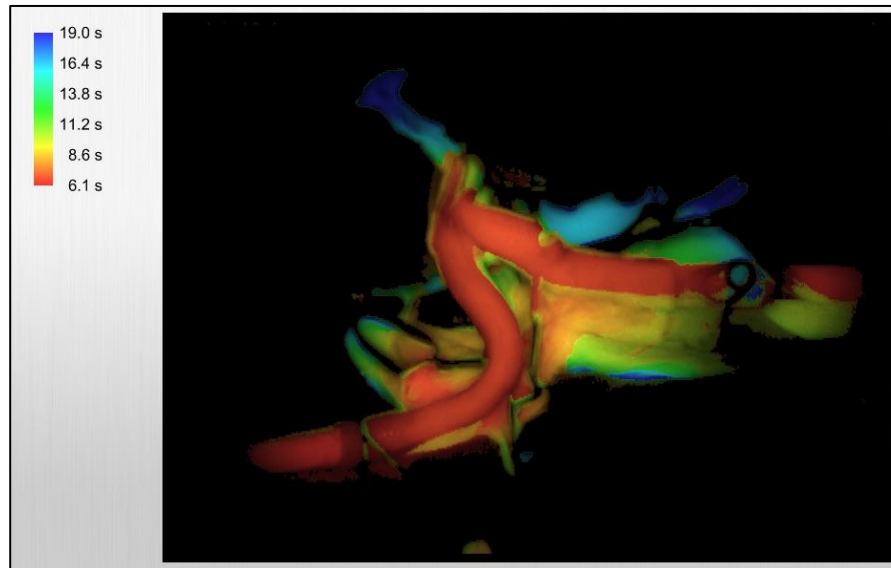


Figura 78.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico. Obsérvese la fuga del contraste, que no impide la visualización del vaso.

Diagrama:

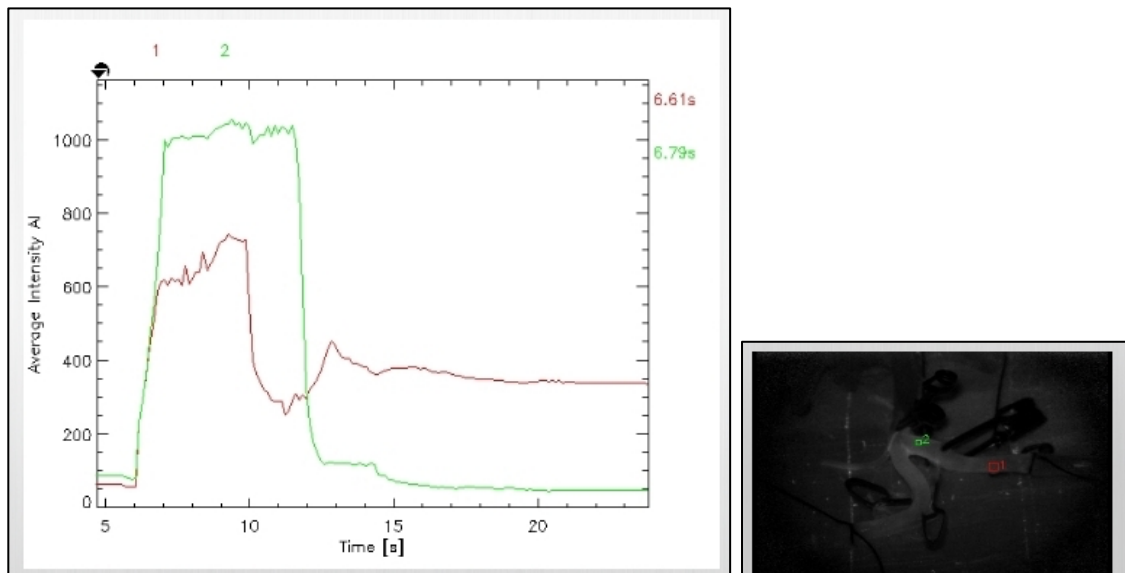


Figura 79.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el tercer pulso (F3) sobre la arteria vertebral izquierda. A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto pre-estenosis y el verde al punto post-estenosis que se ha realizado, dispuestos de forma análoga a los pulsos previo.

Tras este tercer pulso tampoco se objetiva fluorescencia residual.

## COMPARATIVA ENTRE PULSOS

### F1 vs F2

Al comparar los resultados del primer pulso con los del segundo en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando una única escala colorimétrica, el segmento de arteria vertebral izquierda estudiado arroja un color muy similar para ambos pulsos, poco distinguible a simple vista, siendo difícil cuantificarlo con exactitud (Figura 80).

Sin embargo, cuando estos mismos pulsos se comparan con la misma escala temporal (F1 izquierda, F2 derecha) se observa un cambio cualitativo en la escala de color, pasando de un color rojo (F1) a un color verde (F2), esto es, de 29,9 a 40,8 s respectivamente (Figura 81).

La morfología del diagrama es igualmente distinta. Ambos tienen una pendiente de ascenso muy pronunciada sugiriendo un flujo rápido, pero la diferencia temporal entre ellos hace que el área bajo la curva se modifique, encontrando que para el primer pulso existe una diferencia del tiempo de demora de 0,14 s frente a los 9,74 s del segundo (Figura 82).



Mapa de intensidad :

Comparación con escala única



Figura 80.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada.

Mapa de retardo:

Comparación con escala única:

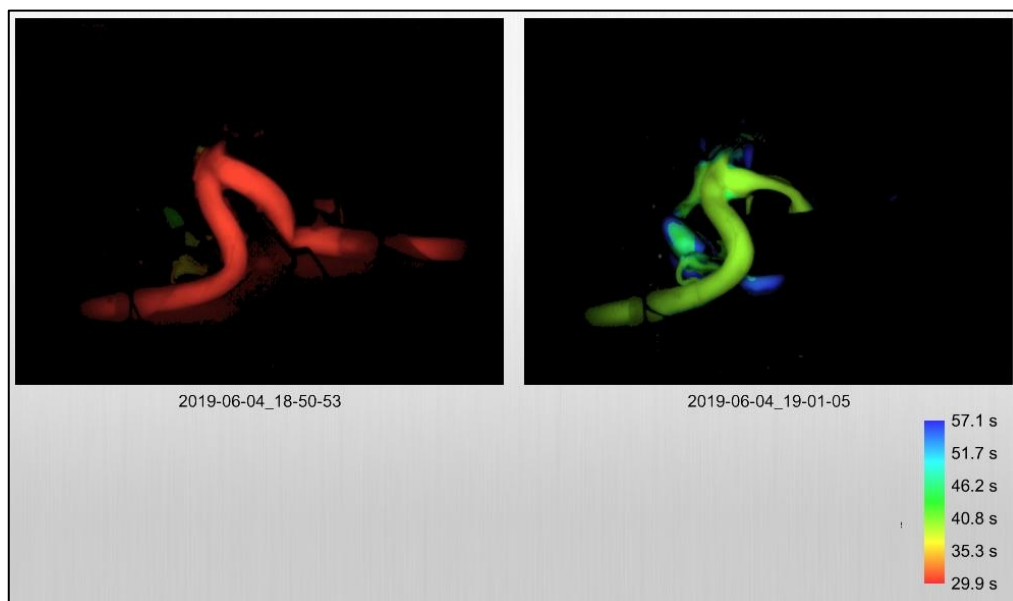


Figura 81.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda, empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada, apreciando una clara diferencia cualitativa.

Diagrama:

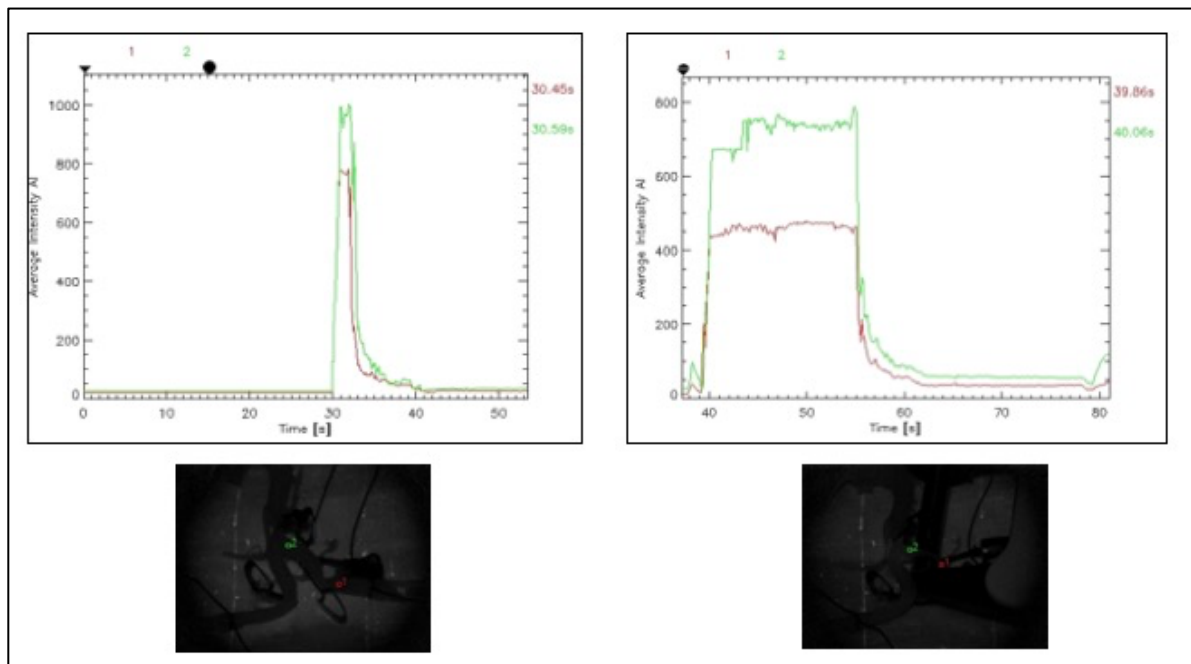


Figura 82.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 1).

### F1 vs F3

Al comparar los resultados del primer pulso con los del tercero en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando una única escala colorimétrica, el segmento de arteria vertebral izquierda estudiado continúa presentando un color muy similar para ambos pulsos, prácticamente indistinguible (Figura 83).

Sin embargo, cuando estos mismos pulsos se comparan con la misma escala temporal (F1 izquierda, F3 derecha) se observa un cambio cualitativo significativo en la escala de color, pasando de un color azul (F1) a rojo intenso (F3), esto es, de 33,7 s a 6,1 s respectivamente (Figura 84).

En cuanto a la morfología del diagrama, aunque ambos tienen una pendiente ascendente pronunciada, el descenso es marcadamente distinto, lo que sin embargo no se

correlaciona con la mínima diferencia en el tiempo de demora de 0,14 s en el primer pulso frente a los 0,18 s del segundo (Figura 85).

Mapa de intensidad:

Comparativa con escala única:



Figura 83.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 1).

Mapa de retardo:

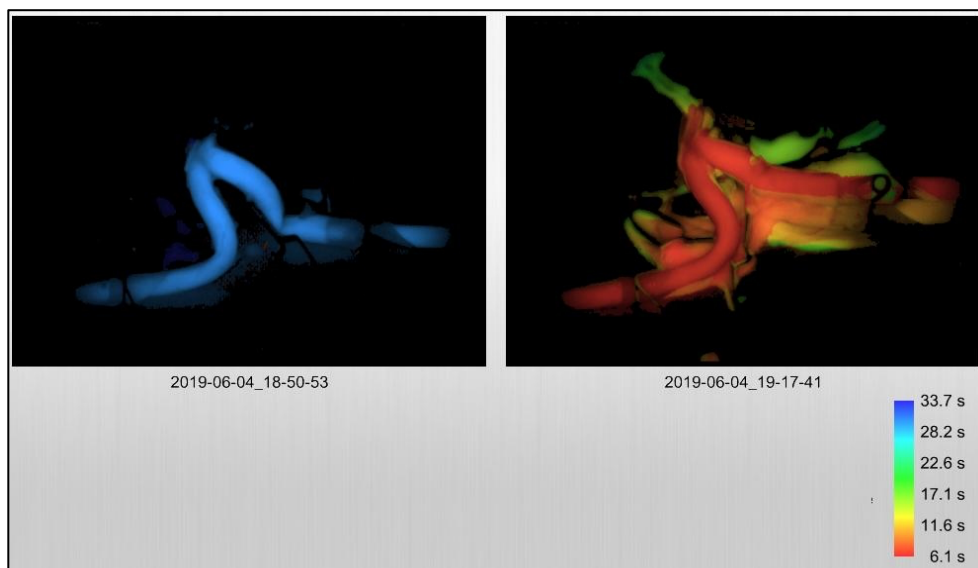


Figura 84.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) empleando una única escala colorimétrica.

Diagramas:

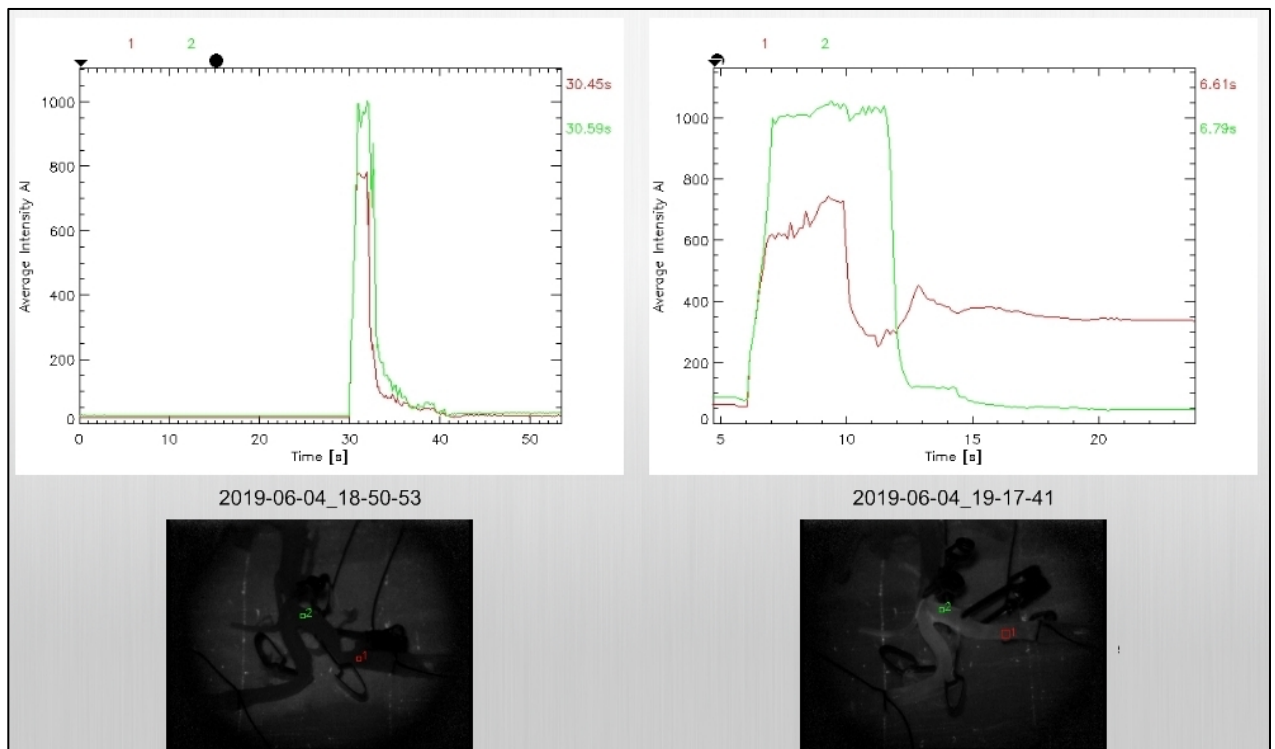


Figura 85.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) en la arteria vertebral izquierda (Caso 1)

### 5.1.2.3 Arteria vertebral derecha

#### PULSO 1 (F1)

Diámetro externo: 3,1 mm

En el primer pulso a través de la arteria vertebral derecha se obtiene fluorescencia.

El análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco, 1025 AI) (Figura 86). En el mapa de retardo se expresa con un intenso color anaranjado cuya traducción cuantitativa es un valor aproximado entre 11,9 s (rojo) y 13,2 s (amarillo) (Figura 87).

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada, al igual que en pulsos previos, con unos tiempos de demora de 39,92 s para el punto proximal y 39,99 s para el distal (Figura 88).

Mapa de intensidad:



Figura 86.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha con su diámetro externo en situación basal.

Mapa de retardo:

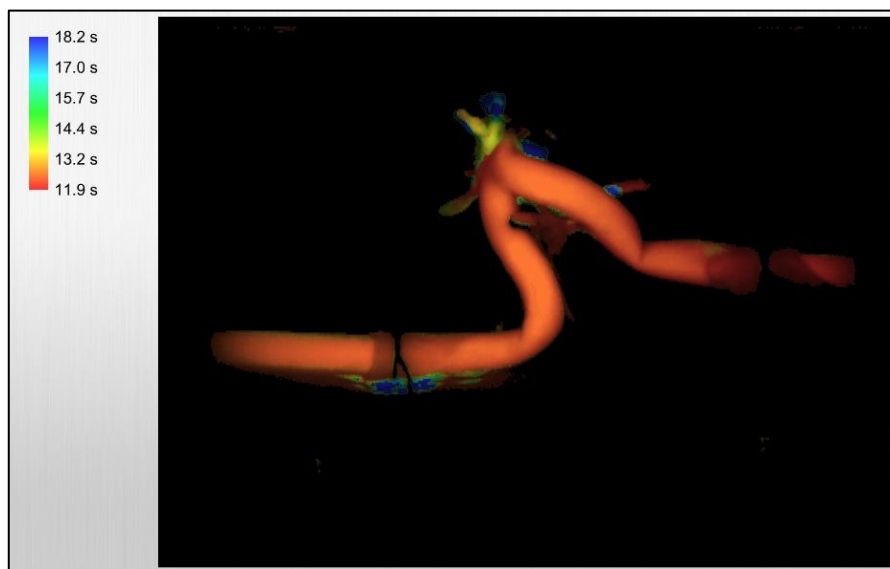


Figura 87.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha con su diámetro externo en situación basal.

Diagrama:

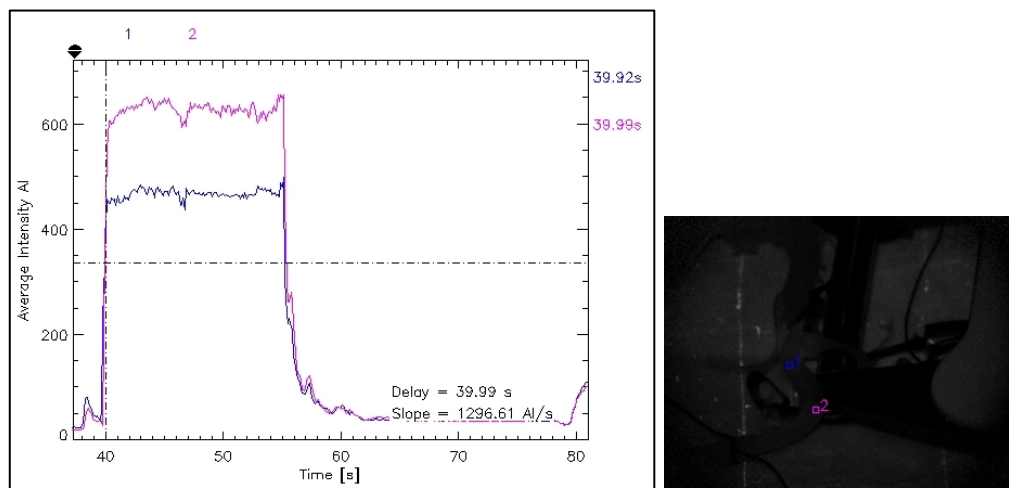


Figura 88.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso (F1) sobre la arteria vertebral derecha. A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El azul (1) corresponde al punto anterior al área que se establecerá como estenótica y el rosa (2) al punto distal a dicha estenosis.

Tras el primer pulso no se observa fluorescencia residual.

## PULSO 2 (F2)

Diámetro externo: 1,55 mm

En este segundo pulso a través de la arteria vertebral derecha se detecta fluorescencia.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco-grisáceo, 1019 AI) (Figura 89). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con color amarillo cuya traducción cuantitativa aproximada es de 2,1 s (Figura 90).

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada como en los casos anteriores con unos tiempos de demora de 2,80 s para el punto proximal a la estenosis y 2,89 s para el distal, esto es 0,09 s de diferencia entre ambos (Figura 91).

Mapa de intensidad:

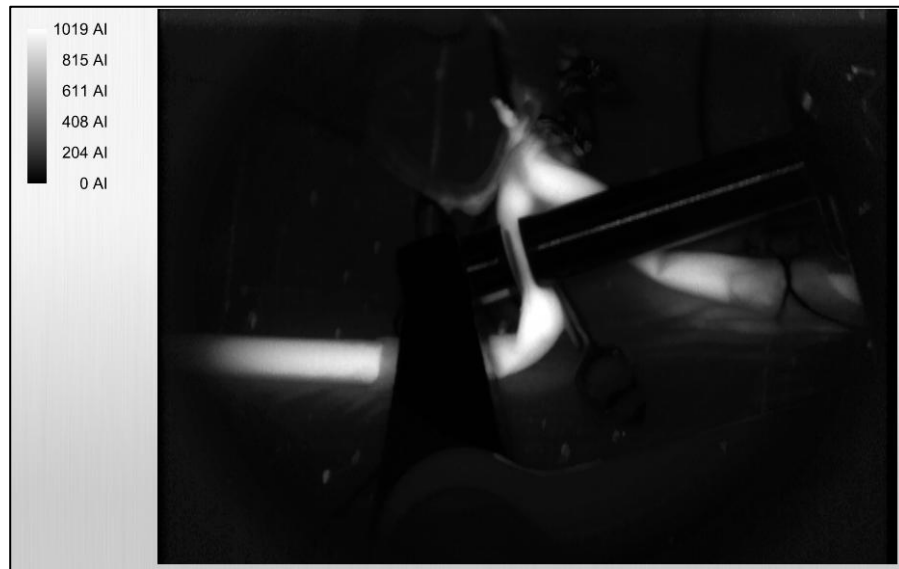


Figura 89.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (50% del diámetro externo)

Mapa de retardo:

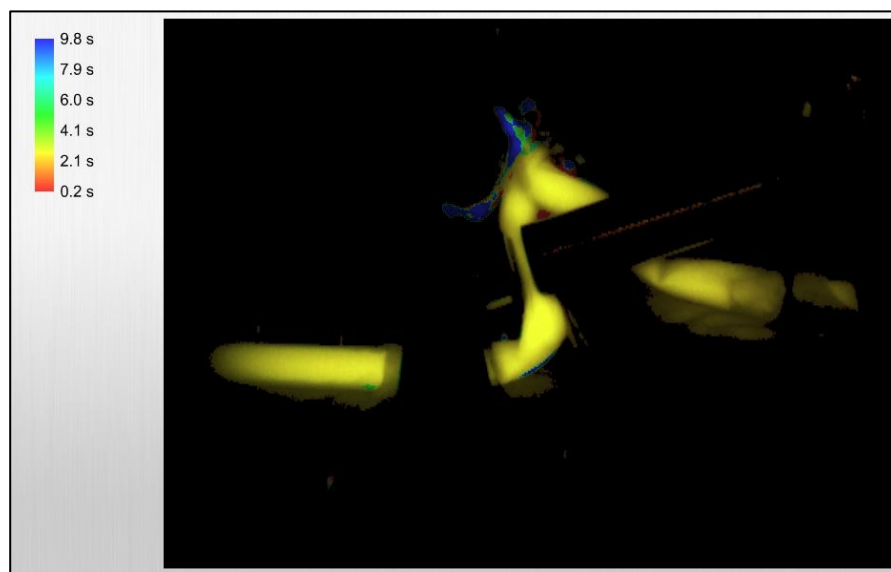


Figura 90.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha con su diámetro externo reducido a la mitad del valor inicial por el micrómetro.

Diagrama:

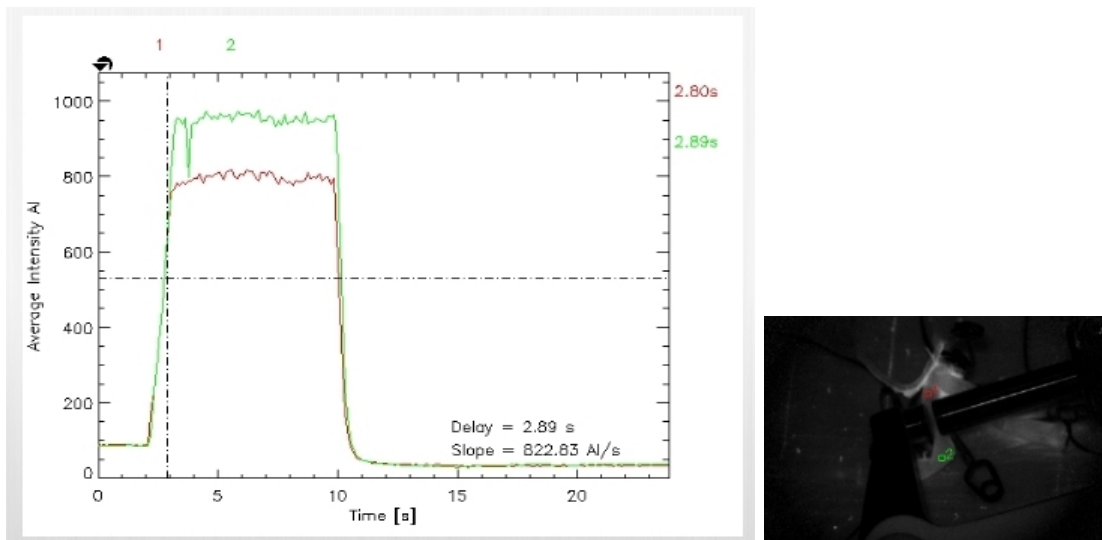


Figura 91.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el segundo pulso (F2) sobre la arteria vertebral derecha. A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo (1) corresponde al punto pre-estenosis y el verde (2) al punto post-estenosis que se ha realizado, dispuestos de forma análoga al pulso previo.

Tras este segundo pulso tampoco se objetiva fluorescencia residual.

### PULSO 3 (F3)

Estenosis puntual con clip quirúrgico.

En el tercer pulso a través de la arteria vertebral derecha también se detecta fluorescencia.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco, 1019 AI) (Figura 92). Si se considera en relación con la velocidad en el mapa de retardo, se expresa con color amarillo-anaranjado cuya traducción cuantitativa aproximada es de 2,2 s (Figura 93).

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada, como en los pulsos previos, con unos tiempos de demora de 2,25 s para el punto proximal a la



estenosis y 2,36 s para el distal, esto es 0,11 s de diferencia entre ambos, similar a los previos (Figura 94).

Mapa de intensidad:

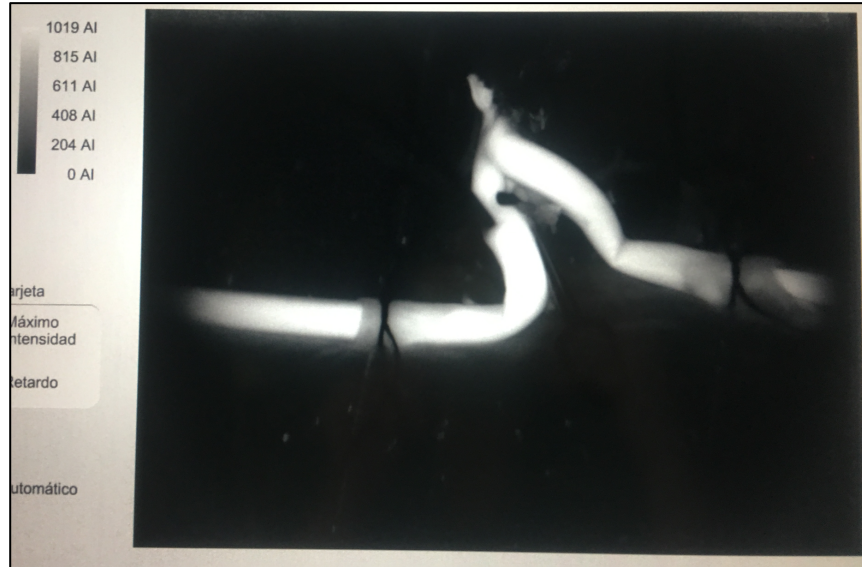


Figura 92.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso (F3) sobre la arteria vertebral derecha con su diámetro externo reducido en un único punto.

Mapa de retardo:



Figura 93.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) con su diámetro externo reducido en un único punto.

Diagrama:

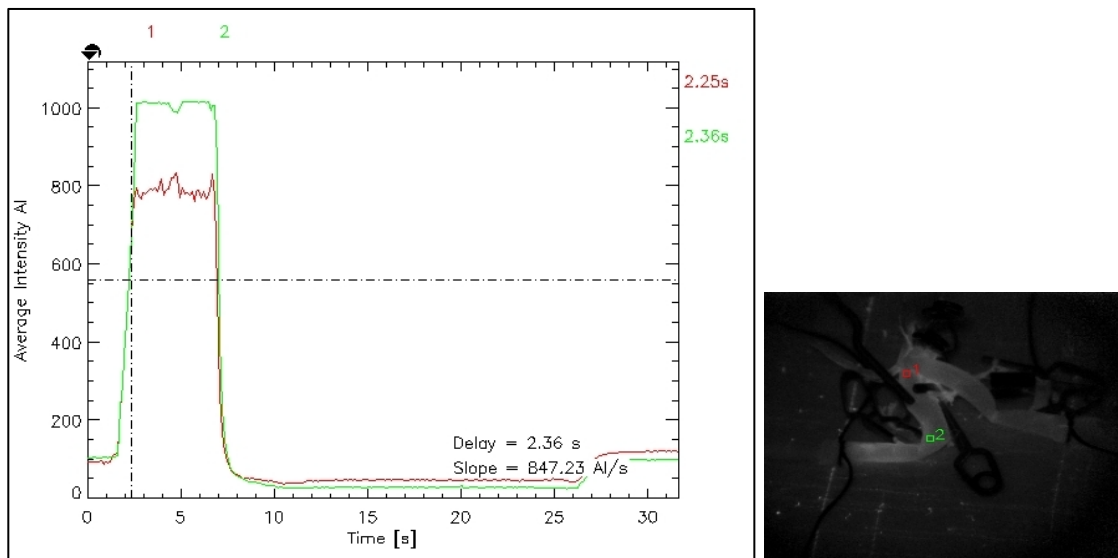


Figura 94.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el tercer pulso (F3) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1). A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo (1) corresponde al punto pre-estenosis y el verde (2) al punto post-estenosis que se ha realizado, dispuestos de forma análoga a los pulsos anteriores.

Tras este tercer pulso tampoco se objetiva fluorescencia residual.

## COMPARATIVA ENTRE PULSOS

### F1 vs F2

Al comparar los resultados del primer pulso con los del segundo en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando escalas independientes no existen diferencias cualitativas significativas (Figura 95). Al usar una única escala colorimétrica, el segmento de arteria vertebral derecha estudiado igualmente arroja un color muy similar para ambos pulsos, poco distinguible a simple vista., siendo difícil poder cuantificarlo con exactitud (Figura 96).

Sin embargo, cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad tanto con escalas independientes como con la misma escala temporal (F1 izquierda, F2 derecha) se observa un cambio cualitativo en el color observado, pasando

de un naranja (F1) a amarillo (F2) en escalas diferentes y de azul (F1) a naranja (F2) con una sola escala (Figuras 97 y 98)

En cuanto a la morfología del diagrama, ambos tienen una pendiente ascendente pronunciada y en este caso el descenso es muy similar, con una mínima diferencia en el tiempo de demora de 0,07 s en el primer pulso frente a los 0,09 s del segundo (Figura 99).

Mapa de intensidad :

Comparación con escalas independientes:

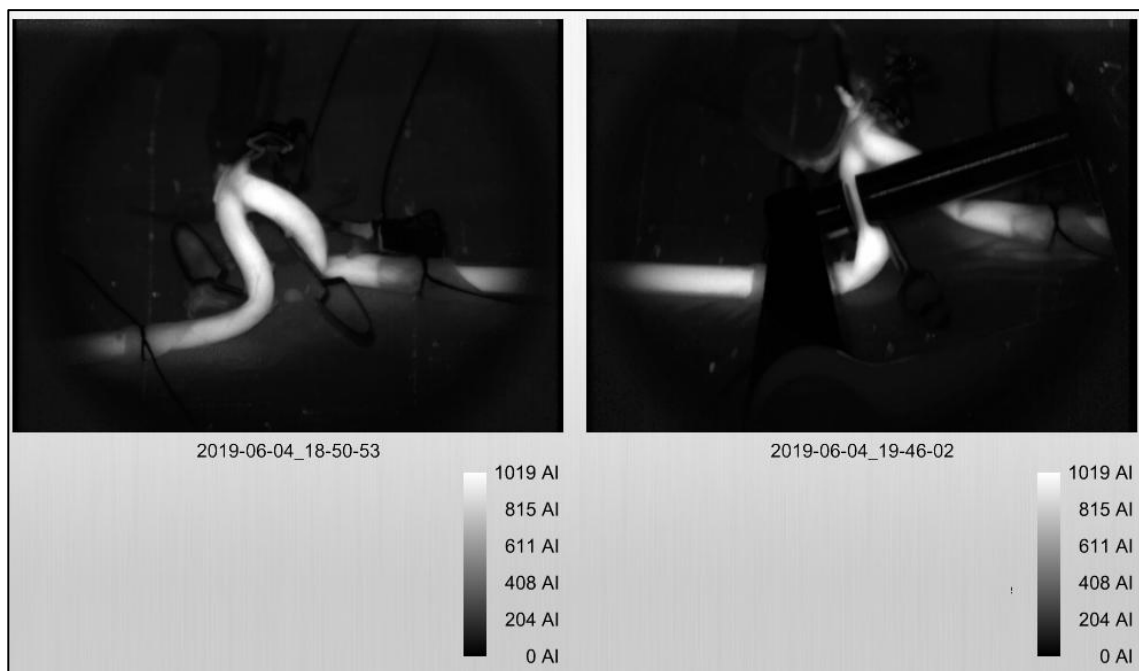


Figura 95.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) empleando escalas independientes.

Comparación con escala única:



Figura 96.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

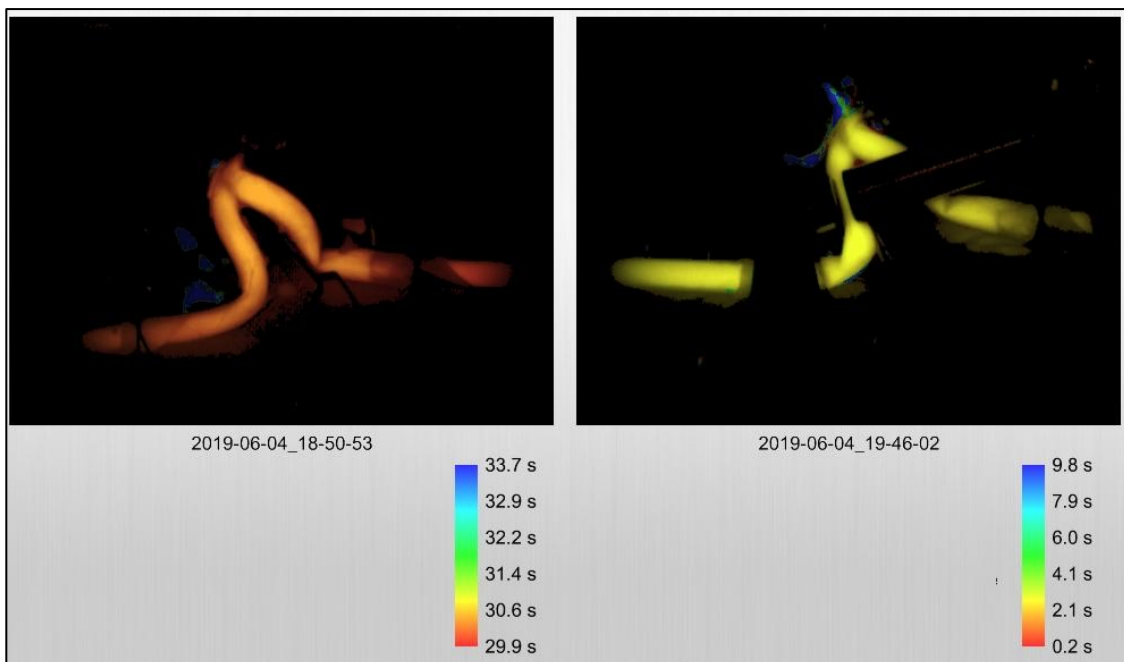


Figura 97.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando escalas colorimétrica independientes.

Comparación con escala única:

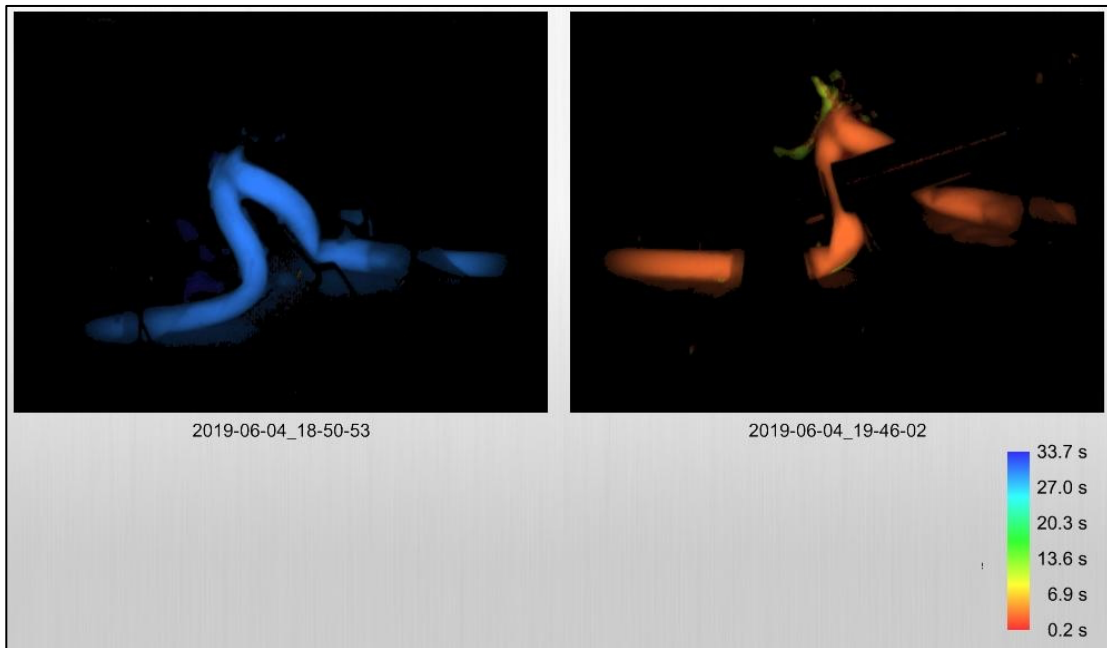


Figura 98.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada.

Diagrama:

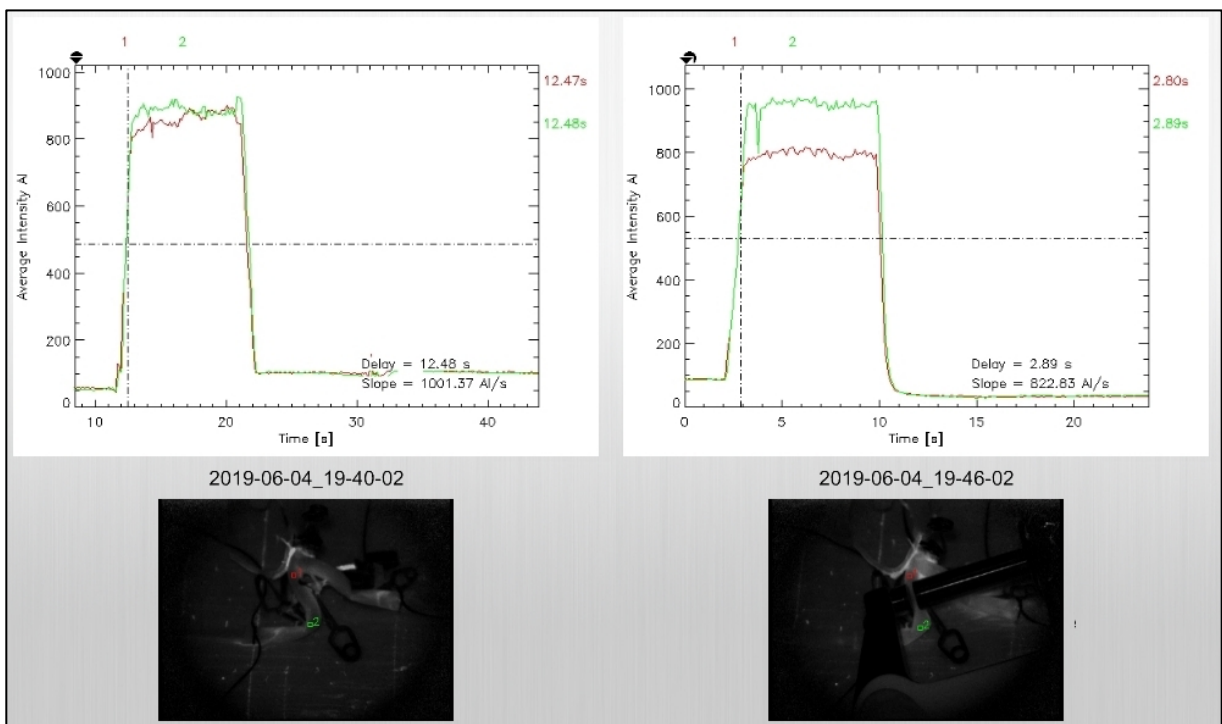


Figura 99.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1).

### F1 vs F3

Al comparar los resultados del primer pulso con los del tercero en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando escalas independientes no existen diferencias cualitativas apreciables (Figura 100). Al usar una única escala colorimétrica, el segmento de arteria vertebral derecha estudiado igualmente arroja un color prácticamente superponible para ambos (Figura 101).

Cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad con escalas independientes se observa un cambio de color desde el rojo (F1) a anaranjado (F3). Pero este cambio cualitativo observado en el color es más acusado si se emplea una escala única pasando de verde (F1) a rojo (F3) (Figuras 102 y 103).

En cuanto a la morfología del diagrama, ambos tienen una pendiente ascendente pronunciada y en este caso el descenso es muy similar, con una mínima diferencia en el tiempo de demora de 0,07 s en el primer pulso frente a los 0,11 s del tercero (Figura 104).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

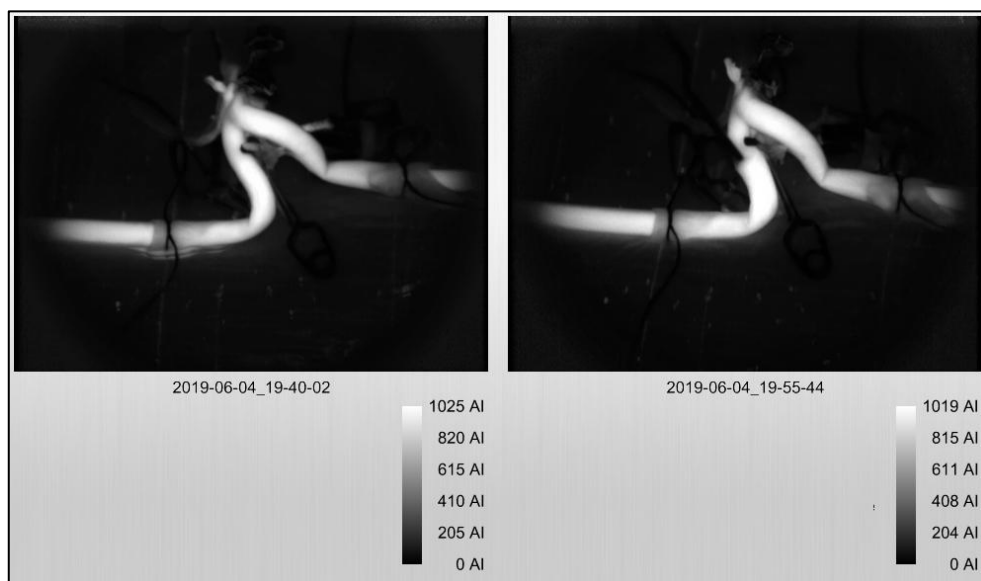


Figura 100.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando escalas colorimétrica independientes.

Comparación con escala única:



Figura 101.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando una única escala.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

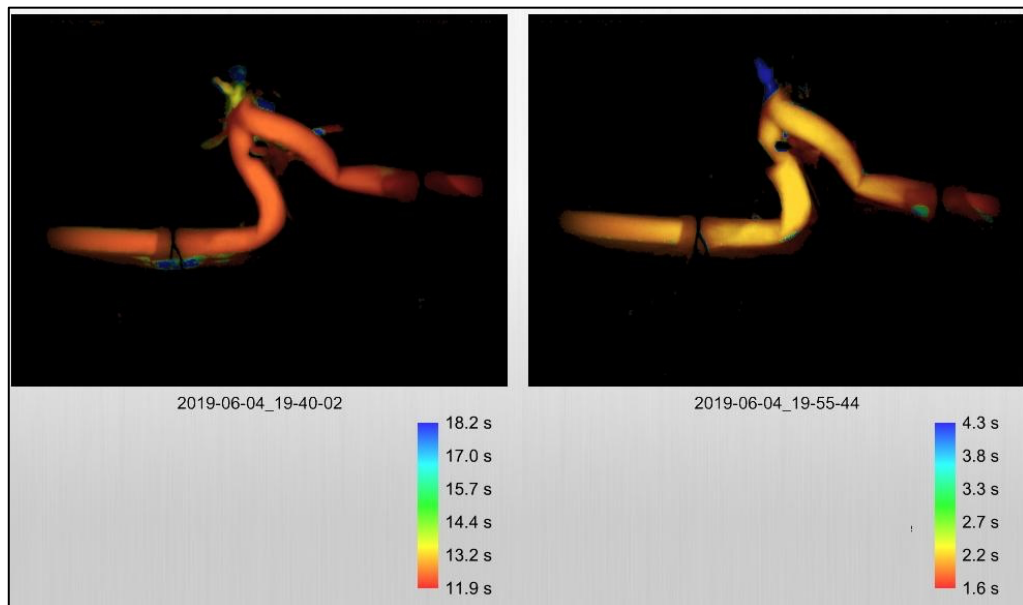


Figura 102.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando escalas independientes.

Comparación con escala única:

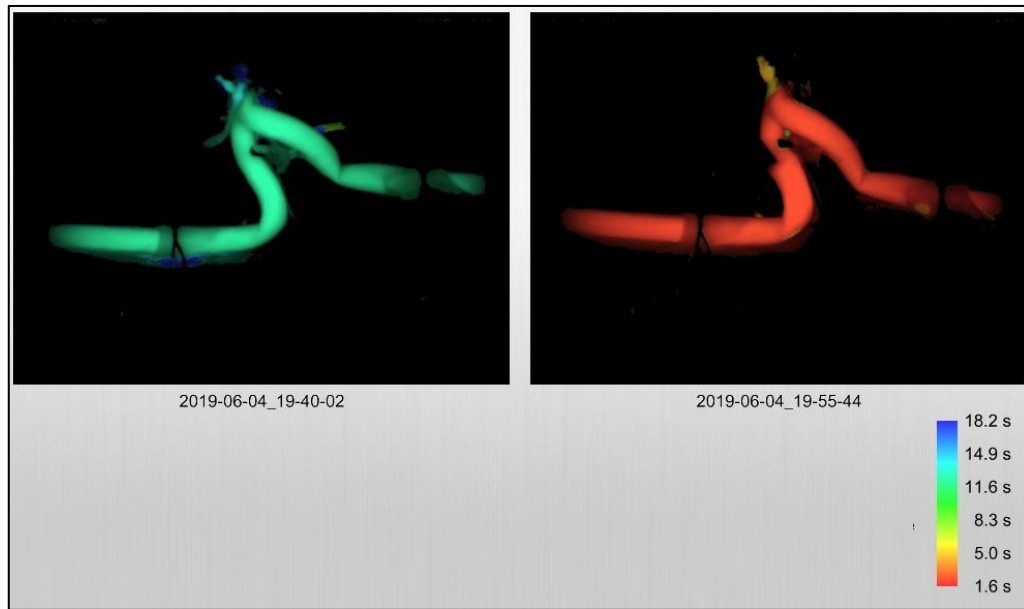


Figura 103.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1) empleando una única escala colorimétrica y cuantitativa aproximada.

Diagrama:

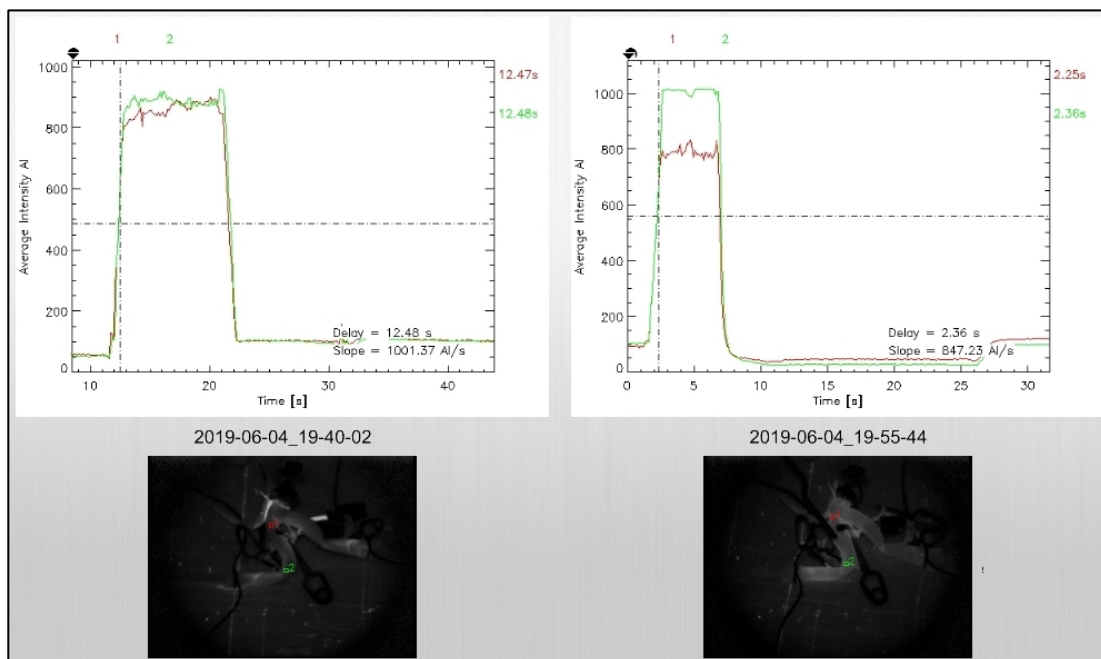


Figura 104.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 1).



## 5.2 CASO 2

### 5.2.1 Descripción:

Imágenes descriptivas del segundo sistema encefálico estudiado:

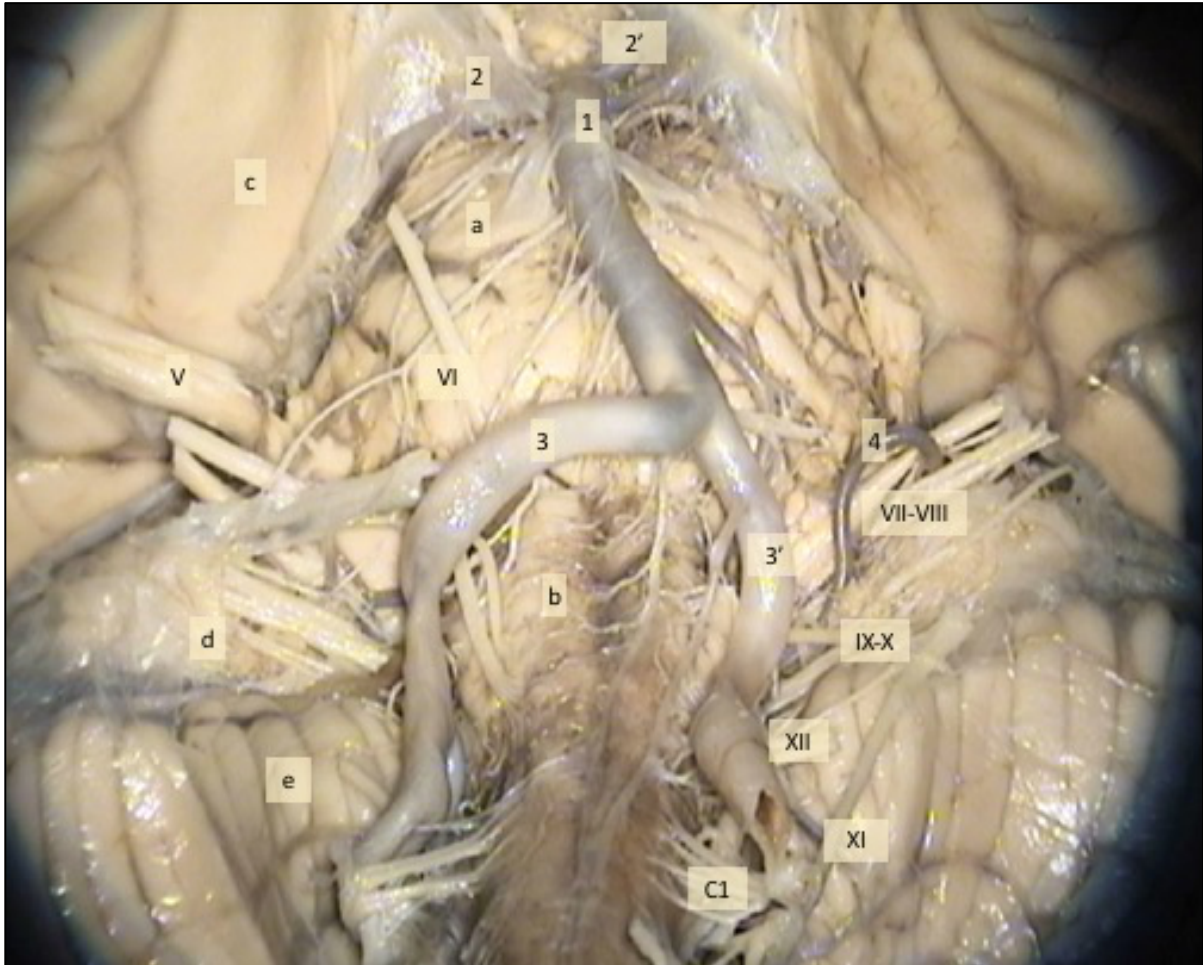


Figura 105.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 2: los números se refieren a estructuras vasculares, las letras minúsculas representan estructuras encefálicas adyacentes y finalmente los números romanos enumeran los nervios craneales. 1: A. Basilar; 2 y 2': AA. Cerebrales Posteriores, donde la derecha se encuentra parcialmente cubierta por aracnoides ; 3y 3': AA. Vertebrales (segmento V4); 4: AICA izquierda (en clara relación con los nervios VII y VIII); a: Protuberancia; b: Bulbo raquídeo; c: Giro parahipocampal (lóbulo temporal) derecho; d: flóculo cerebeloso; e: cerebelo; V: V par izquierdo o Nervio (N.) Trigémينو; VI: VI par o N. Abducens/Motor ocular externo externo; VII: VII par o N. Facial; VIII: VIII par o N. Vestibulococlear; IX: IX par o N. Glosofaríngeo; X: X par o N. Vago; XI: XI par o N. Espinal; XII: XII par o N. Glosofaríngeo; C1: Raíz espinal C1

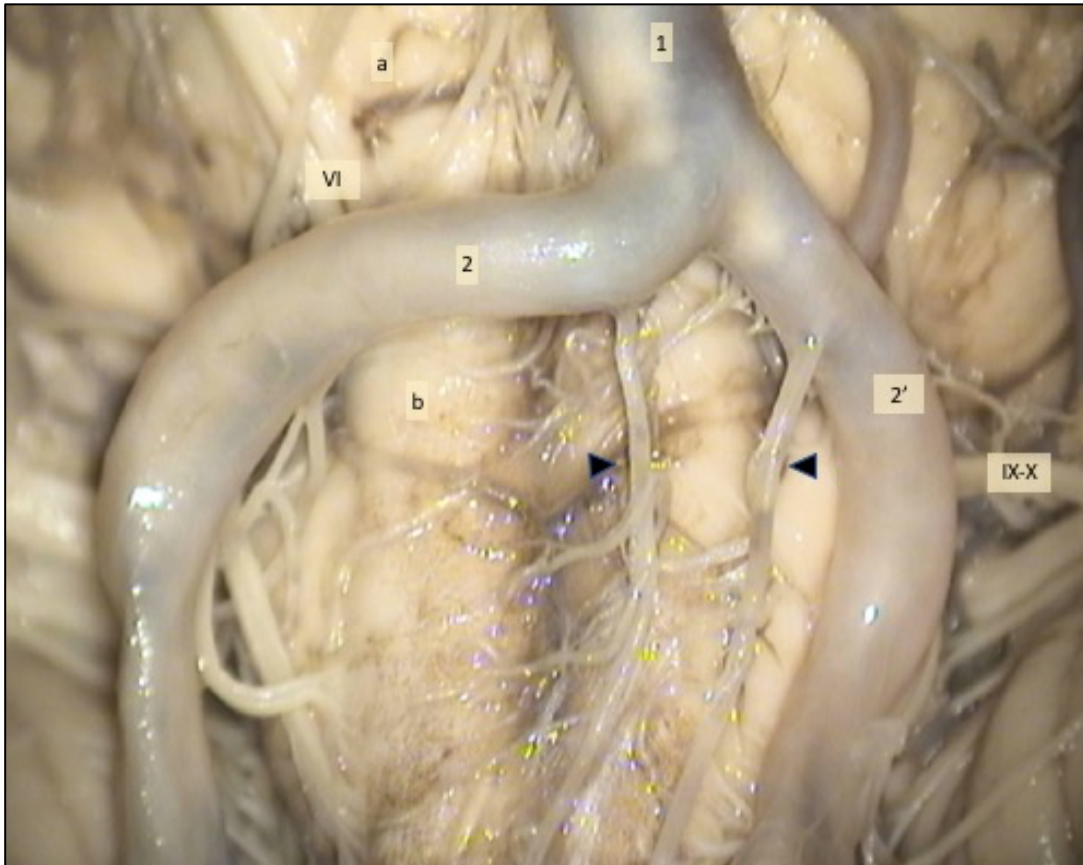


Figura 106.- Detalle a mayor aumento de la unión vértebro-basilar, siguiendo la misma nomenclatura que en la imagen previa (Números para estructuras vasculares, letras para estructuras encefálicas, números romanos para nervios craneales): 1: A. Basilar, 2 y 2': AA. Vertebrales (segmento V4); a: Protuberancia; b: Bulbo raquídeo; VI: VI par; IX-X: IX-X par craneales; Las puntas de flecha señalan las ramas originadas desde ambas AA. Vertebrales que habitualmente se unen para formar la A. Espinal anterior y que, como variante de la normalidad, en este caso discurren por separado en paralelo.

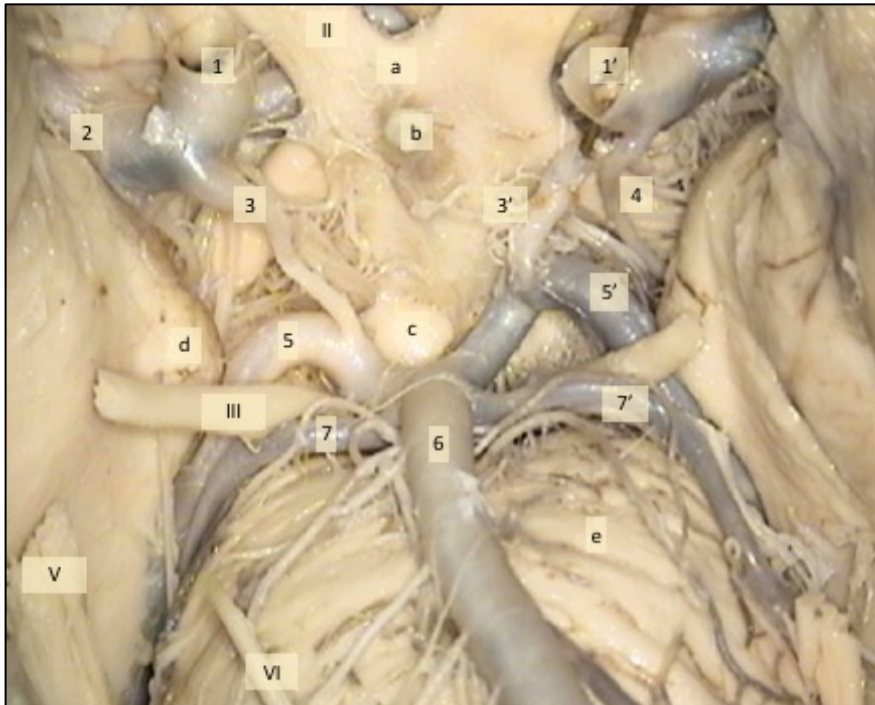


Figura 107.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 2, centrada en la unión de las circulaciones anterior y posterior: 1 y 1': ACI; 2: ACM (segmento M1); 3 y 3': AA. Comunicantes posteriores; 4: A. Coroidea anterior (AChA) izquierda; 5 Y 5': AA. Cerebrales Posteriores (ACP), segmento post-comunicante o P2; 6: A. Basilar; 7 y 7': AA. Cerebelosas Superiores (ACS); a: Quiasma óptico; b: Infundíbulo-tallo hipofisario; c: Cuerpos mamilares; d: Uncus (lóbulo temporal); e: Protuberancia; II: II par craneal o N. Óptico; III: III par o N. Motor Ocular Común; V: V par izquierdo o Nervio (N.) Trigémico; VI: VI par o N. Abducens/Motor ocular externo.



Figura 108.- Imagen a mayor aumento del complejo circulatorio anterior retrayendo con una espátula el quiasma óptico: 1 y 1': AA. Carótidas Internas; 2 y 2': AA. Cerebrales Anteriores (ACA) en su segmento precomunicante (A1); 3: ACM derecha; a: Giro recto (lóbulo frontal); I: I par craneal o N. Olfatorio.



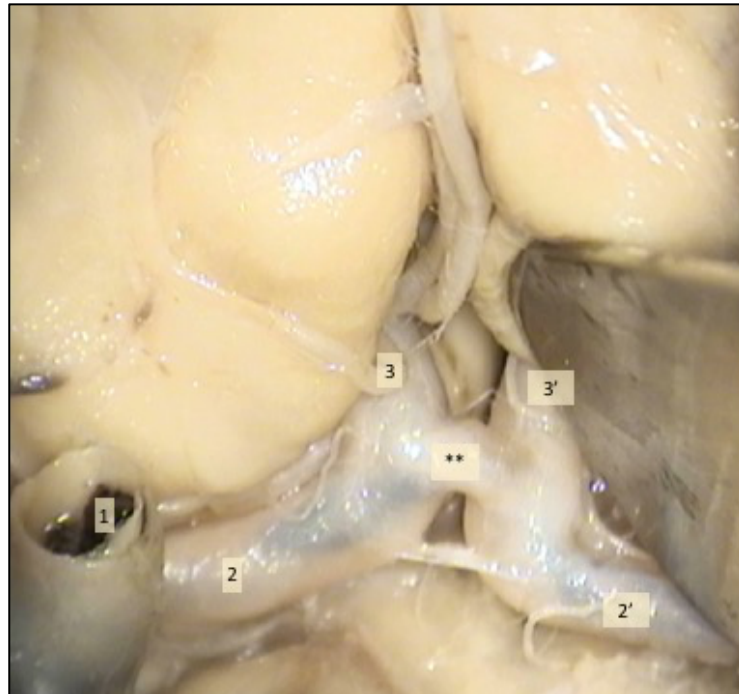


Figura 109.- Misma imagen previa (Caso 2) con mayor aumento, que con retracción del giro recto izquierdo permite exponer el complejo comunicante anterior por completo: 1: ACI derecha; 2 y 2': ACA segmento precomunicante o A1; 3 y 3': ACA segmento postcomunicante o A2; \*\* : A. Comunicante Anterior (ACoA).

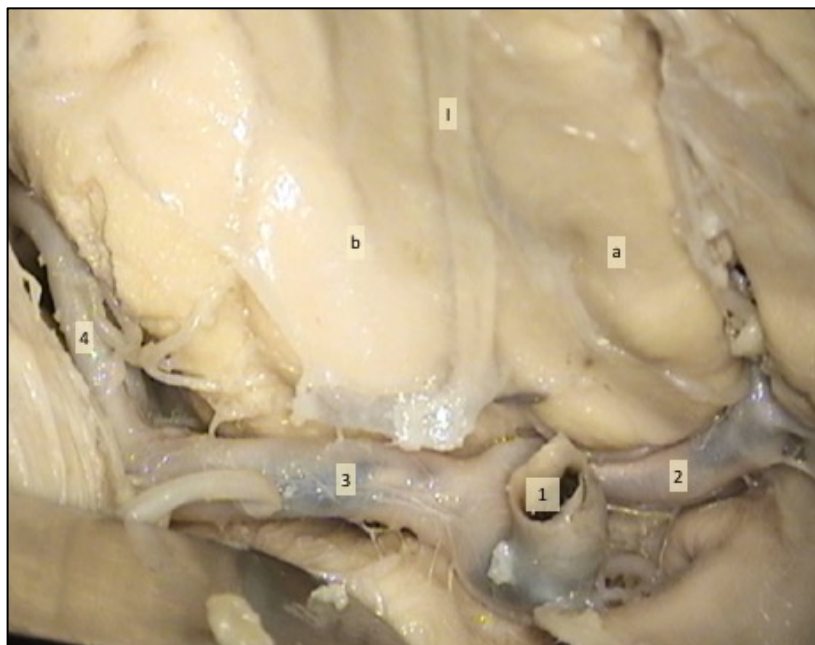


Figura 110.- Visión basal retrayendo el polo del lóbulo temporal derecho exponiendo la cisura de Silvio por donde discurre la ACM derecha (Caso 2): 1: ACI derecha; 2: ACA derecha; 3: ACM derecha, segmento horizontal o M1; 4: ACM derecha, segmento insular o M2; a: Giro recto (lóbulo frontal derecho); b: Giros orbitarios (lóbulo frontal derecho); I: I par craneal o N. Olfatorio.

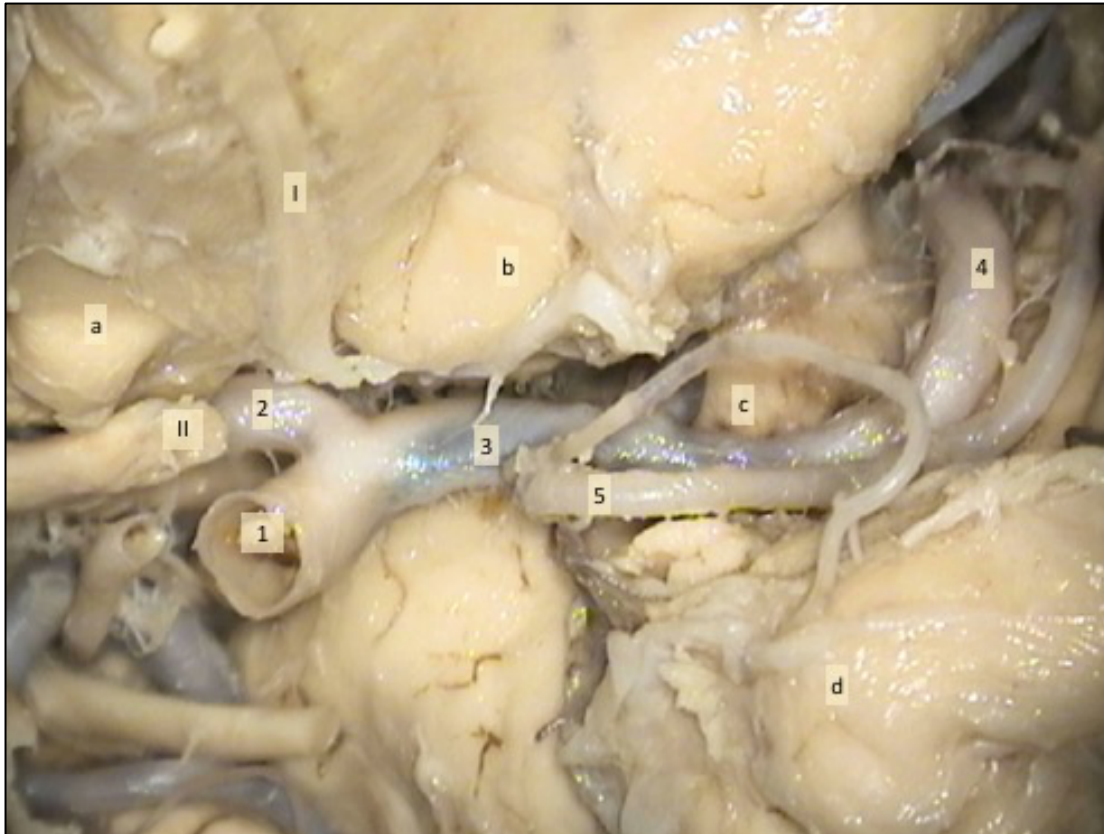


Figura 111.- Visión basal lateral con apertura de la cisura de Silvio exponiendo la ACM izquierda (Caso 2): 1: ACI izquierda; 2: ACA izquierda; 3: ACM izquierda (segmento horizontal o M1); 4: ACM izquierda (segmento insular o M2), Nótese el cambio de dirección de la ACM entre sus segmentos horizontal e insular, punto en donde suele situarse su bifurcación; 5: A. Temporal Anterior izquierda; a: Giro recto (lóbulo frontal izquierdo); b: Giros orbitarios (lóbulo frontal izquierdo); c: Limen de la ínsula (lóbulo temporal izquierdo); d: polo del lóbulo temporal izquierdo.



Figura 112.- Imagen del sistema encefálico anterior (Caso 2) una vez disecado del resto de estructuras nerviosas (nótese el abundante número de pequeñas ramas perforantes originadas en cada una de las arterias principales): 1 y 1': ACI; 2 y 2': ACA (segmento postcomunicante o A2); 3 y 3': ACM (segmento horizontal o M1); 4 y 4': ACoP; 5: AChA; 6 y 6': ACP (segmento postcomunicante o P2); 7 y 7': ACS; 8: A. Basilar.





Figura 113.- Imagen de la cara anterior del sistema encefálico previo disecado, centrada en la circulación posterior: 1: AcoP derecha; 2 y 2': ACP (segmento postcomunicante o P2), 3 y 3': ACS; 4: A. Basilar; 5 y 5': AA. Vertebrales; 6 y 6': PICA; 7: AA. Espinales anteriores.



Figura 114.- Imagen centrada en ambas arterias vertebrales objeto de estudio y que se encuentran canuladas a tal fin (Caso 2): 1: A. Basilar; 2 y 2': AA. Vertebrales; 3 y 3': PICA; 4: Cánula aferente (entrada del fluido); 5: Cánula eferente (salida del fluido); La flecha amarilla señala la dirección del flujo. Los clips quirúrgicos se encuentran

ocluyendo las ramas y arterias perforantes no pertinentes para el estudio, a falta de ocluir la A. Basilar para convertirlo en un sistema circulatorio cerrado entre las dos arterias vertebrales.

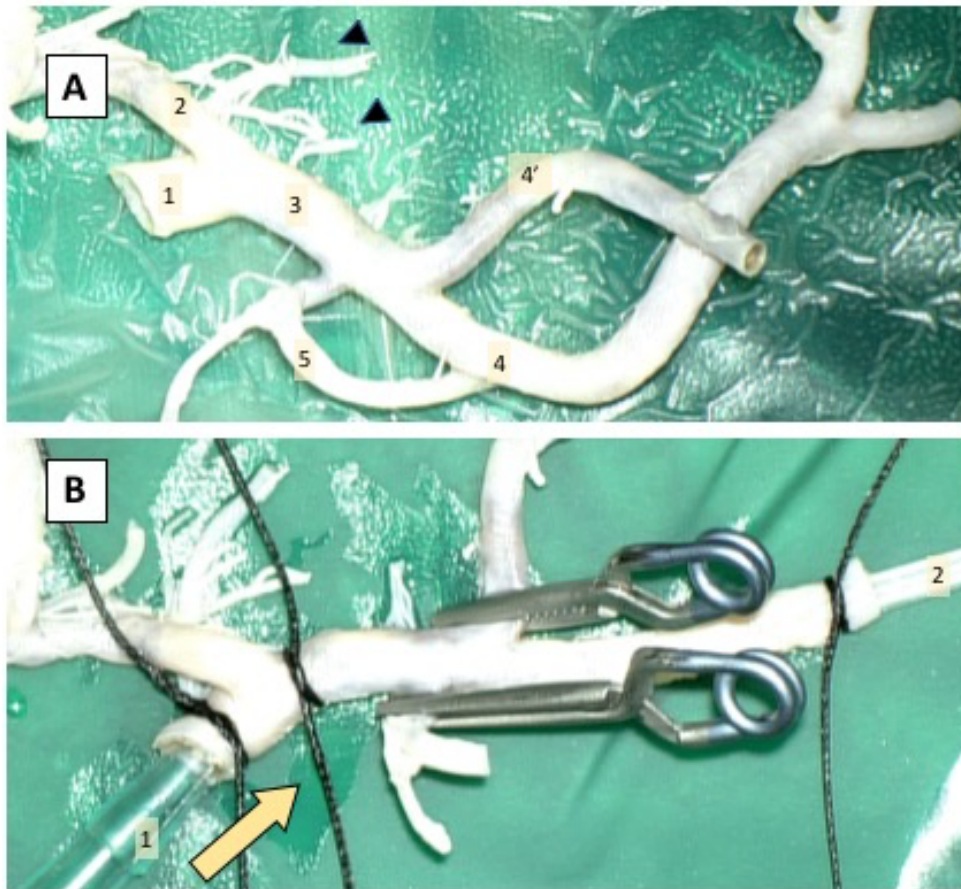


Figura 115.- Imagen de la Arteria cerebral media izquierda observada en este estudio. **A:** 1: ACI izquierda; 2: ACA izquierda; 3: ACM izquierda (segmento horizontal o M1), segmento objeto del estudio. Véase la corta longitud del mismo, encontrándose la bifurcación carotídea muy próxima a la bifurcación de la propia ACM. , segmento horizontal o M1; 4 y 4': Ramas frontal y temporal de la ACM izquierda, segmento insular o M2; 5: A. Temporal Anterior izquierdo. Las puntas de flecha señala las numerosas arterias perforante originadas en la bifurcación de la ACI y segmentos A1 y M1. **B:** Mismo espécimen canulado y con clips ocluyendo las ramas y arterias perforantes no pertinentes para el estudio. 1: cánula aferente (entrada del fluido); 2: cánula eferente (salida del fluido); La flecha amarilla señala la dirección del flujo.



### **5.2.2 Análisis de fluorescencia:**

De este segundo sistema arterial se emplean 2 arterias: la arteria vertebral izquierda y la arteria cerebral media (ACM) izquierda.

Se desestiman ambas arterias carótidas internas por tratarse de segmentos muy cortos, imposibles de canular. La arteria cerebral anterior derecha presenta un poro en su origen que no es posible reparar e invalida, por la forma del complejo anterior el estudio de las arterias del lado derecho. La ACM derecha se desdeña por presentar múltiples poros en la pared impidiendo la estanqueidad del sistema circulatorio artificial. Por último, las arterias cerebrales posteriores, cerebelosas superiores, AICA y PICA, igualmente no se consideran aptas para el estudio porque su reducido calibre no permite reproducir las pruebas de reducción del calibre.

#### **5.2.2.1 Arteria vertebral izquierda:**

##### **PULSO 1 (F1)**

Diámetro externo (100%): 3,11 mm

En el primer pulso a través de la arteria vertebral izquierda del Caso 2, se detecta fluorescencia.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco-grisáceo, 752 AI) (Figura 116). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un color rojo algo anaranjado cuya traducción cuantitativa aproximada es de entre 11,3 y 17,4 s (Figura 117).

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada, como en casos anteriores, lo que traduce un flujo rápido o arterial, con unos tiempos de demora de

13,25 s para el punto proximal a la estenosis y 13,35 s para el distal, esto es 0,1 s de diferencia entre ambos (Figura 118).

Mapa de intensidad:



Figura 116.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo en situación basal.

Mapa de retardo:

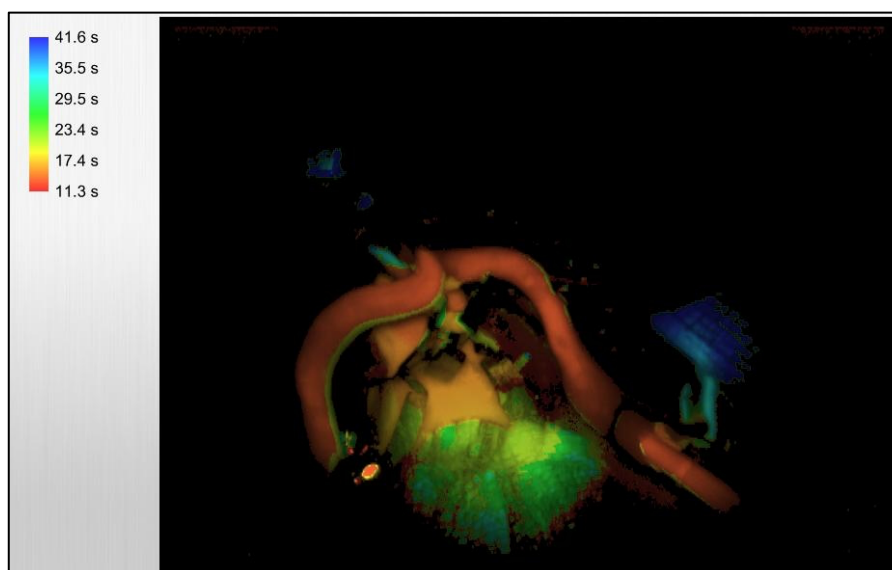


Figura 117.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo basal.

Diagrama:

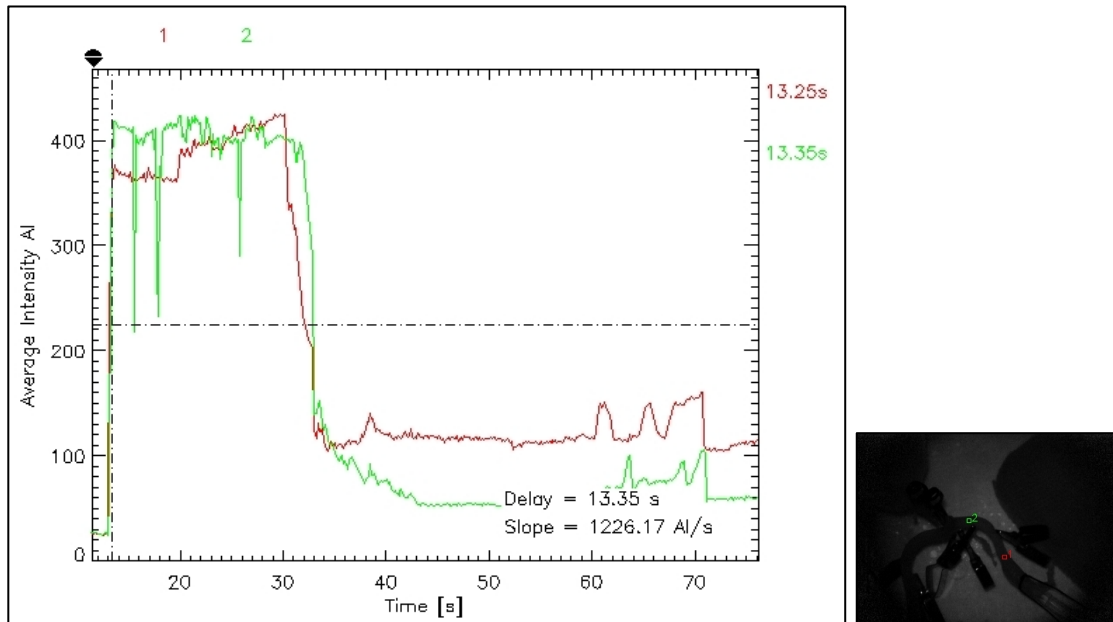


Figura 118.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso sobre la A. Vertebral izquierda (Caso 2). A la derecha imagen de referencia sobre la localización de los ROIs. En rojo corresponde al punto pre-estenosis y en verde al punto post-estenosis, que se recogerán igualmente en los siguientes pulsos.

Tras este primer pulso no se objetiva fluorescencia residual.

## PULSO 2 (F2)

Diámetro externo (50%): 1,55 mm.

En el segundo pulso a través de la arteria vertebral izquierda del Caso 2, igualmente se detecta fluorescencia.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores de ésta en el segmento estenosado (color blanco-grisáceo, entre 498-622 AI) (Figura 119). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un color rojo oscuro cuya traducción cuantitativa aproximada es de 11,2 s (Figura 120).

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada, como en el pulso previo, con unos tiempos de demora de 11,63 s para el punto proximal a la estenosis y 11,76 s para el distal, esto es 0,13 s de diferencia entre ambos (Figura 121).

Mapa de intensidad:



Figura 119.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido al 50%.

Mapa de retardo:

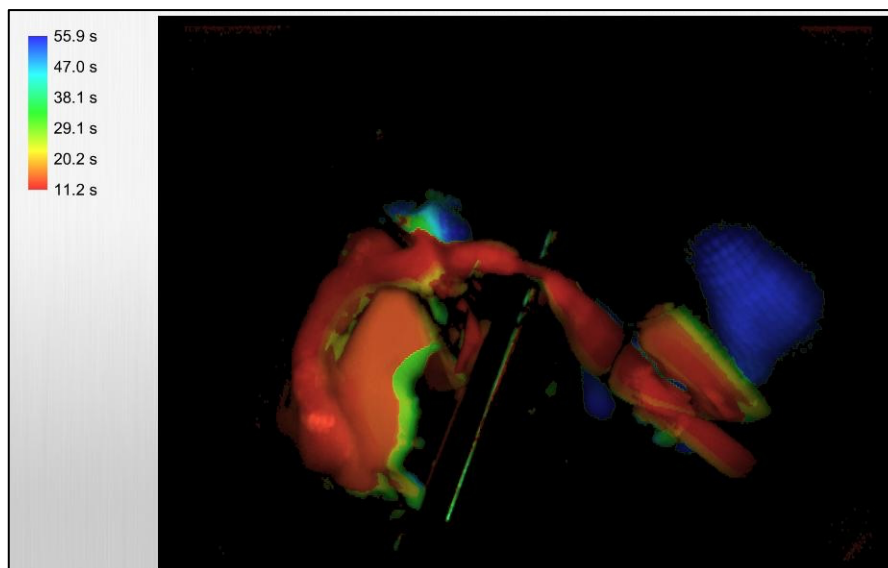


Figura 120.- Mapa de retardo intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido al 50%.

Diagrama:

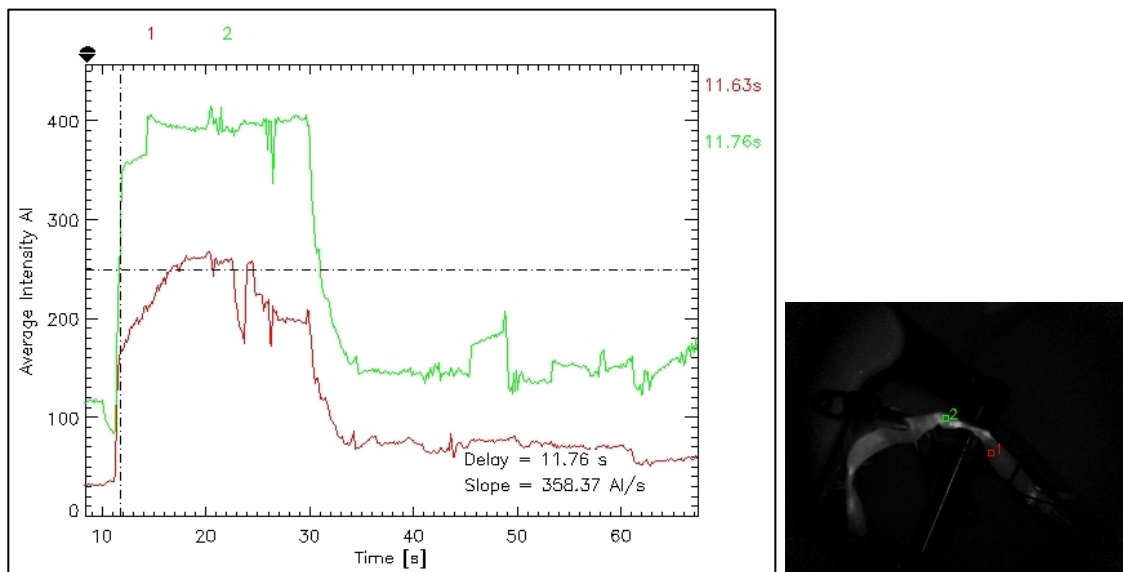


Figura 121.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2). A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto pre-estenosis y en verde al punto post-estenosis establecida, que se recogerán igualmente en el siguiente pulso.

Tras este segundo pulso tampoco se objetiva fluorescencia residual.

### PULSO 3 (F3)

Estenosis puntual con clip quirúrgico.

En el tercer pulso a través de la arteria vertebral izquierda también se detecta fluorescencia. En este pulso se produce una fuga masiva del fluido con ICG que impide visualizar correctamente la arteria contralateral, permitiendo sin embargo, el análisis adecuado de la arteria vertebral izquierda.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco, 717 AI) (Figura 122). Si se considera en relación con la velocidad en el mapa de retardo, se expresa con color amarillo cuya traducción cuantitativa aproximada es de 8,8 s (Figura 123).

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada para ambos puntos de interés, como en los pulsos previos, aunque el descenso de intensidad es distinto e irregular, con unos tiempos de demora de 11,09 s para el punto proximal a la estenosis y 12,88 s para el distal, esto es 1,79 s de diferencia entre ambos, mayor que en los pulsos (Figura 124).

Mapa de intensidad:

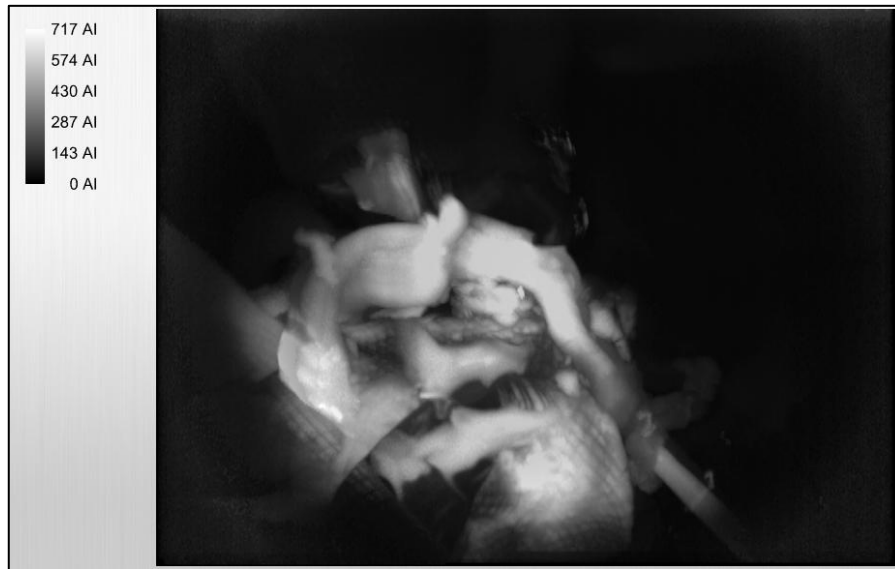


Figura 122.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico. Obsérvese la fuga masiva del fluido conductor con ICG.

Mapa de retardo intensidad:

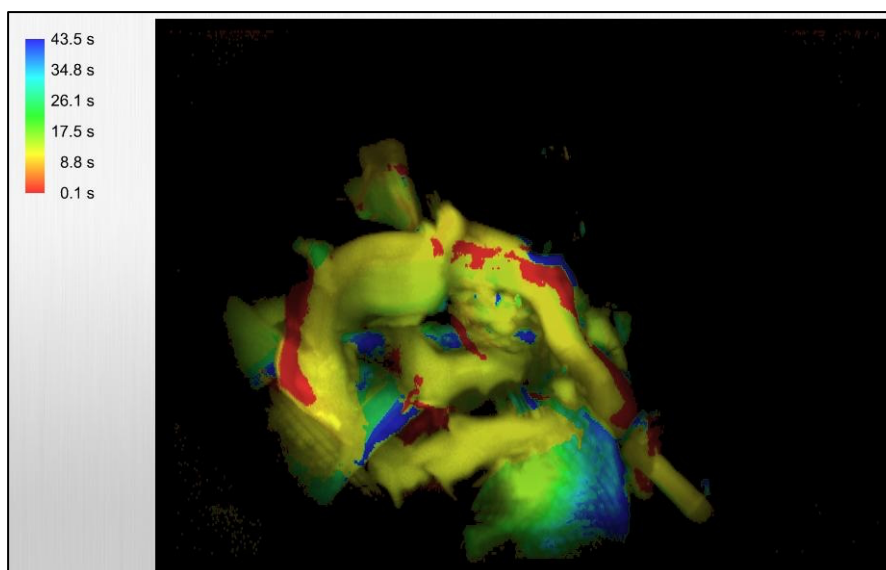


Figura 123.- Mapa de retardo intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico. Obsérvese la fuga masiva del fluido conductor con ICG. .

Diagrama:

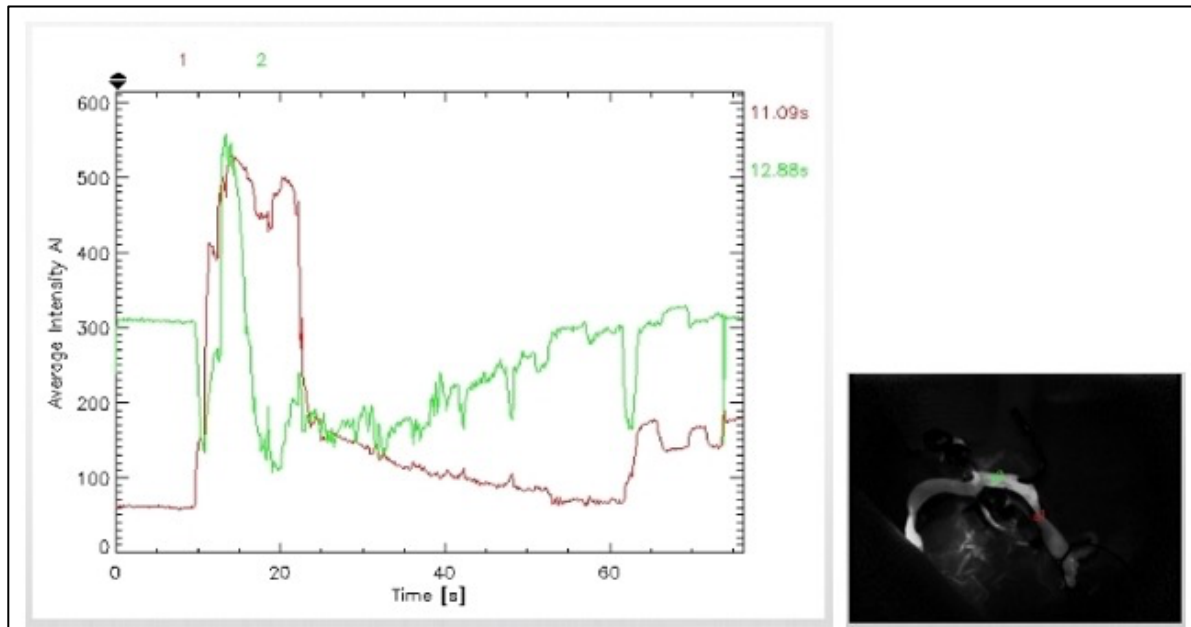


Figura 124.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2). A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto pre-estenosis y en verde al punto post-estenosis establecida en la misma localización que previamente.

Tras el tercer pulso no se ha comprobado si queda fluorescencia residual.

## COMPARATIVA ENTRE PULSOS

### F1 vs F2

Al comparar los resultados del primer pulso con los del segundo en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando escalas independientes no existen diferencias cualitativas significativas (blanco, 752 vs 622 AI respectivamente) (Figura 125). Al usar una única escala colorimétrica, el segmento de arteria vertebral izquierda estudiado igualmente arroja un color muy similar para ambos pulsos, poco distinguible a simple vista, aunque numéricamente aumentaría la diferencia (752 vs 601 AI) siendo difícil poder cuantificarlo con exactitud (Figura 126).

Cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad tanto con escalas independientes como con la misma escala temporal (F1 izquierda, F2 derecha) se observa un mínimo cambio cualitativo en el color observado, pasando de un naranja (F1) a rojo (F2) prácticamente indistinguibles (Figuras 127 y 128) a diferencia de lo ocurrido con especímenes anteriores.

En cuanto al diagrama, ambos tienen una pendiente ascendente pronunciada y morfología descendente similar, con una mínima diferencia en el tiempo de demora de 0,1 s en el primer pulso frente a los 0,13 s del segundo (Figura 129).



Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

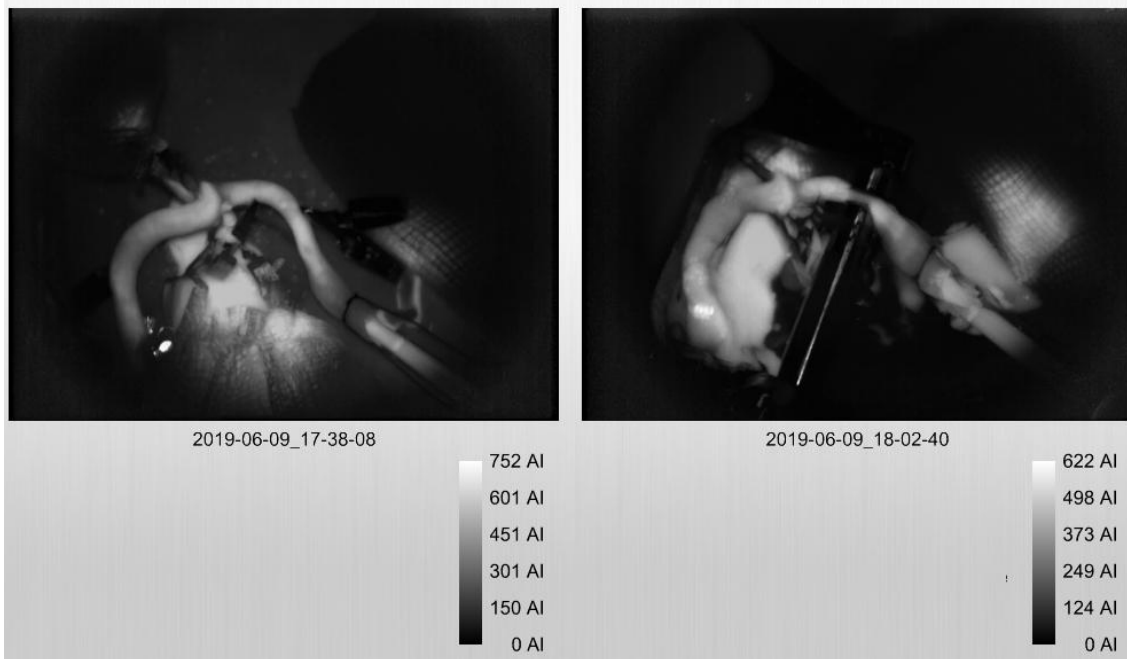


Figura 125.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando escalas colorimétrica independientes.

Comparación con escala única:

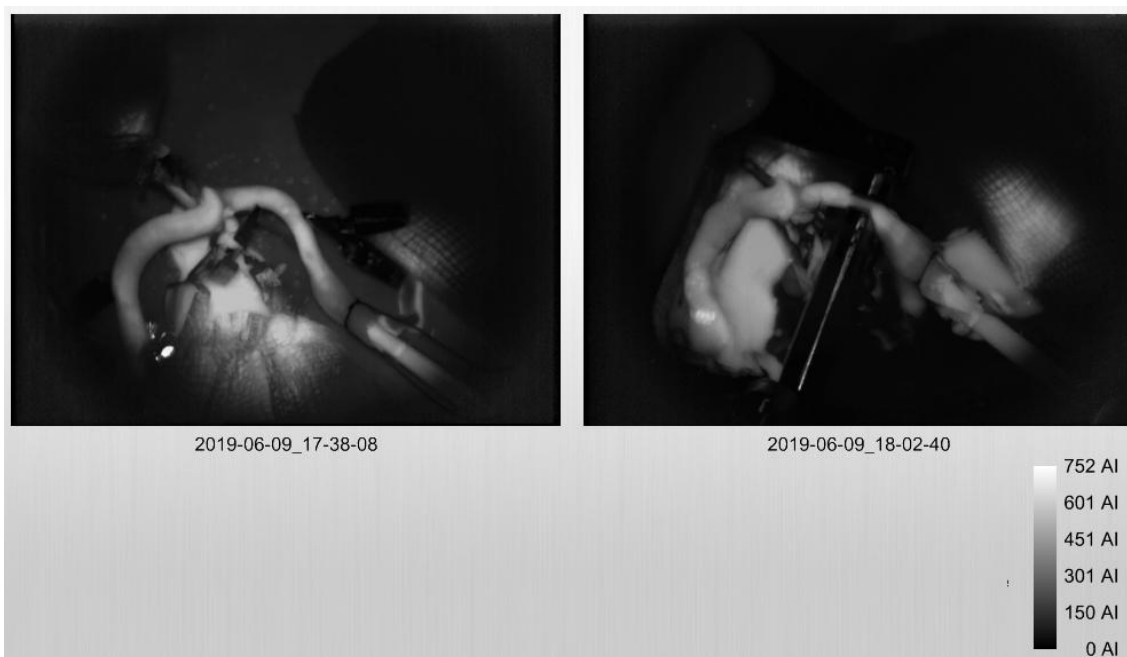


Figura 126.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando una única escala.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

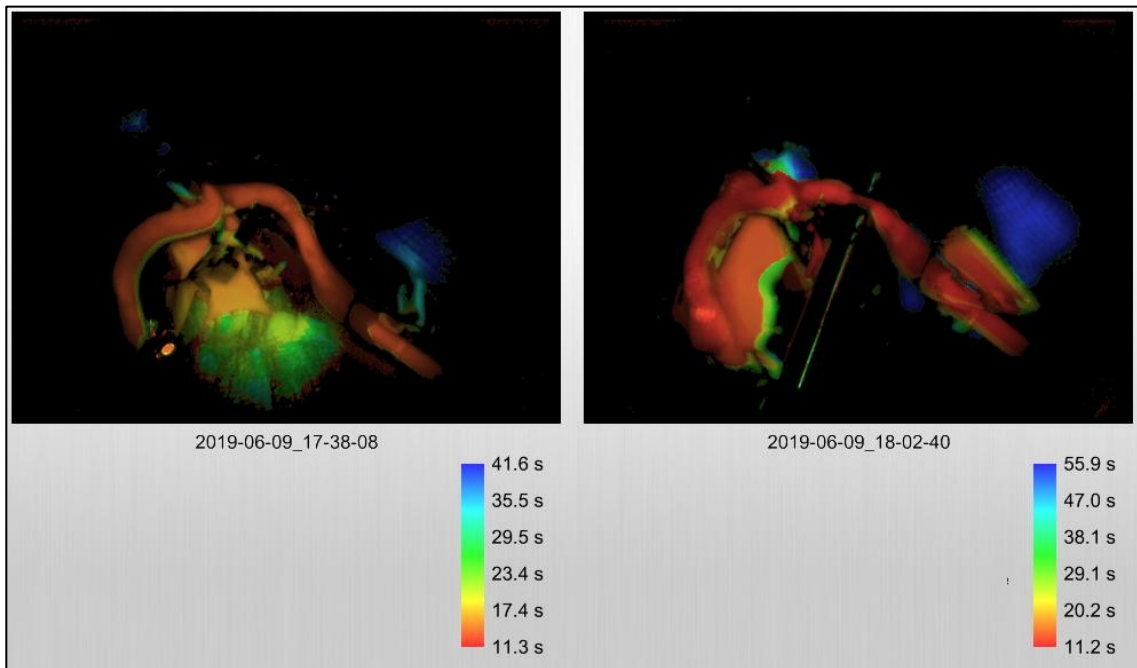


Figura 127.- Comparativa del mapa de retardo entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando escalas independientes.

Comparación con escala única:

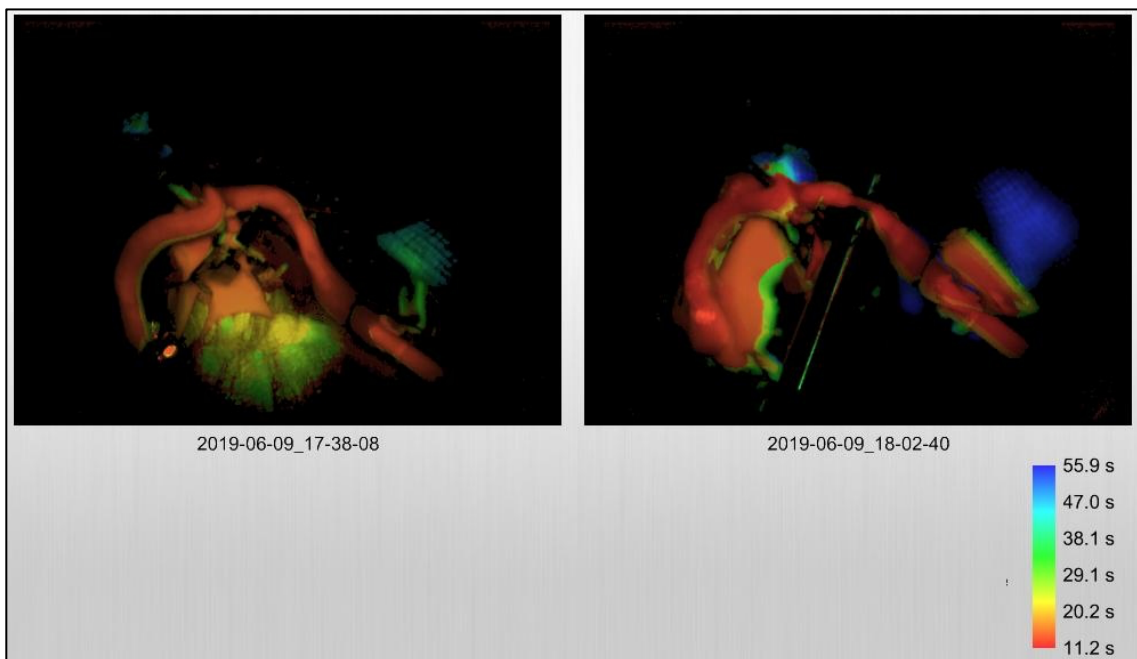


Figura 128.- Comparativa del mapa de retardo entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando una única escala.

Diagrama:

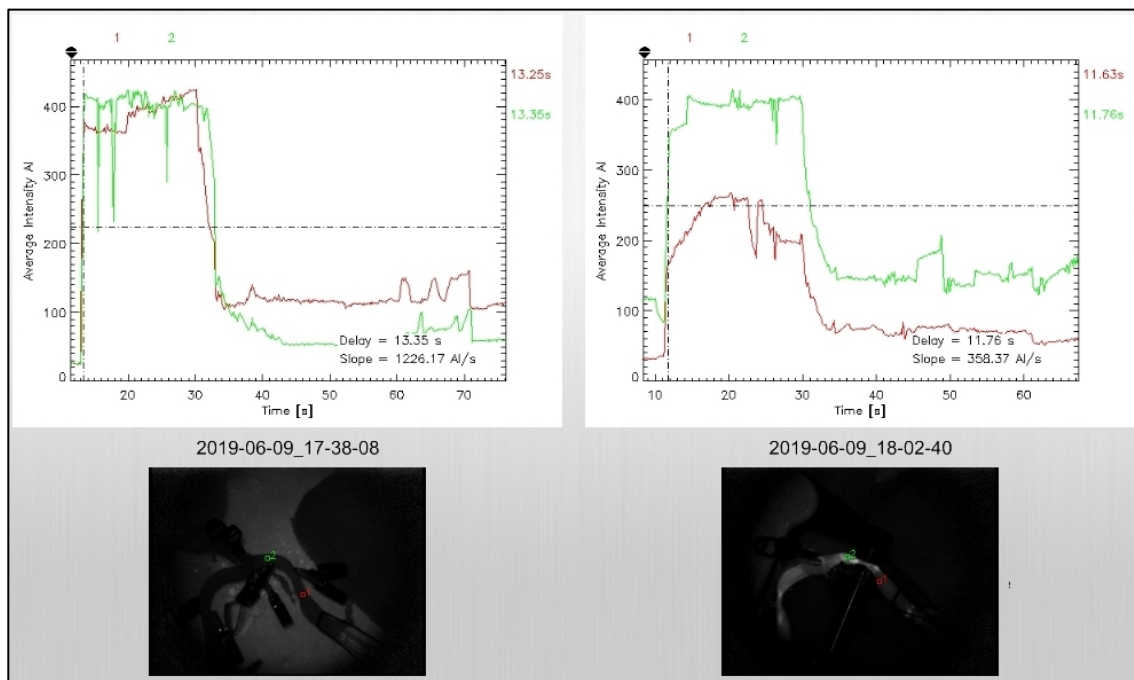


Figura 129.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2).

### F1 vs F3

Al comparar los resultados del primer pulso con los del tercer sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando escalas independientes se observa un color más intenso en el caso del tercer pulso que no se correlaciona con las unidades de intensidad (752 AI en F1 vs 717 AI en F3) (Figura 130). Al usar una única escala colorimétrica, el segmento arterial estudiado igualmente arroja un color blanco más intenso en el tercer pulso difícilmente cuantificable (Figura 131).

Cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad con escalas independientes se observa un cambio cualitativamente claro de color desde el rojo-anaranjado (F1) a amarillo (F3). Sin embargo, este cambio cualitativo en el color

observado, es menos acusado si se emplea una escala única pasando de verde (F1) a amarillo (F3) (Figuras 132 y 133).

En cuanto a la morfología del diagrama, ambos tienen una pendiente ascendente pronunciada, con una curva de descenso distinta, siendo la diferencia del tiempo de demora de 0,1 s en el primer pulso frente a los 1,79 s del tercero (Figura 134).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

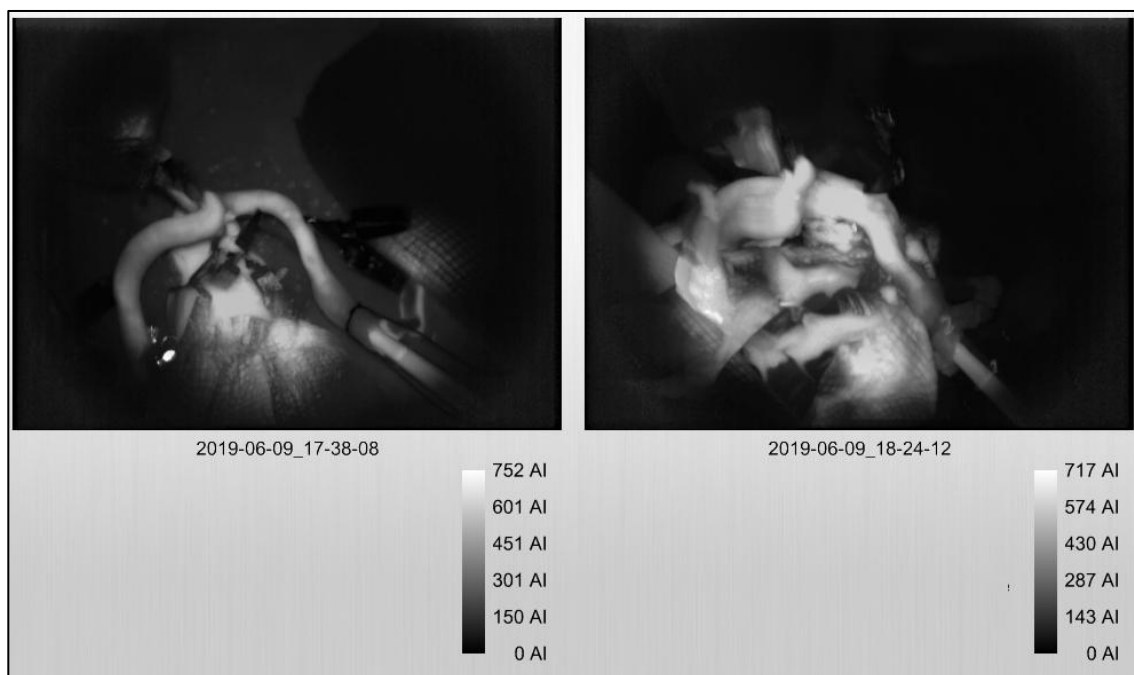


Figura 130.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:



Figura 131.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando una única escala colorimétrica.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

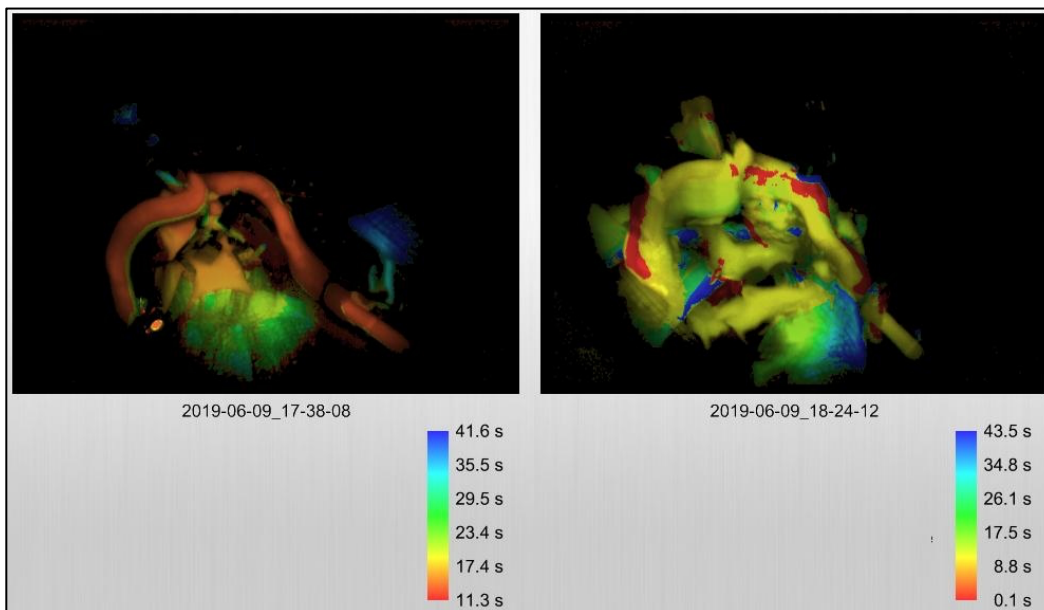


Figura 132.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

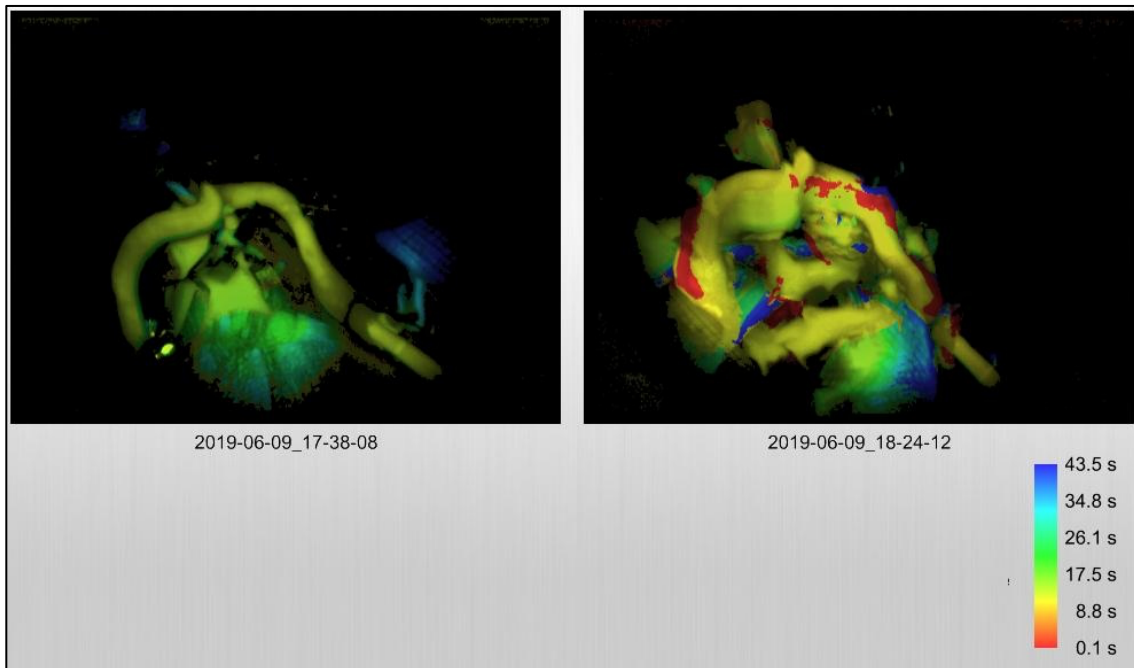


Figura 133.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2) empleando una escala colorimétrica única.

Diagrama:

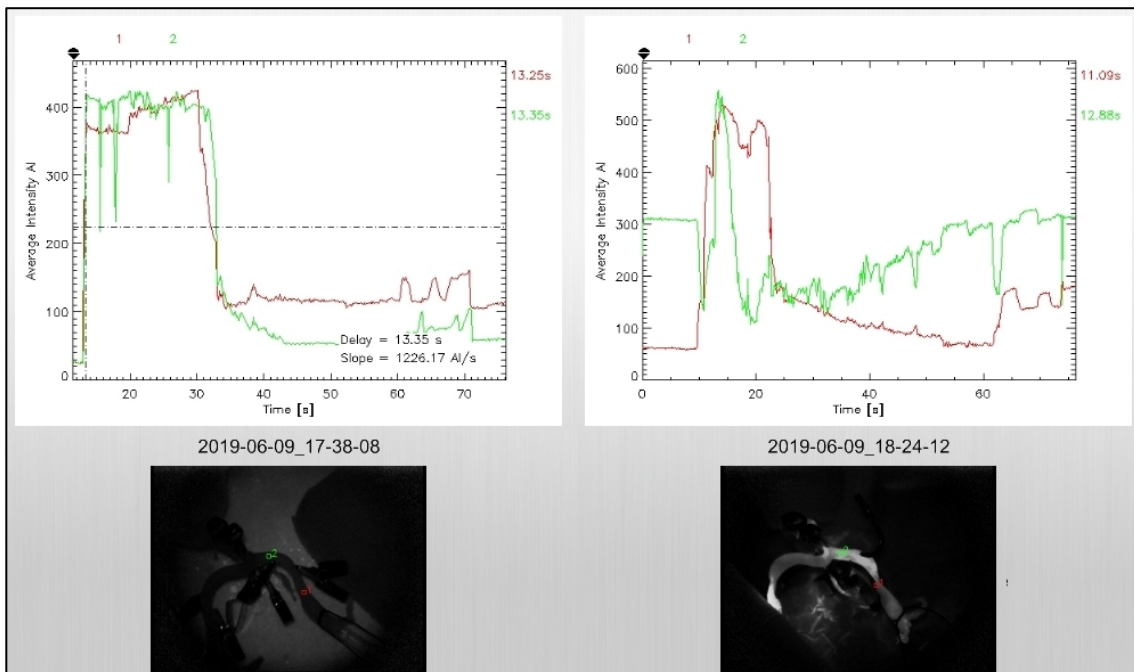


Figura 134.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 2).

### **5.2.2.2 Arteria Cerebral media izquierda (segmento horizontal, M1)**

#### **PULSO 1 (F1)**

Diámetro externo: 3,2 mm

En el primer pulso a través de la arteria cerebral izquierda del Caso 2, se detecta fluorescencia.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color gris, 708 AI) (Figura 135). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un color amarillo virando hacia la escala verde con traducción cuantitativa aproximada es de unos 3,8 s (Figura 136).

Cabe destacar el intenso color rojo que se observa en la cánula de plástico que muestra la mayor intensidad de señal y el menor retardo (cánula aferente)

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada, como en casos anteriores, lo que traduce un flujo rápido, con unos tiempos de demora de 4,90 s para el punto proximal a la estenosis y 5,08 s para el distal, esto es 0,18 s de diferencia entre ambos (Figura 137).

Mapa de intensidad:



Figura 135.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo en situación basal.

Mapa de retardo:

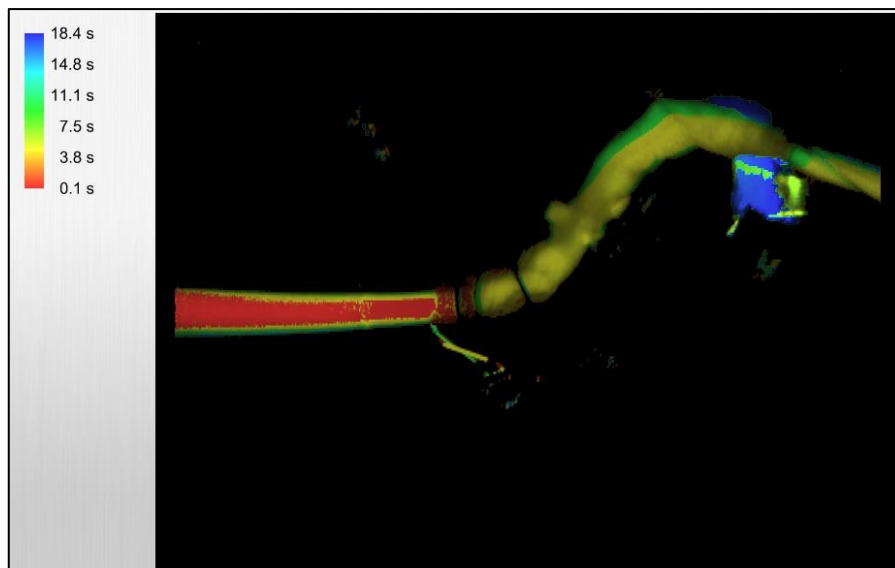


Figura 136.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo en situación basal.



Diagrama:

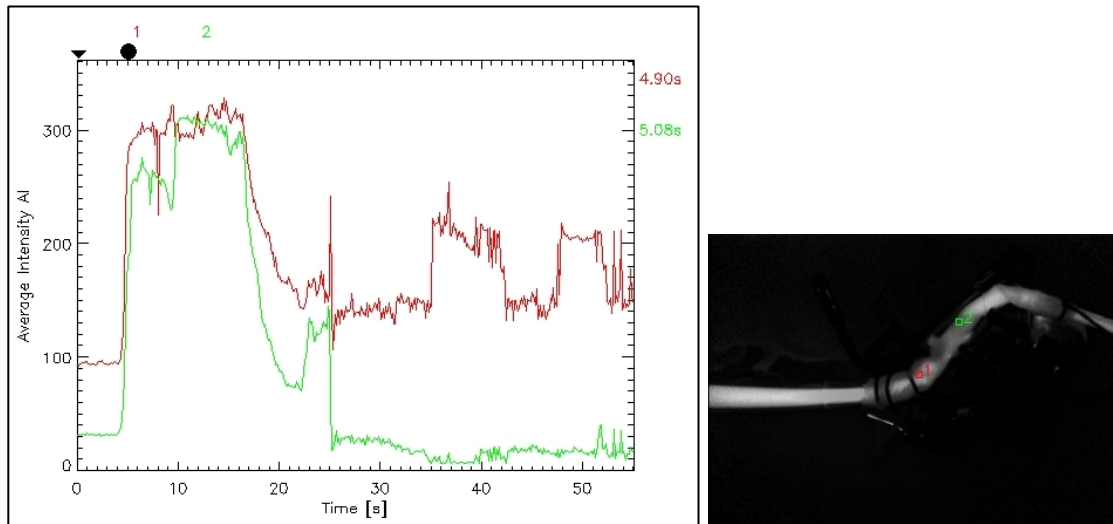


Figura 137.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (caso 2). A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto pre-estenosis y el verde al punto post-estenosis, que se repetirán sucesivamente.

Tras el primer pulso queda algo de fluorescencia residual (Figura 138)



Figura 138.- Fluorescencia residual tras el primer pulso a través de la arteria cerebral media izquierda (Caso 2)

## PULSO 2 (F2)

Diámetro externo: 1,5 mm

En el segundo pulso a través de la arteria cerebral izquierda del Caso 2, a pesar de haber quedado cierta fluorescencia, se detecta ésta nuevamente.

En el análisis cualitativo de la intensidad de dicha fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco, 544 AI) (Figura 139). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un color rojo intenso con traducción cuantitativa aproximada es de unos 19,2 s (Figura 140).

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada, como en casos anteriores, lo que traduce un flujo rápido, con unos tiempos de demora de 20,70 s para el punto proximal a la estenosis y 20,82 s para el distal, esto es 0,12 s de diferencia entre ambos (Figura 141).

Mapa de intensidad:



Figura 139.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido al 50%.

Mapa de retardo:

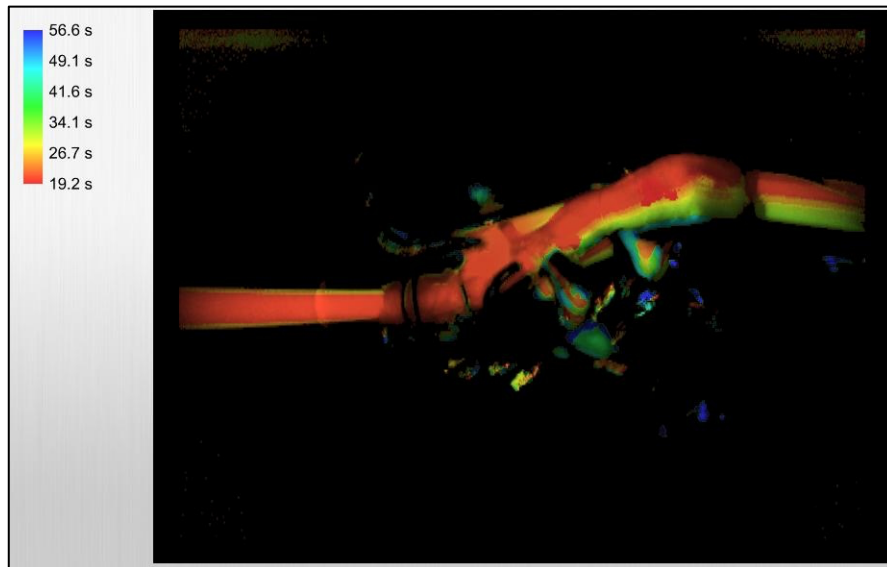


Figura 140.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido al 50%.

Diagrama:

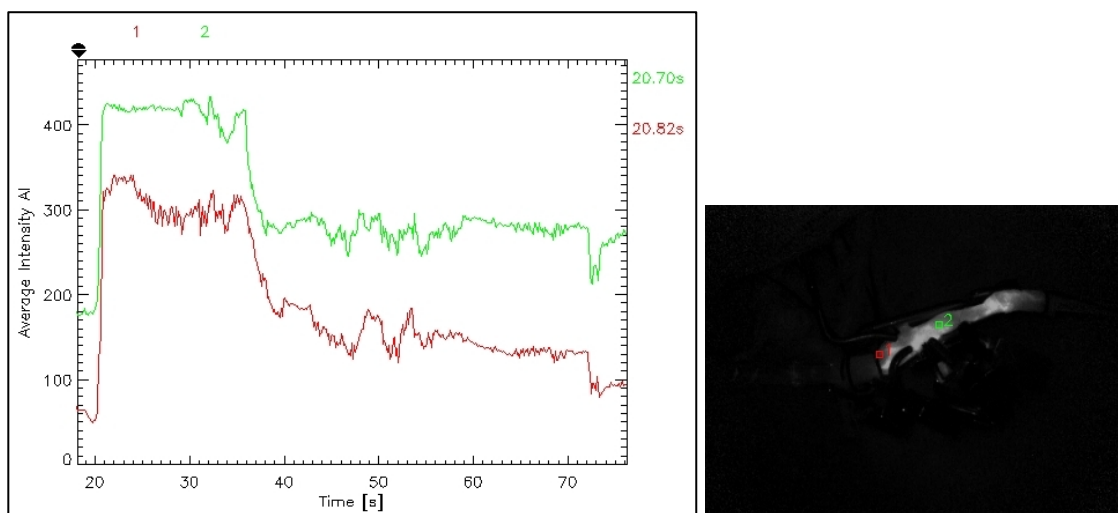


Figura 141.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el segundo pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2). A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto pre-estenosis y el verde post-estenosis, que se repetirán en la misma localización en el próximo pulso.

Tras el segundo pulso también se observa una tenue fluorescencia residual.

**PULSO 3 (F3)**

Estenosis en un punto con clip quirúrgico.

En el tercer pulso a través de la arteria cerebral izquierda del Caso 2, a pesar de haber quedado cierta fluorescencia previa, ésta se detecta nuevamente.

En el análisis cualitativo de la intensidad de dicha fluorescencia, muestra valores cercanos al máximo que se presentan con un color grisáceo (476-594 AI) (Figura 142). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un color entre amarillo y verde con traducción cuantitativa aproximada es de entre 15,6 - 11s (Figura 143).

El diagrama, al igual que en todos los pulsos previos, muestra una pendiente ascendente pronunciada, con unos tiempos de demora de 7,87 s para el punto proximal a la estenosis y 8,02 s para el distal, lo que supone una diferencia de 0,15s entre ambos (Figura 144).

Mapa de intensidad:



Figura 142.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico.

Mapa de retardo:

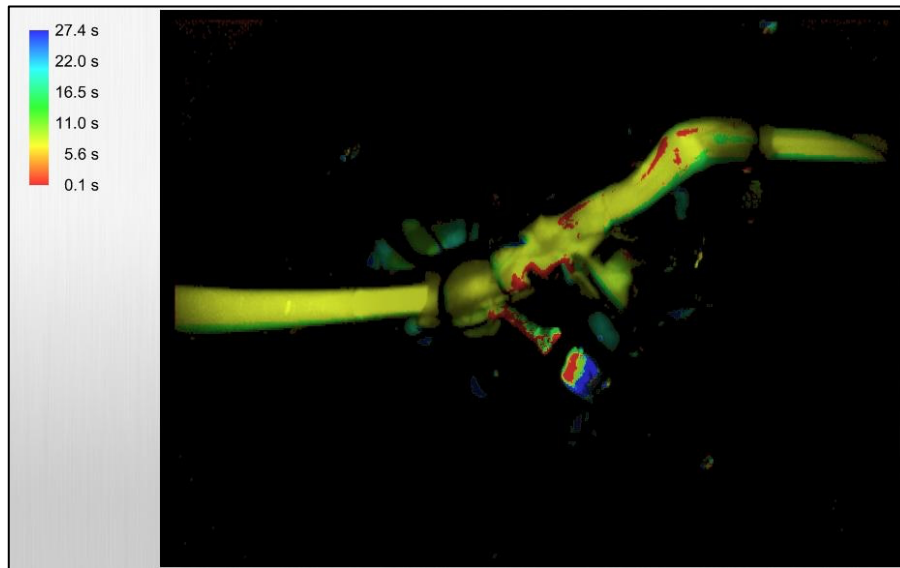


Figura 143.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) con su diámetro externo reducido en un único punto por un clip quirúrgico.

Diagrama:

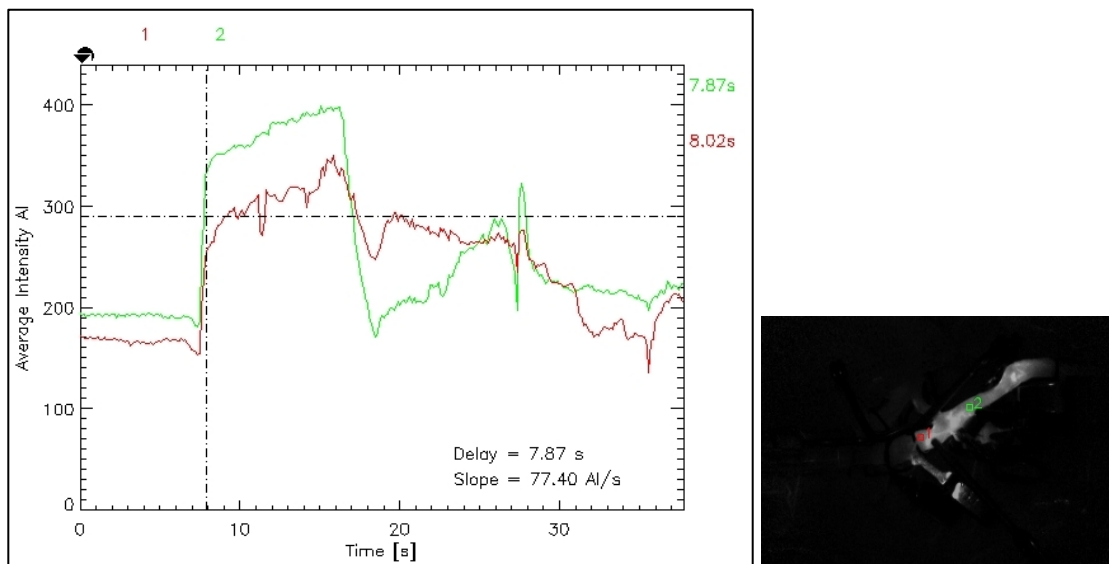


Figura 144.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2). A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto pre-estenosis y el verde post-estenosis, en la misma localización que en los pulsos previos.

No se ha valorado la fluorescencia residual tras el tercer pulso.

(Ver vídeo 9)

## COMPARATIVA ENTRE PULSOS

### F1 vs F2

Al comparar los resultados del primer pulso con los del segundo sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando escalas independientes se observa un color levemente distinto, más intenso en el caso del segundo que sin embargo no se corresponde con las unidades de intensidad (708 AI en F1 vs 476 AI en F2) (Figura 145). Al usar una única escala colorimétrica, el segmento arterial estudiado se observa con colores muy similares, prácticamente indistinguibles (Figura 146).

Cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad tanto con escalas independientes (Figura 147) como con una escala única (Figura 148) se observa un cambio cualitativamente claro de color desde el amarillo (F1) a rojo (F2) o del naranja (F1) al verde (F2).

En cuanto a la morfología del diagrama, la parte ascendente es similar para ambos, con un descenso distinto, sin grandes diferencias en el tiempo de demora (0,18 vs 0,12 del segundo pulso) (Figura 149).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

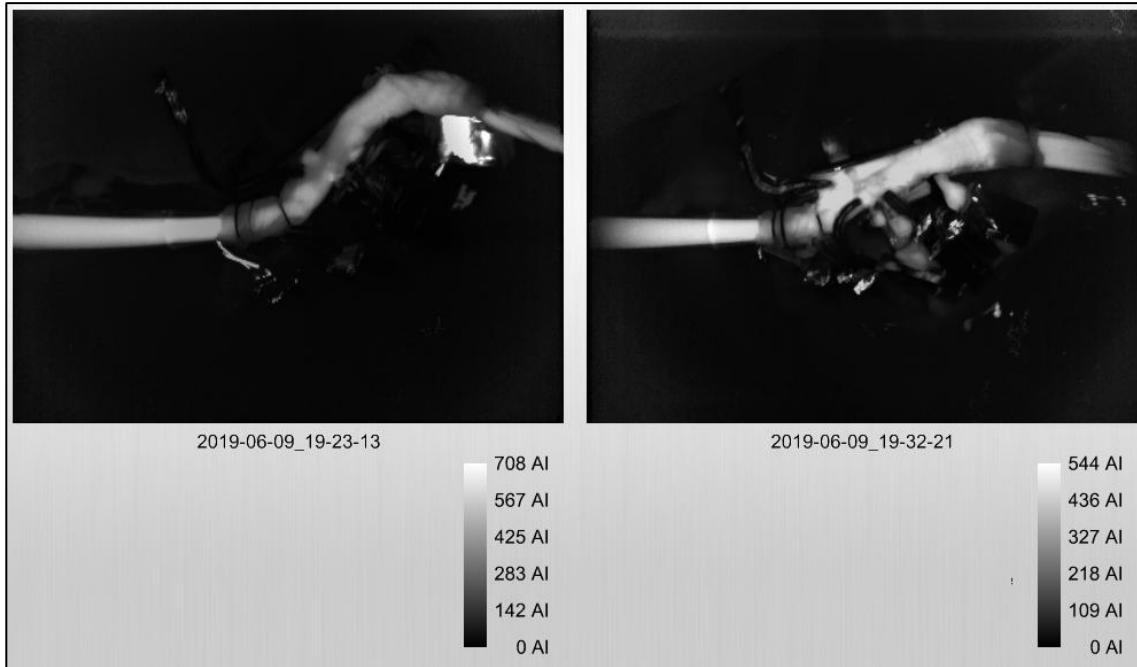


Figura 145.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando una escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:



Figura 146.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando una única escala colorimétrica.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

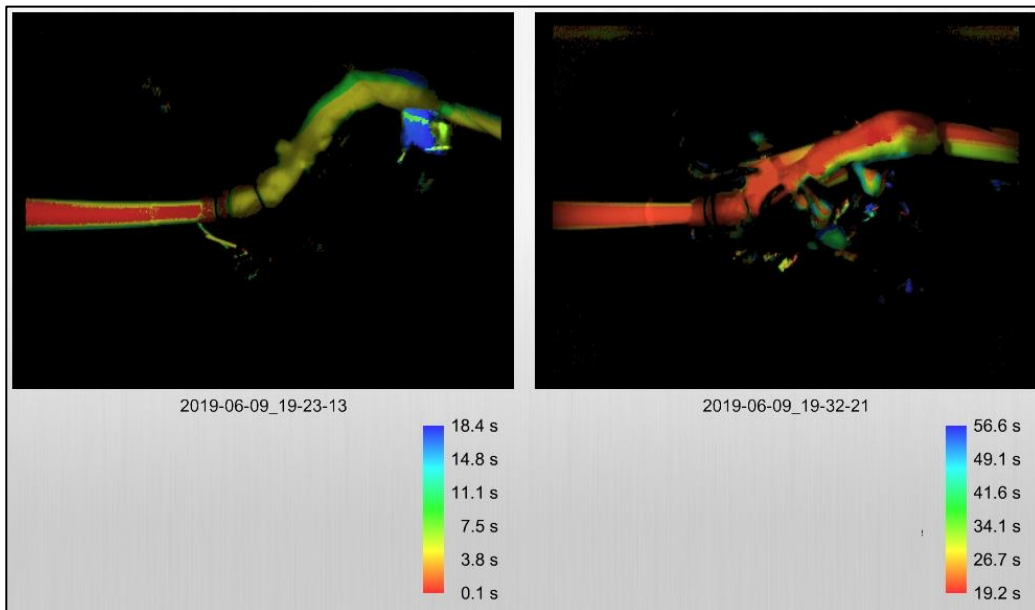


Figura 147.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando una escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:



Figura 148.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando una única escala colorimétrica.



Diagrama:

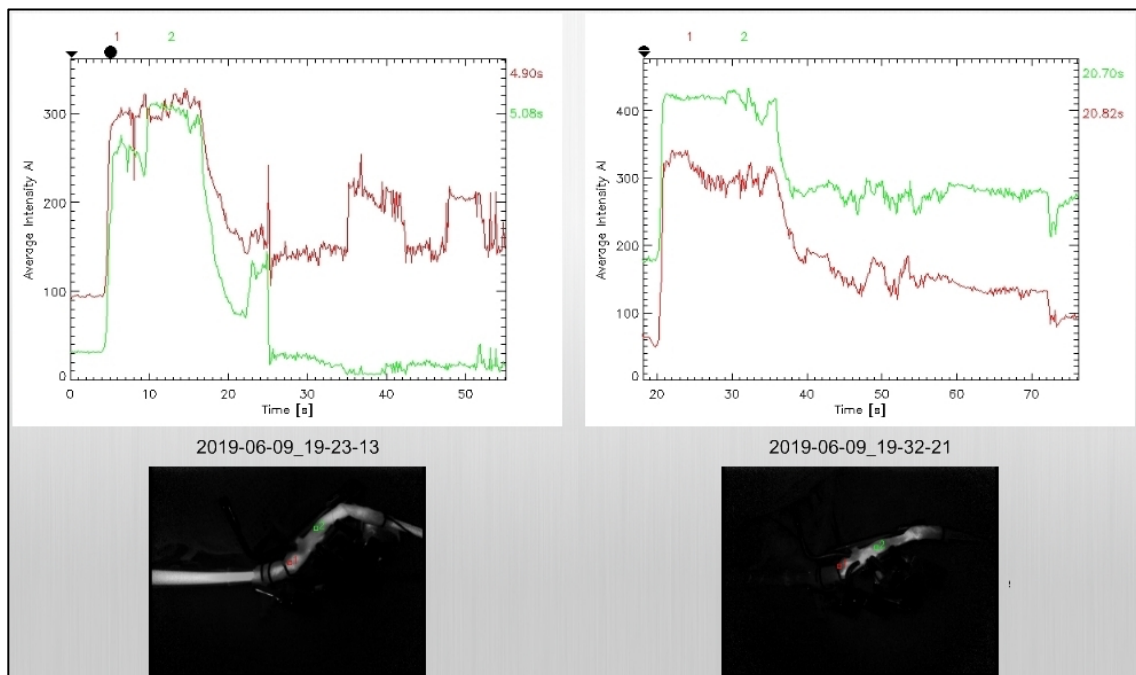


Figura 148.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2).

### F1 vs F3

Comparando los resultados del primer pulso con los del tercero por la intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando escalas independientes no existen diferencias cualitativas significativas (Figura 149). Al usar una única escala colorimétrica, el segmento de arteria vertebral derecha estudiado igualmente arroja un color muy similar para ambos pulsos, poco distinguible a simple vista., siendo difícil poder cuantificarlo con exactitud (Figura 150)

Esta escasa diferencia cualitativa se mantiene también cuando se comparan los mapas de retardo de intensidad. Con escalas independientes ambos presentan color en el espectro amarillo (Figura 151) y empleando la misma escala el cambio es algo más perceptible de naranja (F1) a amarillo (F3) (Figura 152)

En cuanto a la morfología del diagrama, ambos tienen una curva muy similar, con una mínima diferencia en el tiempo de demora de 0,18 s en el primer pulso frente a los 0,15 s del tercero (Figura 153).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

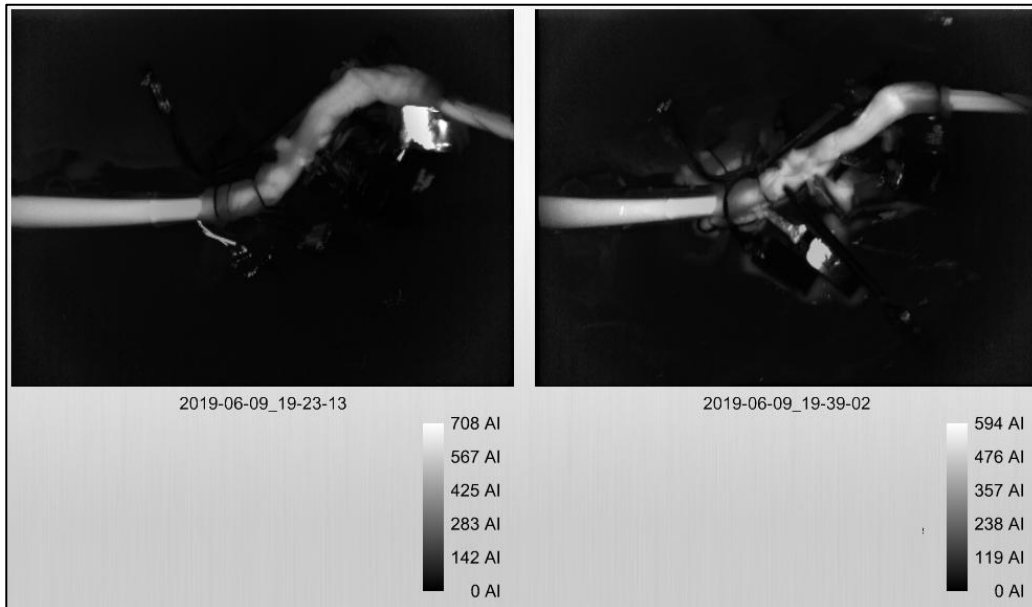


Figura 149.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando una escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:



Figura 150.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando un única escala.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

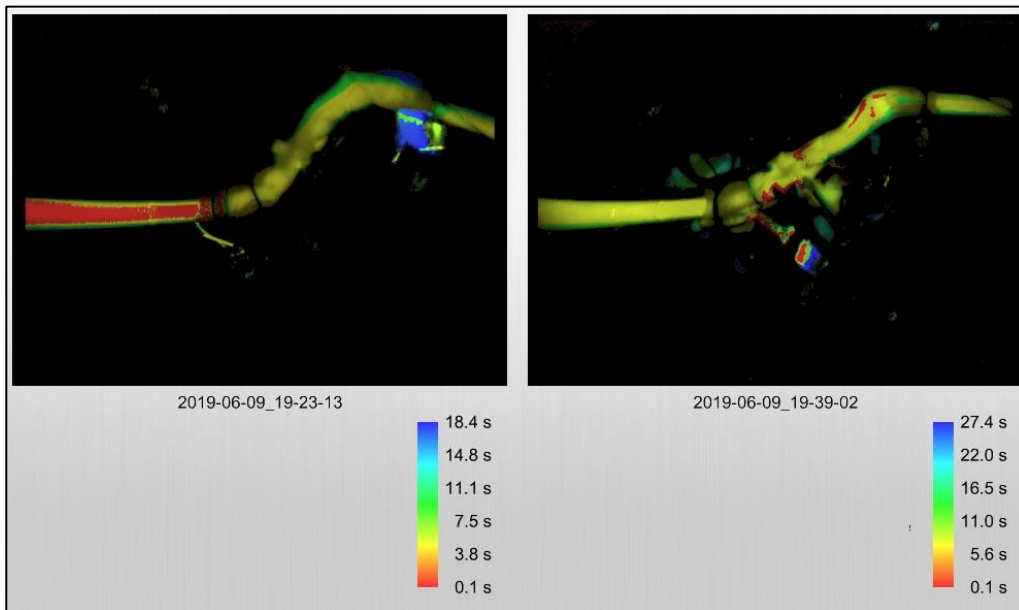


Figura 151.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando una escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

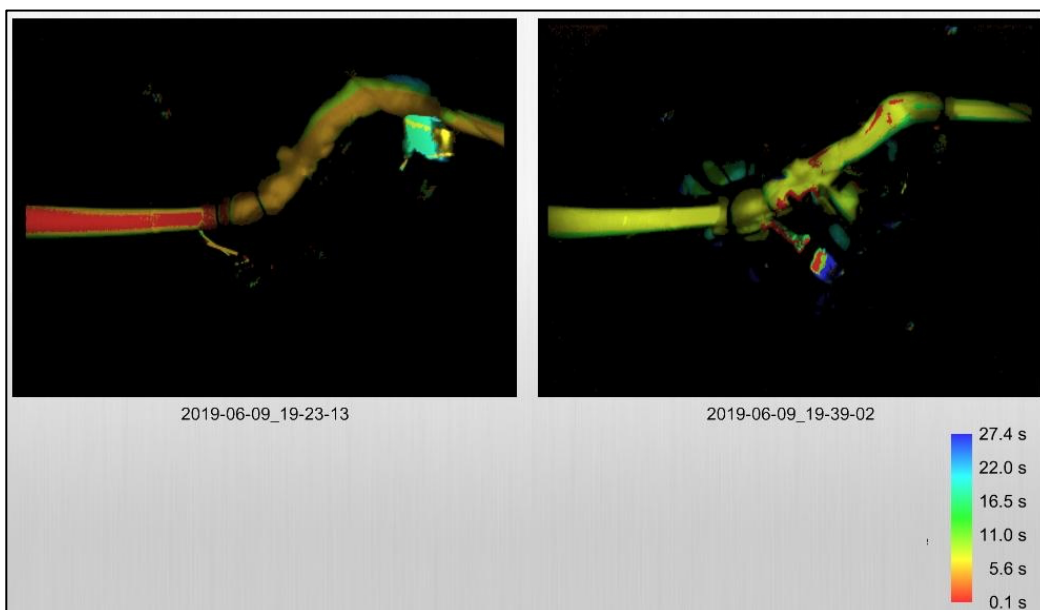


Figura 152.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2) empleando una escala colorimétricas común.

Diagrama:

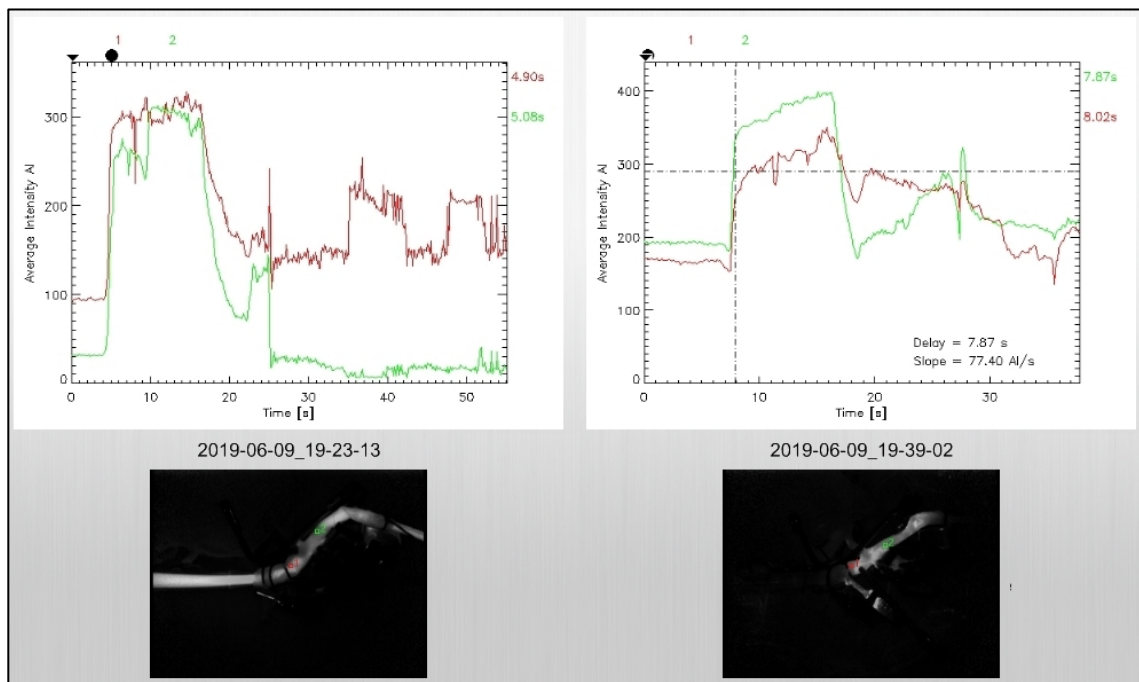


Figura 153.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 2)

### 5.3 CASO 3

#### 5.3.1 Descripción

Imágenes descriptivas del sistema arterial disecado: en este caso el encéfalo se encontraba en peor estado de conservación.



Figura 154.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 3, centrada en la unión de las circulaciones anterior y posterior: 1 y 1': ACI; 2: complejo comunicante anterior; 3y 3': AA. Comunicantes posteriores; 4: A. Coroidea anterior (AChA) derecha; 5 y 5': ACP, segmento post-comunicante o P2; 6: A. Basilar; 7 y 7': AICA; 8 y 8': AA. Vertebrales; a: Quiasma óptico; b: Infundíbulo-tallo hipofisario; c: Uncus (lóbulo temporal); d: giro parahipocampal (lóbulo temporal derecho); e: Protuberancia; II: II par craneal o N. Óptico; III: III par o N. Motor Ocular Común derecho; V: V par derecho o Nervio (N.) Trigémico;





Figura 155.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 3, centrada en la porción anterior del polígono de Willis y su unión con la circulación posterior: 1: ACI derecha; 2 y 2': ACA segmento precomunicante o A1; \*\*: ACoA; 3y 3': AA. Comunicantes posteriores; a: Quiasma óptico; b: Infundíbulo-tallo hipofisario; c: Uncus (lóbulo temporal); d: giro recto (lóbulo frontal); e: polo del lóbulo temporal; II: II par craneal o N. Óptico; III: III par o N. Motor Ocular Común derecho;



Figura 156.- Caso 3. Visión basal lateral con apertura de la cisura de Silvio exponiendo la ACM izquierda: 1 y 1': ACI; 2 y 2': ACA segmento precomunicante o A1; 2'': ACA segmento postcomunicante o A2; \*\*: A.CoA; 3: ACM izquierda (segmento horizontal o M1), 3': ACM izquierda (segmento insular o M2); a: Giro recto (lóbulo frontal izquierdo); b: Quiasma óptico retraído; c: Giros orbitarios (lóbulo frontal izquierdo);



Figura 157.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 3, centrada en la circulación posterior: 1: A. Basilar; 2 y 2': AA. Vertebrales; 3y 3': AICAs en clara relación con nervios craneales VII y VIII; 4: PICA izquierda; a: Protuberancia; b: Bulbo raquídeo; IX-X-XI: pares craneales bajos, IX par o N. Glossofaríngeo, X par o N. Vago y XI par o N. Espinal.





Figura 158.- Imagen del sistema encefálico anterior (Caso 3) una vez disecado del resto de estructuras nerviosas (nótese el abundante número de pequeñas ramas perforantes originadas en cada una de las arterias principales): 1 y 1': ACI; 2 y 2': ACA (segmento postcomunicante o A2); \*\*: ACoA; 3 y 3': ACM (segmento horizontal o M1); 4 y 4': ACoP; Al disecar el polígono se observa una variante anatómica de la normalidad (puntas de flecha): Origen fetal de la ACP, esto es: persistencia de la arteria cerebral posterior embrionaria, con presencia de una arteria comunicante posterior prominente (calibre igual o mayor al segmento P1 de la ACP) con origen de la irrigación del lóbulo occipital desde la ACI, se acompaña de un segmento P1 hipoplásico (6); 5: AChA; 6 y 6': ACP (segmento pre-comunicante o P1); 7 y 7': ACS; 8: A. Basilar.





Figura 159.- Imagen de cara anterior del sistema encefálico previo disecado, centrada en la circulación posterior: 1: AcoP derecha; 2 y 2': ACP (segmento precomunicante o P1, derecho hipoplásico), 3 y 3': ACP (segmento postcomunicante o P2) en el lado derecho con origen fetal; 4 y 4': ACS; 5: A. Basilar; 6 y 6': AA. Vertebrales; 7: PICA derecha; III: III par o N. Motor ocular común.

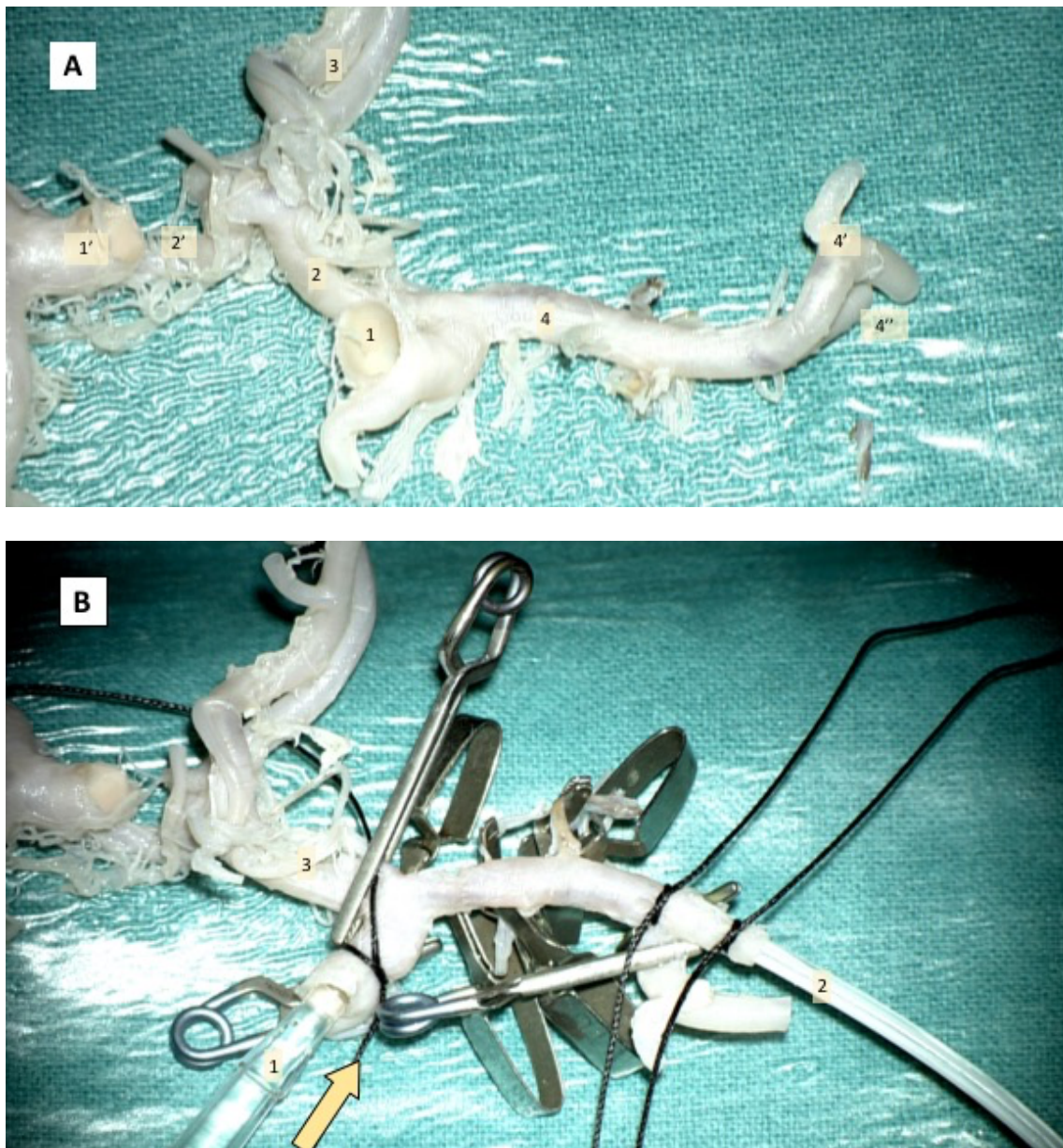


Figura 160.- Imagen de la última arteria estudiada de este tercer sistema arterial: Arteria cerebral media izquierda.

**A, Arteria cerebral media izquierda disecada:** 1 y 1': ACI; 2: y 2': ACA (segmento precomunicante o A1); 3: ACA (segmento postcomunicante o A2); 4 : ACM izquierda, segmento horizontal o M1; 4' y 4'': ramas frontal y temporal de ACM izquierda (segmento insular o M2);

**B, Espécimen canulado para infusión:** Mismo espécimen anterior canulado y con clips ocluyendo las ramas y arterias perforantes no pertinentes para el estudio. Obsérvese clip quirúrgico recto ocluyendo la ACA (3). 1: cánula aferente (entrada del fluido) en ACI; 2: cánula eferente (salida del fluido) en rama M2; La flecha amarilla señala la dirección del flujo.

### 5.3.2 Análisis de fluorescencia

De este tercer sistema arterial se emplean 3 arterias: ambas arterias vertebrales y la arteria cerebral media izquierda.

Se desestiman ambas arterias carótidas internas por tratarse de segmentos muy cortos, imposibles de canular. La arteria cerebral media derecha se desestima por un defecto en la pared del segmento M1 irreparable. Las arterias cerebrales anteriores presentan múltiples poros, lo que no podría asegurar una adecuada infusión de fluido en el sistema. Y de forma similar a los casos previos, las arterias cerebrales posteriores, cerebelosas superiores, AICA y PICA, igualmente no se consideran aptas para el estudio dado que su reducido calibre no permite reproducir las pruebas de reducción del calibre.

#### 5.3.2.1 Arteria vertebral derecha

##### **PULSO 1 (F1)**

Diámetro externo: 3,445 mm

En el primer pulso a través de la arteria vertebral derecha del Caso 3, se detecta fluorescencia.

En cuanto a la intensidad de esta fluorescencia, valorado cualitativamente, se registran valores máximos en el segmento estudiado (color blanco, 1254 AI) (Figura 161). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un color rojo intenso cuya traducción cuantitativa aproximada es de entre 27,2 s (Figura 162).

El diagrama, a diferencia de los anteriores y a pesar de haberse realizado el pulso en las mismas condiciones a las precedentes, no muestra una clara pendiente ascendente, siendo marcado el descenso. Los tiempos de demora son de 27,92 s para el punto proximal



al segmento donde se realizará la estenosis y 38,56 s para el distal, siendo de 10,64 s la diferencia entre ambos (Figura 163).

Mapa de intensidad:

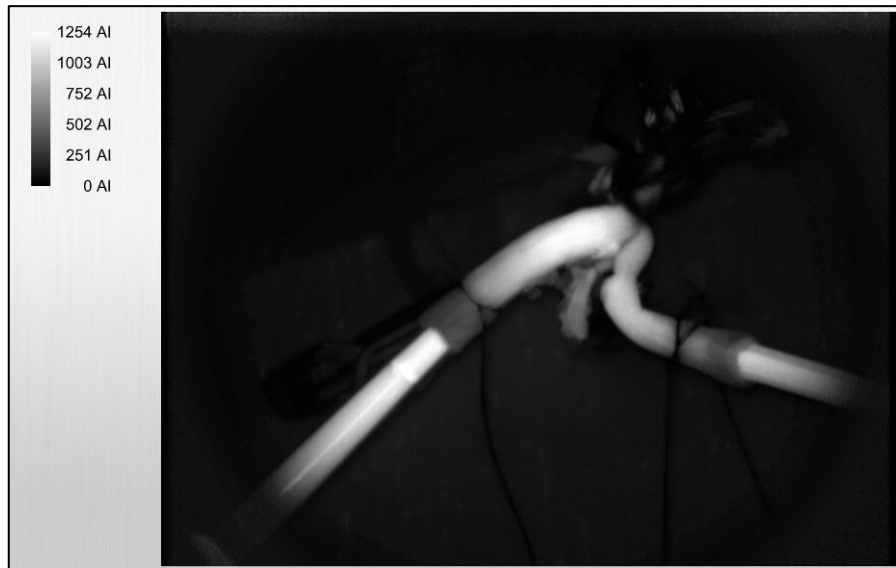


Figura 161.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Mapa de retardo:

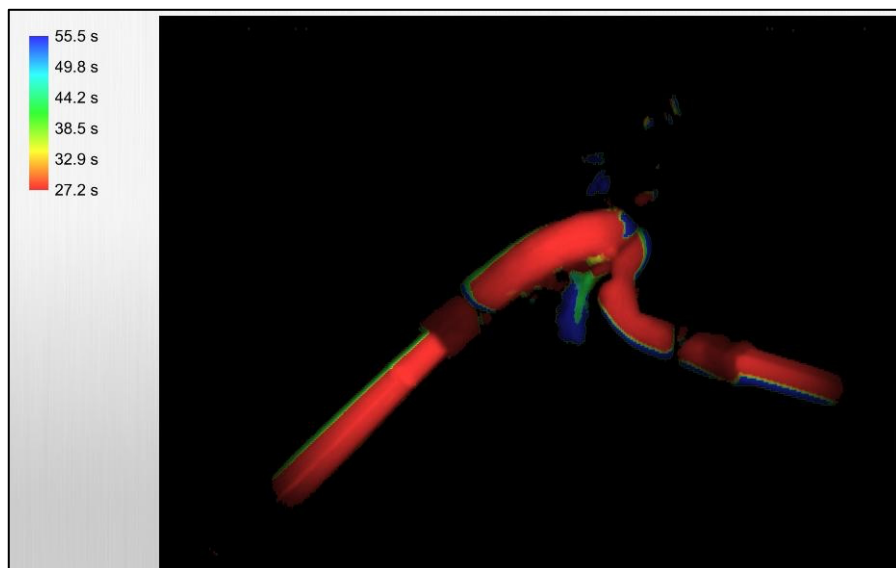


Figura 162.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Diagrama:

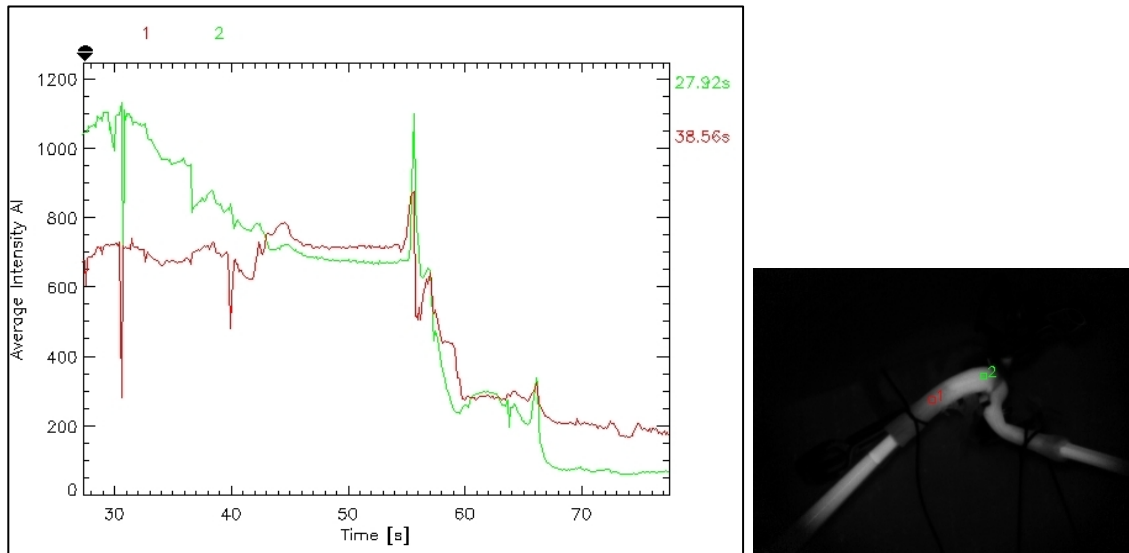


Figura 163.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3). A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto proximal y el verde al distal respecto a donde se establecerá posteriormente la estenosis

Tras el primer pulso no se obtiene fluorescencia residual.

## PULSO 2 (F2)

Diámetro externo: 1,72 mm

En este segundo pulso a través de la arteria vertebral derecha del Caso 3 igualmente se detecta fluorescencia. Sin embargo, se produce una fuga masiva del contraste por un desgarró de la arteria al reducir el diámetro a la mitad con el micrómetro. Este hecho no impide la interpretación de la fluorescencia obtenida para este segundo pulso pero lo invalida para continuar realizando un tercer pulso.

El análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores de ésta en el segmento estudiado que oscilan entre las 997-1246 AI, correspondiendo a un color entre blanco y gris, impreciso (Figura 164). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un intenso color rojo cuya traducción cuantitativa aproximada es de 6,2 s. Este color se mantiene uniformemente a lo largo de

todo el vaso, tanto en la parte estrechada como en la previa y posterior a la misma (Figura 165). El diagrama muestra una pendiente ascendente pronunciada, con unos tiempos de demora de 6,53 s para el punto proximal a la estenosis y 6,71 s para el distal, con una diferencia de 0,18 s entre ambos, marcadamente inferior a la del pulso F1 (Figura 166).

Mapa de intensidad:



Figura 164.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) con su diámetro externo reducido al 50% respecto al basal. Obsérvese la fuga de contraste circundante.

Mapa de retardo:

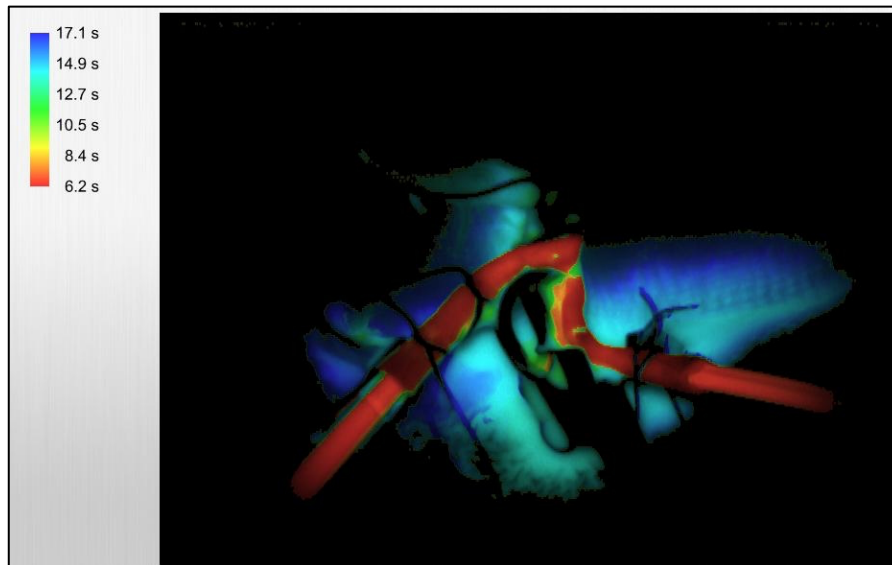


Figura 165.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) con su diámetro externo reducido al 50% respecto al basal. La sangre con ICG extravasado se visualiza en tono azul, distinguiéndola del pulso a través de la arteria.

Diagrama:

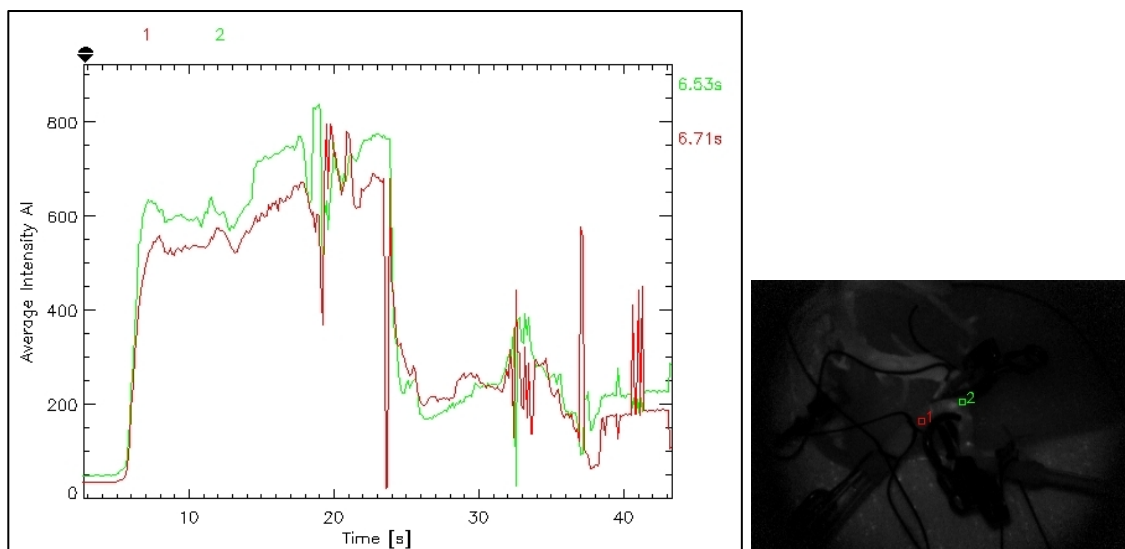


Figura 166.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3). A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo corresponde al punto proximal y el verde al distal al segmento estenosado.

Tras este segundo pulso y a pesar de la fuga del contraste, no se ha registrado fluorescencia residual.

**PULSO 3 (F3):**

Estenosis puntual con clip quirúrgico.

No se ha realizado por fuga del contraste irremediable en el punto donde aplicar la estenosis.

**COMPARATIVA ENTRE PULSOS****F1 vs F2**

Del estudio comparativo del primer pulso con el segundo en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando escalas independientes, se observa una discreta diferencia colorimétrica, siendo el primero de un blanco más intenso (1254 AI) que el segundo (997-1246 AI) (Figura 167). Al compararlos empleando una única escala colorimétrica, se confirma esa diferencia, asignando el valor de intensidad máxima, 1254 AI, al pulso F1, frente al segundo que quedaría en torno a las 1003 AI, de nuevo sin poder cuantificarlo con exactitud (Figura 168).

Empleando el mapa de retardo de intensidad tanto con escalas independientes se obtiene un resultado similar, ambos de tonalidad roja, prácticamente indistinguibles en la escala de color (Figura 169). Sin embargo, comparándolos con escalas diferentes se aprecia una diferencia cualitativa clara. En el pulso F1 la arteria se observa de color verde (25,9-35,8 s) en contraste con el pulso F2 que queda coloreado de rojo (6,2 s) (Figura 170).

En lo que se refiere al diagrama la morfología es radicalmente distinta, observando una pendiente ascendente pronunciada y característica en el segundo pulso, ausente en el primero, con diferencias en los tiempos de demora también alejadas entre sí: 10,64 s para el pulso F1 y sólo 0,18s para el pulso F2 (Figura 171)



## Mapa de intensidad

Comparación con escalas independientes:

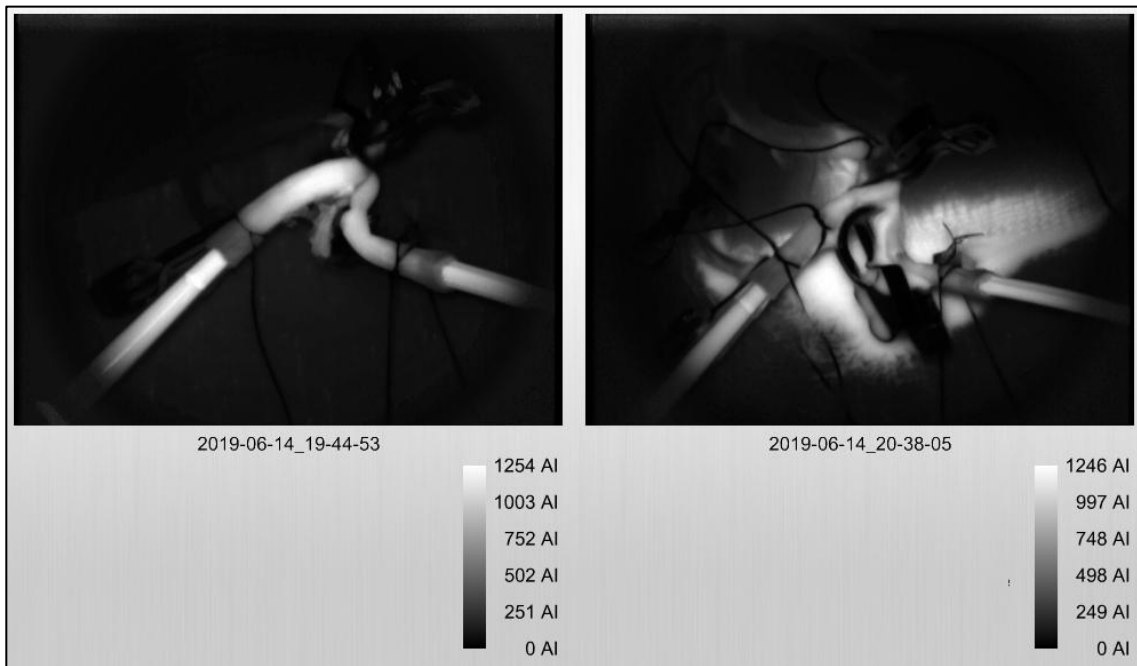


Figura 167.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:



Figura 168.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) empleando una única escala.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

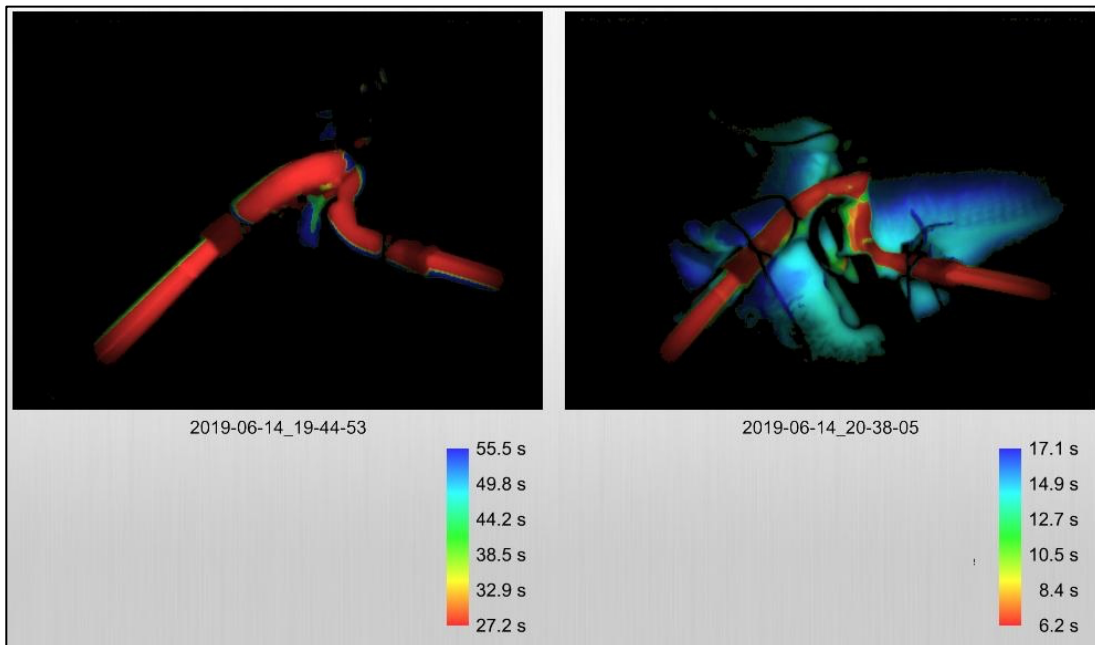


Figura 169.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

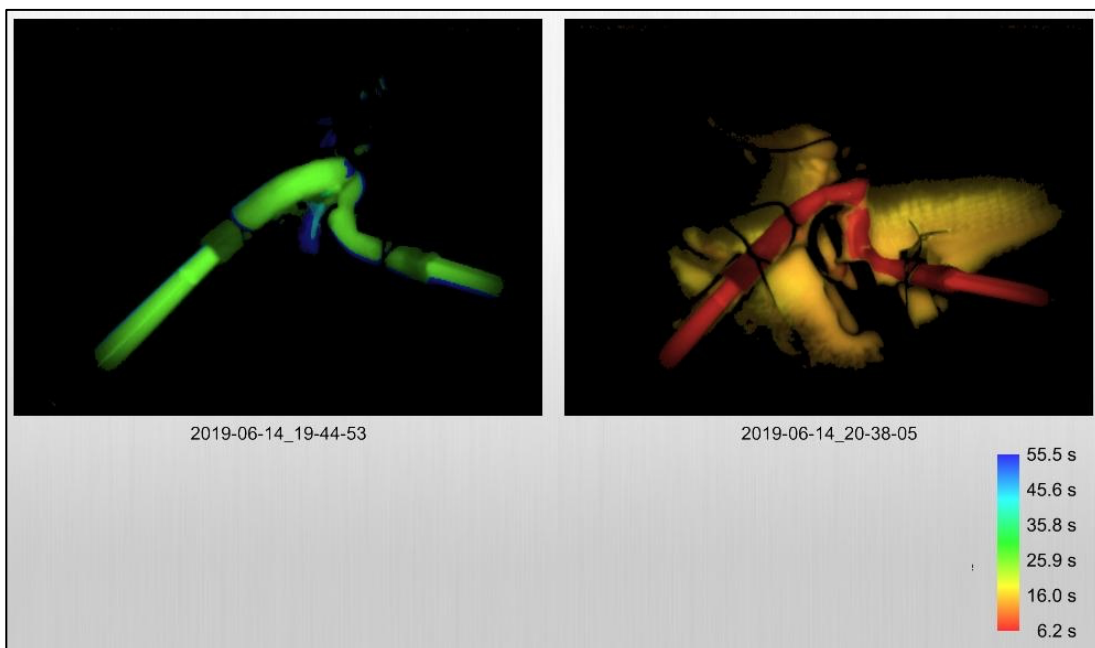


Figura 170.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3) empleando una única escala.

Diagrama:

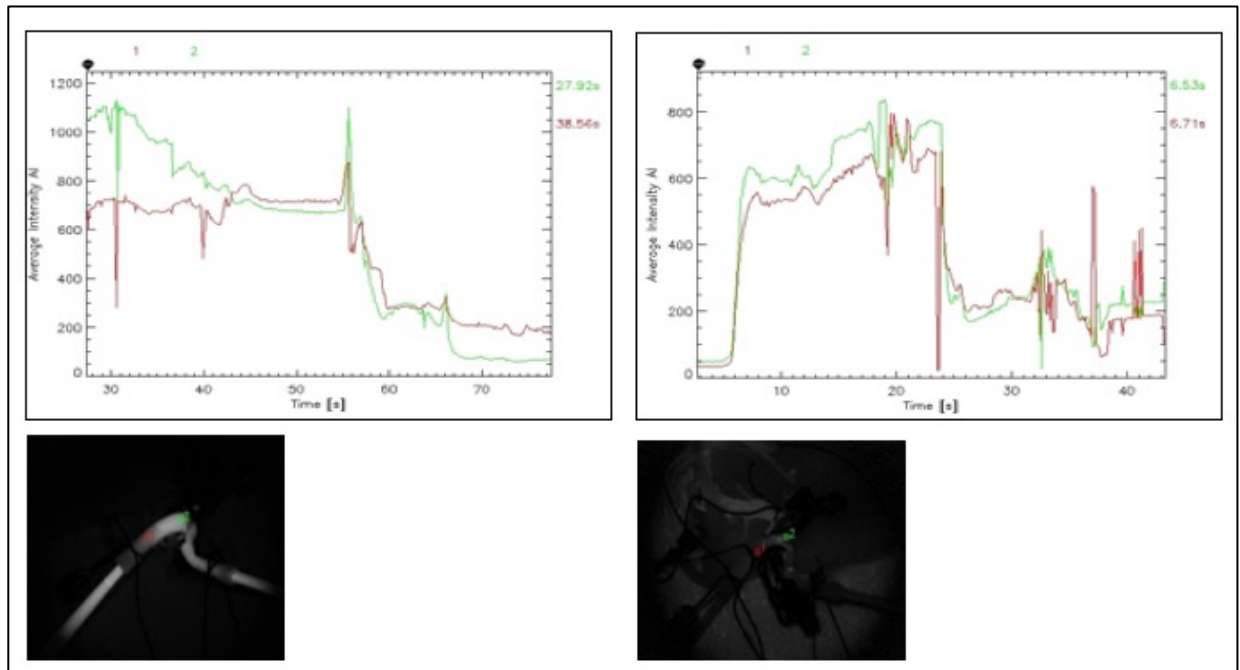


Figura 171.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 3).

### 5.3.2.2 Arteria vertebral izquierda

#### PULSO 1 (F1)

Diámetro externo: 2,345 mm

En el primer pulso a través de la arteria vertebral izquierda en el Caso 3 se obtiene fluorescencia.

El análisis cualitativo de su intensidad, muestra una coloración entre gris y blanco correspondiente a valores cercanos al máximo de intensidad detectado en el espécimen (1003-1254 AI), con menor intensidad que en el segmento de arteria vertebral derecha estudiado previamente, de mayor calibre y dominancia (Figura 172). Su interpretación en el mapa de retardo se expresa con un intenso color rojo (27,2-32,9 s) sin diferencias aparentes con respecto a la otra arteria vertebral (Figura 173).

El diagrama a diferencia de la mayor parte de pulsos, carece de una pendiente ascendente inicial, registrando unos tiempos de demora de 27,42 s para el punto proximal a donde se establecerá la estenosis y 36,13 s para el distal, esto es 8,71 s de diferencia entre ambos (Figura 174).

Mapa de intensidad:

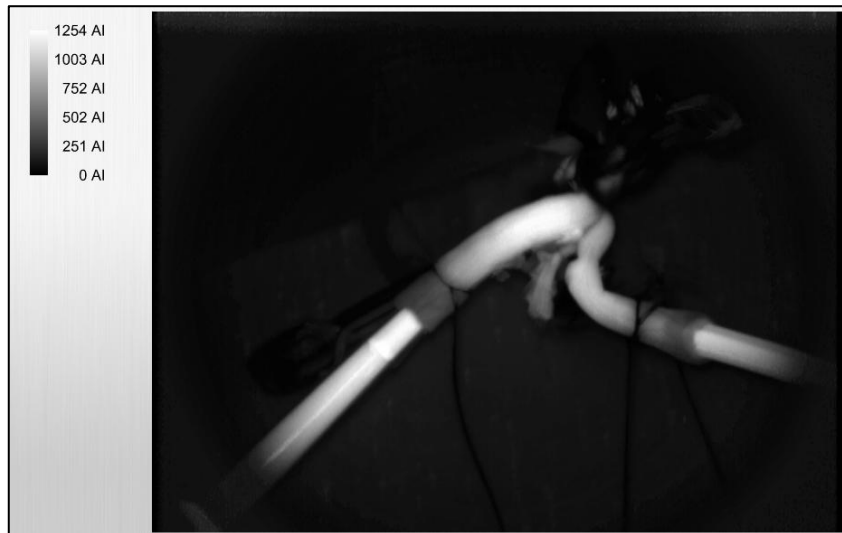


Figura 172.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Mapa de retardo:

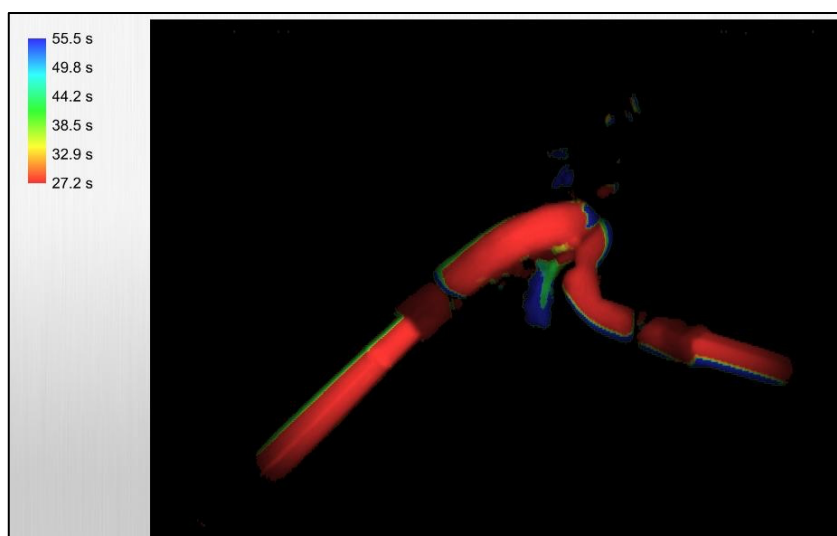


Figura 173.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Diagrama:

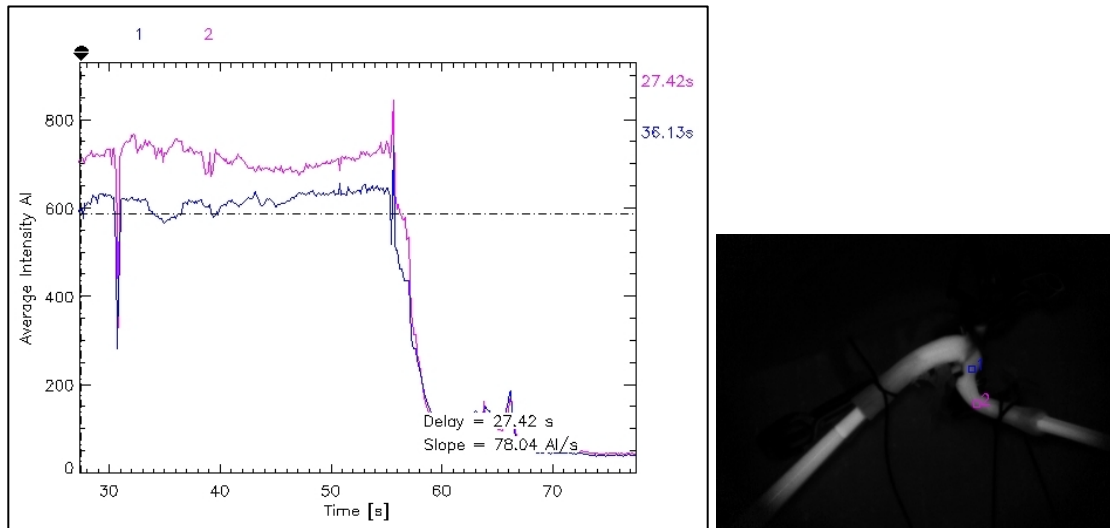


Figura 174.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma en el primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda del Caso 3. A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El azul corresponde al punto proximal y rosa al distal respecto a donde se establecerá posteriormente la estenosis

Tras el primer pulso no se objetiva fluorescencia residual.

## PULSO 2 (F2)

Diámetro externo: 1,173 mm

En este segundo pulso a través de la arteria vertebral izquierda del Caso 3 igualmente se detecta fluorescencia.

El análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores cercanos al máximo de ésta en el segmento estudiado (color blanco-gris, 1275 AI) (Figura 175). Su interpretación en el mapa de retardo se expresa con color verde cuya traducción cuantitativa aproximada es de entre 11,4-17 s. Este color aparece de forma uniforme tanto antes como después del segmento cuya luz se encuentra estenosada (Figura 176)

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada, características de la mayor parte de los pulsos, con unos tiempos de demora muy similares para ambos puntos de interés: 12,25 s para el punto proximal y 12,25 s para el distal a la estenosis (Figura 177)

Mapa de intensidad:

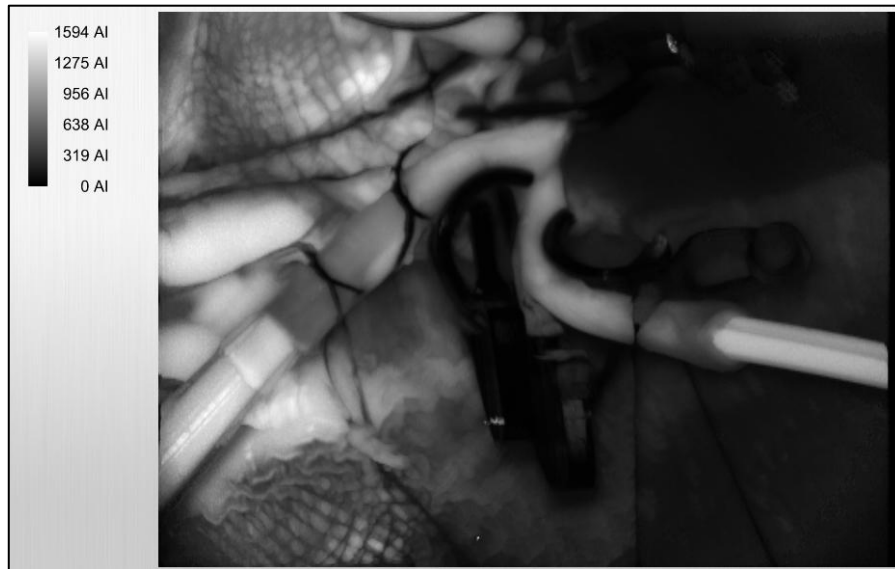


Figura 175.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Mapa de retardo:

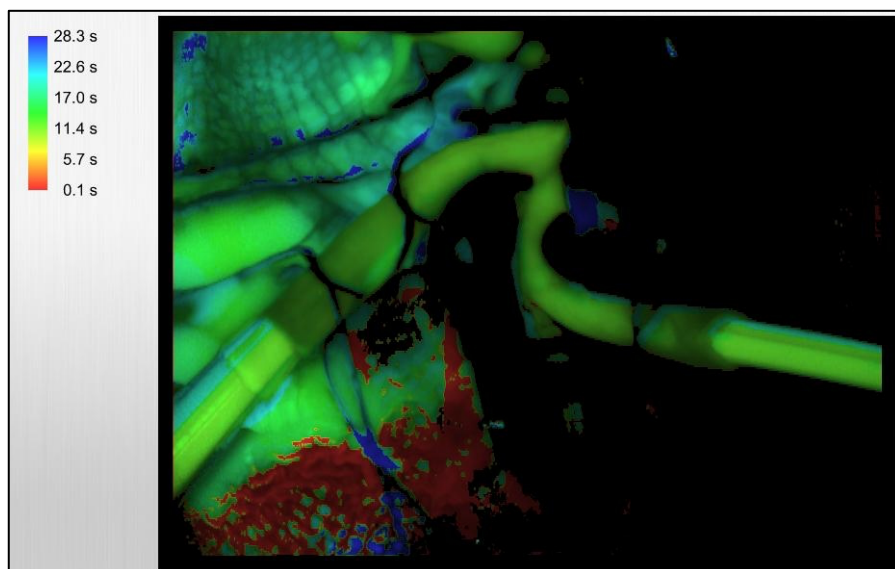


Figura 176.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Diagrama:

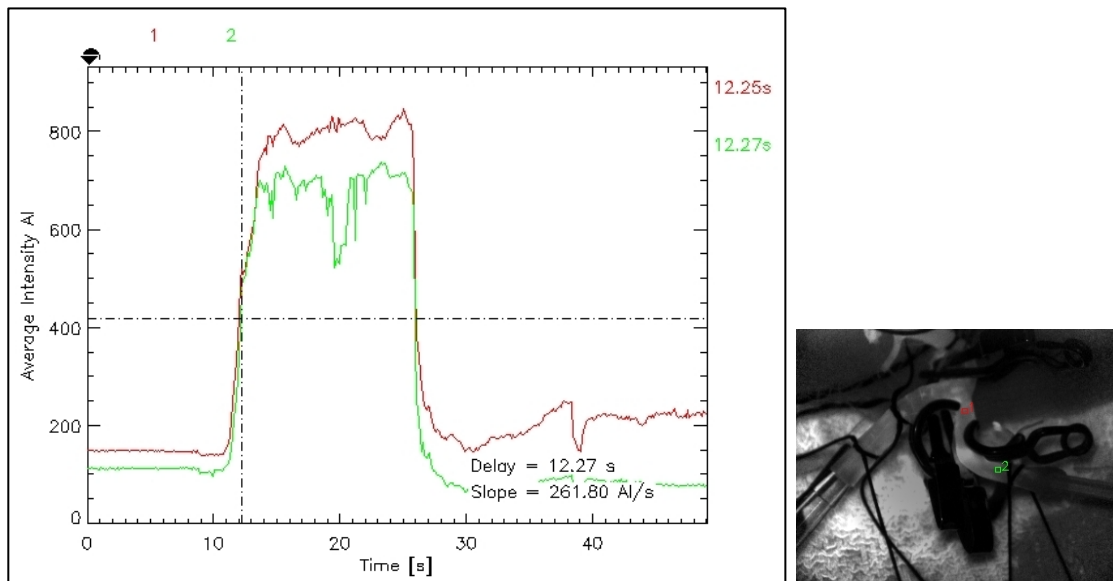


Figura 177.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma para el segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda en el Caso 3. A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo (1) corresponde al punto proximal a la estenosis del 50% del diámetro externo del vaso que se realiza con un clip quirúrgico curvo (equivale al ROI azul del diagrama en el pulso F1); El ROI verde (2) corresponde al punto distal a la estenosis (equivale al ROI rosa del diagrama en el pulso F1).

Tras este segundo pulso tampoco se objetiva fluorescencia residual.

### PULSO 3 (F3)

Diámetro externo: Estenosis en un único punto con clip quirúrgico.

En este tercer pulso a través de la arteria vertebral izquierda igualmente se detecta fluorescencia. Al igual que en el segundo pulso, existe una extravasación de sangre que no impide el análisis posterior ni deja fluorescencia residual significativa.

Analizando cualitativamente la intensidad de fluorescencia en el tercer pulso se registra un color entre blanco-gris con valores cercanos a los máximos (1280 AI) de la escala sin llegar a éstos (la mayor intensidad de blanco se registra en el fluido extravasado) (Figura 178). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de

retardo se expresa con un llamativo color azul, cuya traducción cuantitativa aproximada es de 13,3 s, repartido de forma uniforme por todo el sistema estudiado (Figura 179).

El diagrama igualmente muestra un trazado irregular, manteniendo la pendiente ascendente pronunciada inicial, con unos tiempos de demora de 12,81 s para el punto proximal a la estenosis y 15,19 s para el distal, esto es 2,38 s de diferencia entre ambos (Figura 180)

Mapa de intensidad:

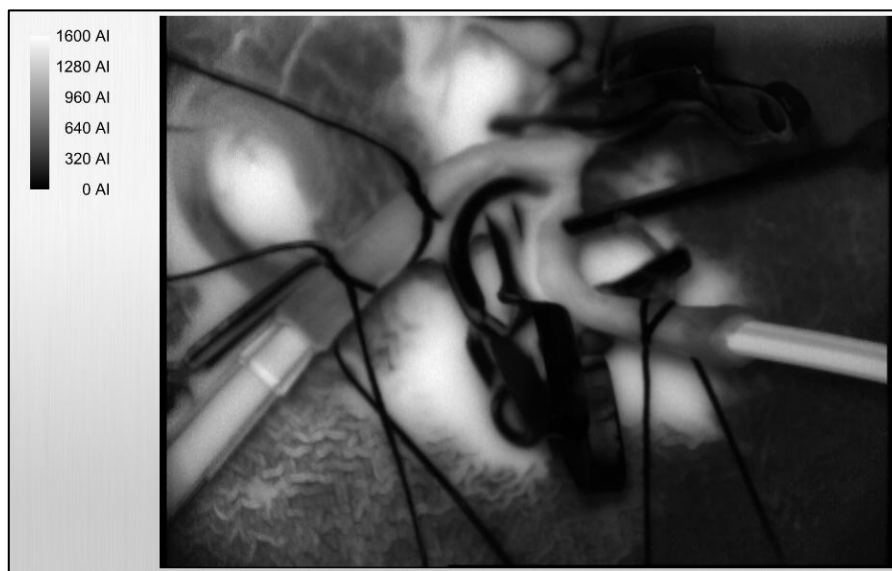


Figura 178.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo comprometido en un único punto por un clip quirúrgico.



Mapa de retardo:

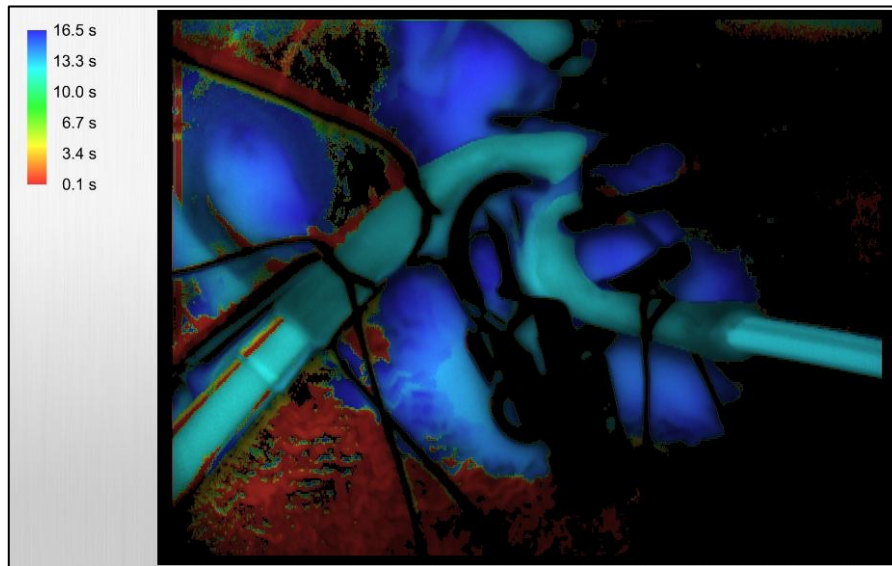


Figura 179.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con el diámetro externo comprometido en un único punto por un clip quirúrgico.

(Ver vídeo 10)

Diagrama

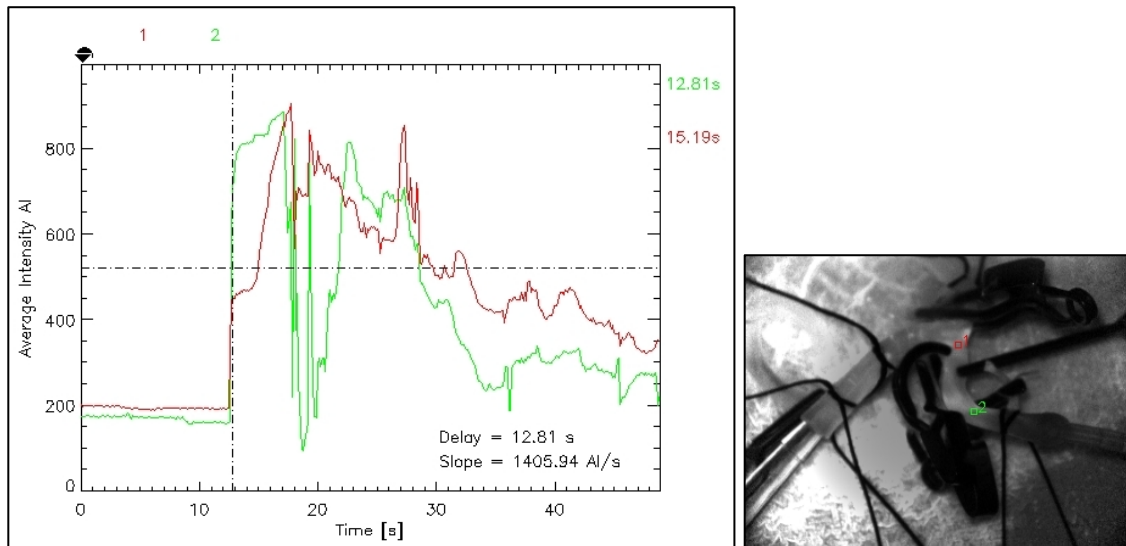


Figura 180.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el tercer pulso (F3) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) con estenosis de un punto del segmento estudiado. A la derecha, imagen de referencia sobre la localización de los ROIs: El rojo (1) corresponde al punto proximal a la estenosis igual que en el pulso anterior y el ROI verde (2) corresponde al punto distal a dicha estenosis de forma análoga al pulso F2.

**COMPARATIVA ENTRE PULSOS:****F1 vs F2**

Al comparar los resultados del primer pulso con los del segundo en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando escalas independientes se observa una discreta diferencia de coloración, desde blanco-grisáceo para F1 (1003-1254 AI) a algo más grisáceo para F2 (956-1275 AI) (Figura 181). Al usar una única escala de medida, estas mínimas diferencias de color se hacen prácticamente imperceptibles (Figura 182), recalcando la imposibilidad de cuantificación exacta del sistema.

Sin embargo cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad tanto con escalas independientes como con la misma escala temporal se observa un cambio cualitativo claro en el color observado. Así con escalas independientes la arteria en el pulso F1 muestra un color rojo frente al verde del pulso F2 (Figura 183). Con una escala común, se pasa de un color verde (F1, 22,3 s) a amarillo (F2, 11,2 s) (Figura 184).

La morfología del diagrama también es radicalmente distinta, careciendo el primer pulso de pendiente ascendente inicial, con una diferencia entre tiempos de demora de 8,71 s para F1 frente a 0,02 para F2 (Figura 185).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

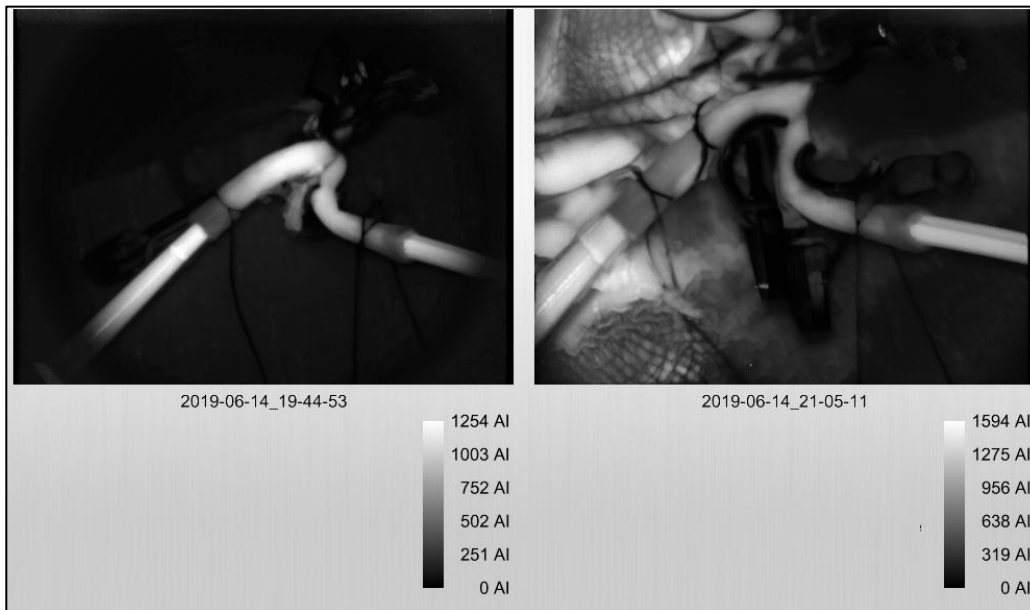


Figura 181.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:



Figura 182.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando una escala colorimétrica común.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

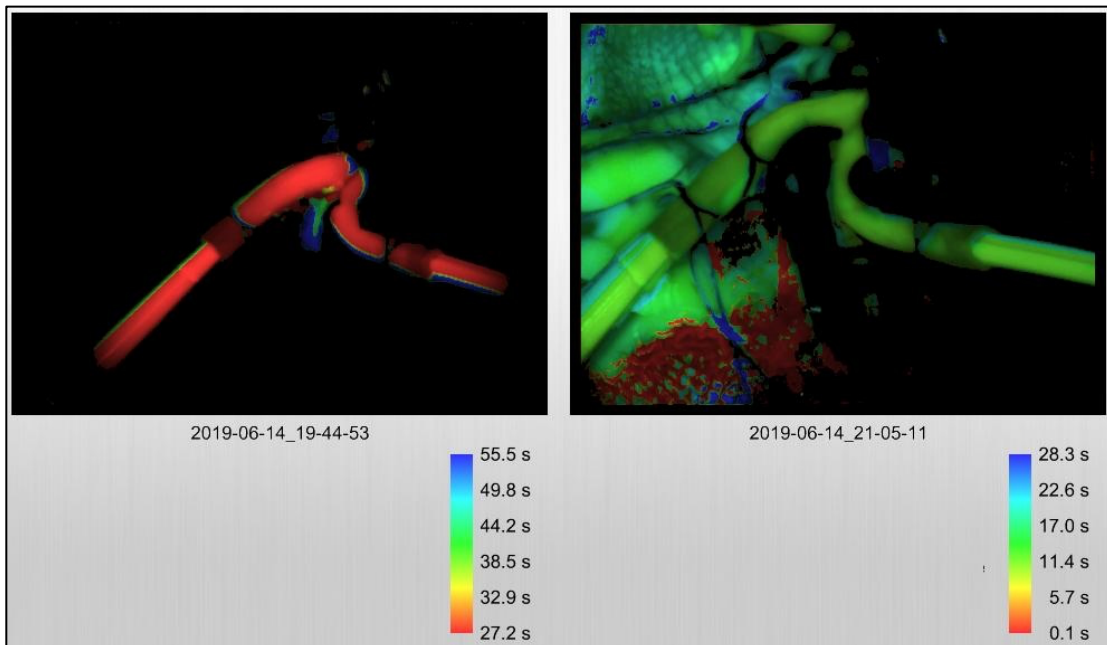


Figura 183.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

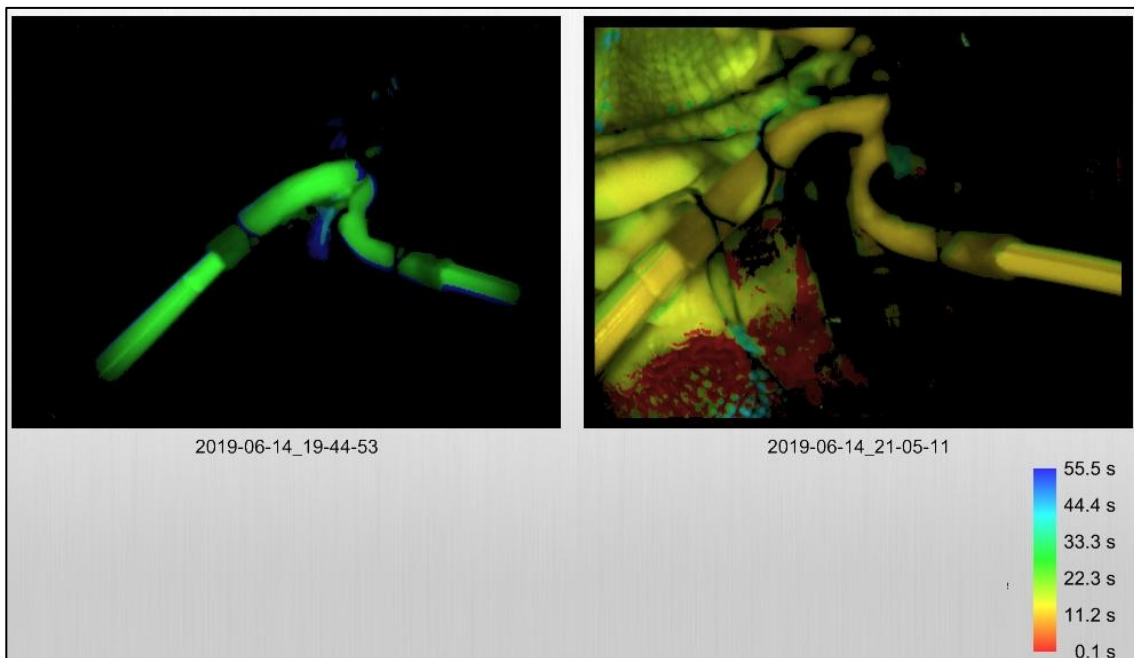


Figura 184.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando una escala colorimétrica común.

Diagramas:

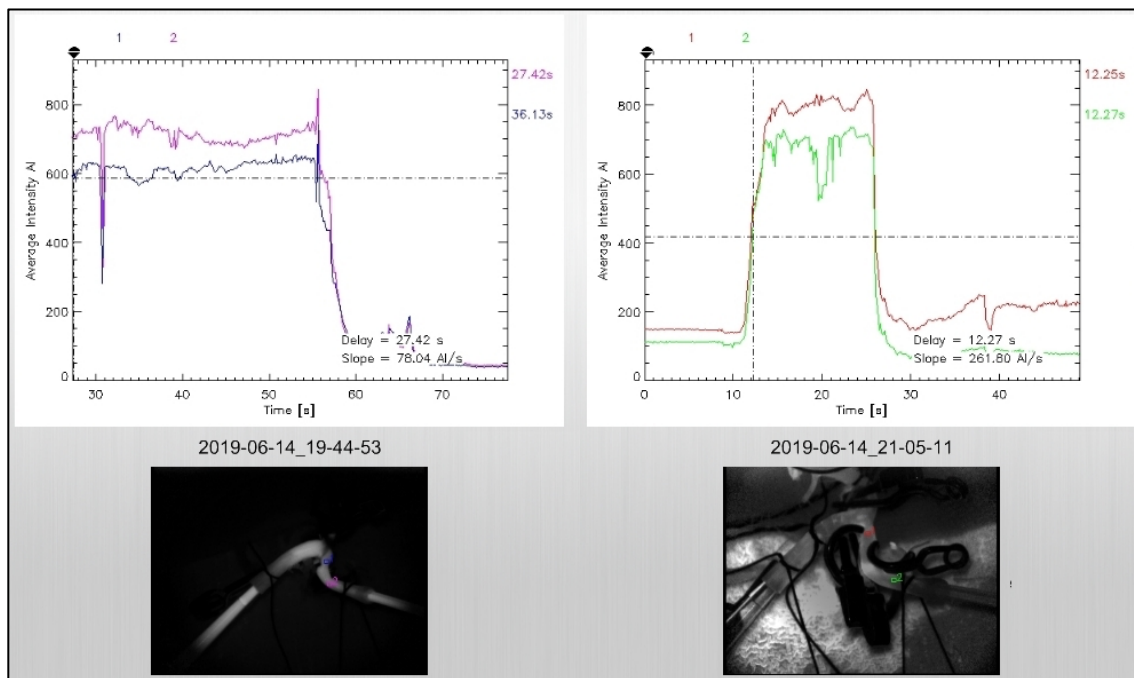


Figura 185.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3).

### F1 vs F3

Al comparar los resultados del primer pulso con los del tercero en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando escalas independientes (Figura 186) existe una discreta diferencia colorimétrica desde el blanco intenso del primero a algo más grisáceo del pulso F3 (1254 AI vs 1280 AI respectivamente), diferencia que visualmente disminuye cuando se comparan usando una escala común (Figura 187).

Usando el mapa de retardo de intensidad, cuando se comparan con escalas independientes la diferencia es muy clara: en F1 el segmento arterial se muestra rojo (27,2 s) frente al color azul del pulso F3 (13,3 s) (Figura 188); Empleando una escala colorimétrica común, esta diferencia cualitativa se mantiene en forma de distintos colores. Así para el pulso F1 se muestra un color verde (22,3 s) frente al color amarillo que adquiere la arteria en F3 (11,2 s) (Figura 189)

Para los diagramas sucede algo similar a la comparación con el pulso F2. La morfología es diferente, puesto que en el pulso F1 no aparece una pendiente ascendente inicial. Se registra una diferencia en los tiempos de demora de 8,71 s para el primer pulso en contrapeso a los 2,38 s del pulso F3 (Figura 190).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

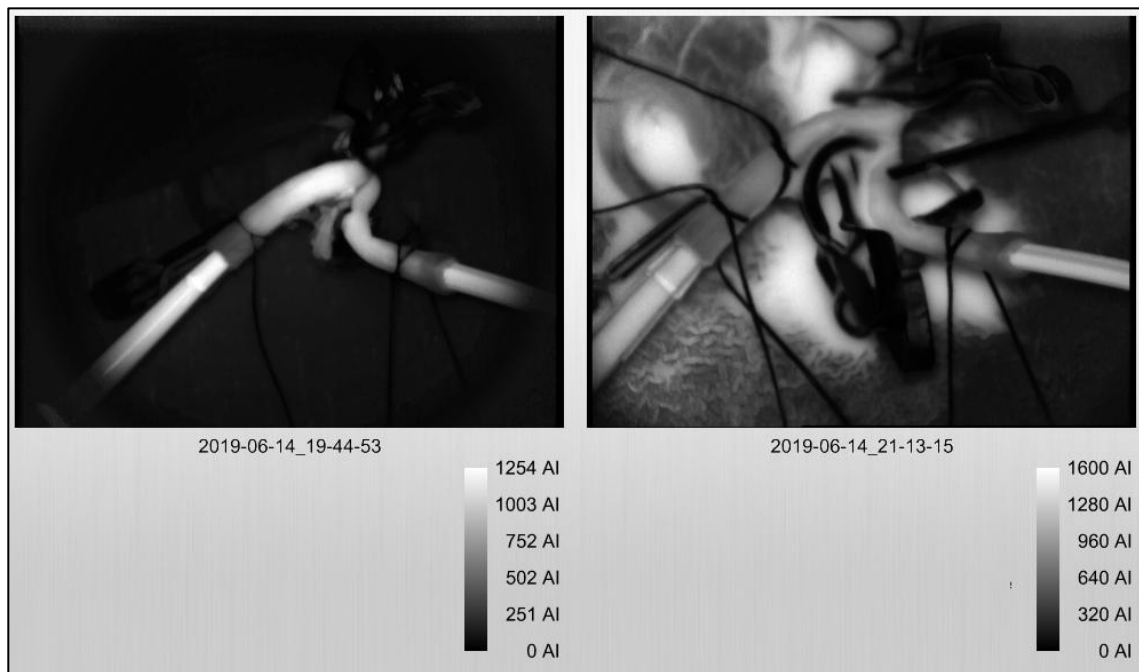


Figura 186.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

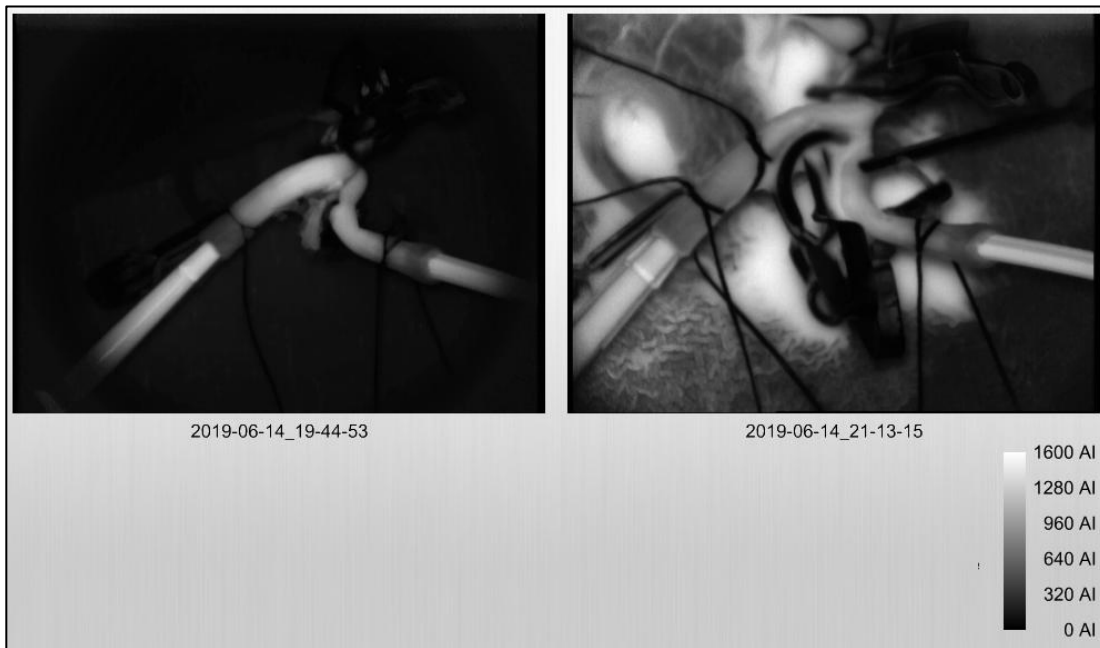


Figura 187.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando una escala colorimétrica común.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

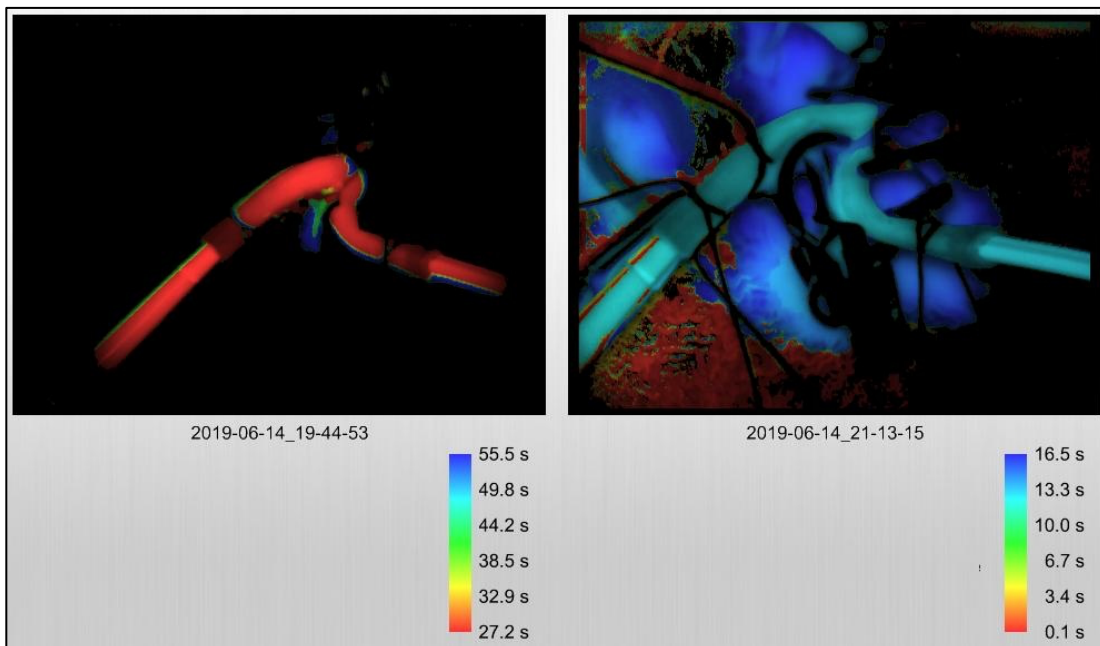


Figura 188.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.



Comparación con escala única:

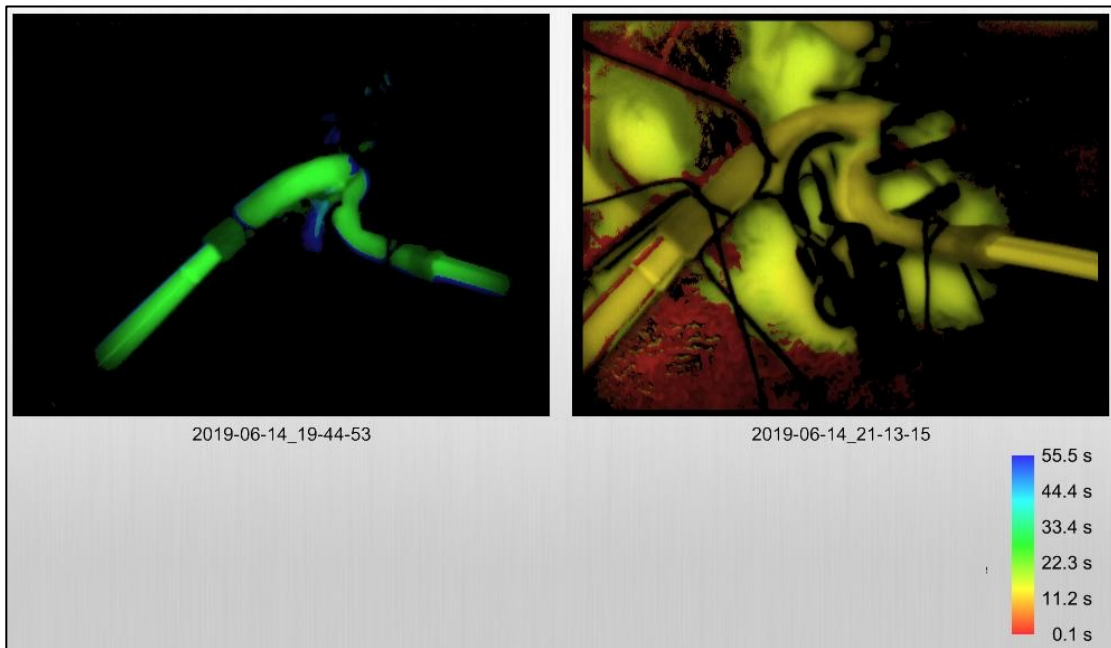


Figura 189.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3) empleando una escala colorimétrica común.

Diagramas:

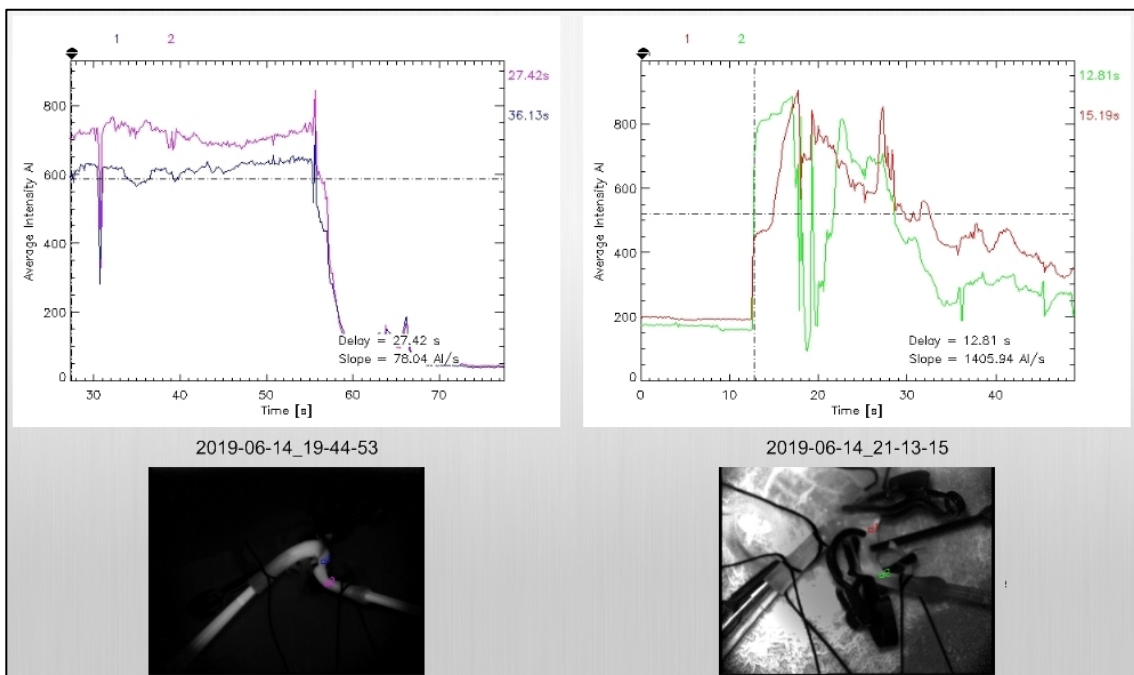


Figura 190.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 3).



### 5.3.2.3 Arteria cerebral media izquierda (segmento horizontal o M1)

#### PULSO 1 (F1)

Diámetro externo: 3,65 mm

En el primer pulso a través de la arteria cerebral media izquierda se detecta fluorescencia.

El análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco, 1545 AI), con una intensidad uniforme en todo el segmento (Figura 191). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un color anaranjado cuya traducción cuantitativa aproximada es de 6,9 s (Figura 192)

El diagrama igualmente muestra una morfología muy irregular siendo imposible identificar una pendiente ascendente ni descendente clara, con unos tiempos de demora de 6,77 s para el punto proximal a la estenosis y 6,83 s para el distal, esto es 0.06 s de diferencia entre ambos (Figura 193).

Mapa de intensidad:



Figura 191.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Mapa de retardo:

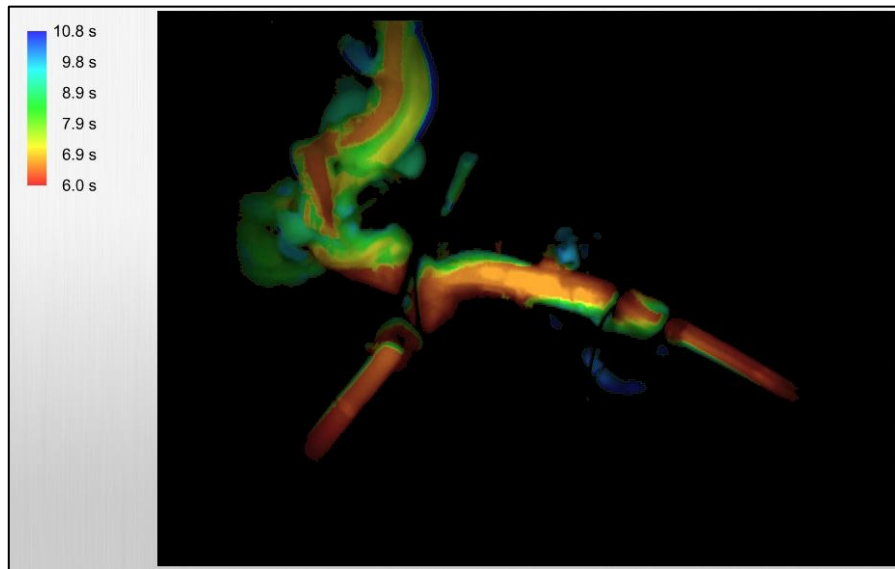


Figura 192.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo basal.

Diagrama:

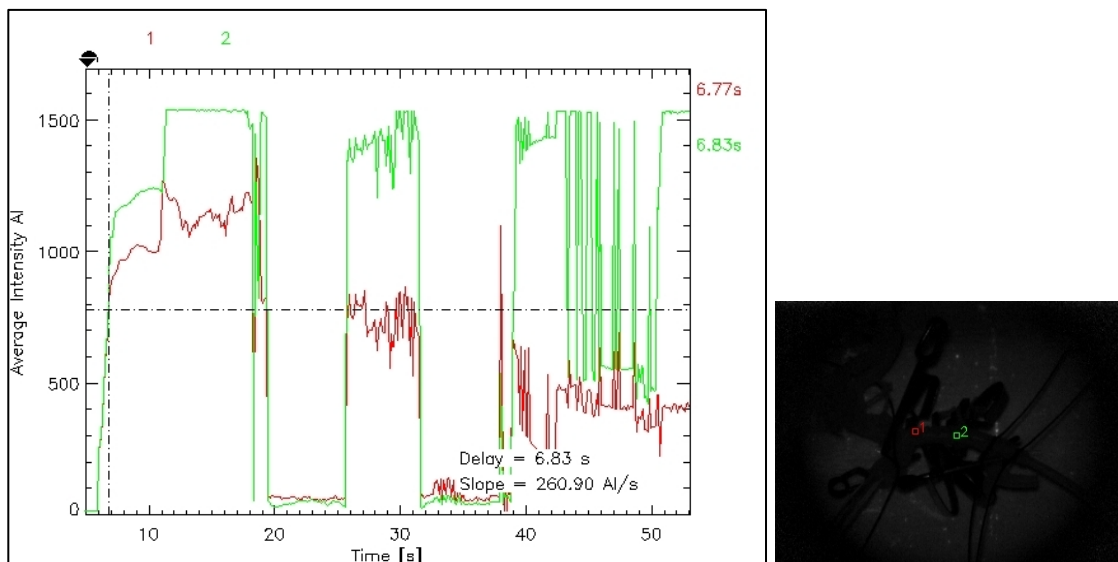


Figura 193.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el primer pulso (F1) con el diámetro externo basal de la arteria cerebral media izquierda (Caso 3). El ROI rojo (1) representa el punto de interés antes de donde se situará la estenosis, el verde (2) es el punto distal a dicha zona.

Tras este primer pulso no se objetiva fluorescencia residual en el vaso. Sin embargo queda impregnada una parte de la cánula de plástico empleada en el espécimen (Figura 194).



Figura 194.- Imagen de fluorescencia residual tras el primer pulso que ha quedado adherida a la pared de la tubuladura de plástico empelada para canular la arteria en la salida del sistema.

## **PULSO 2 (F2)**

Diámetro externo: 1,825 mm

En este segundo pulso a través de la arteria cerebral media izquierda igualmente se detecta fluorescencia.

En el mapa de intensidad de señal muestra valores cercanos al máximo (blanco-gris, 850-1063 AI) de forma uniforme en toda la arteria. La intensidad máxima queda registrada en el segmento de la cánula de plástico previamente referido (Figura 195).

Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con color amarillo cuya traducción cuantitativa aproximada es de 9,1 s (Figura 196).

El diagrama muestra una morfología más parecida a la de pulsos previos, con una pendiente ascendente pronunciada, con tiempos de demora de 7,97 s para el punto proximal a la estenosis y 10,31 s para el distal, esto es, 2,34 s de diferencia entre ambos (Figura 197).

Mapa de intensidad:

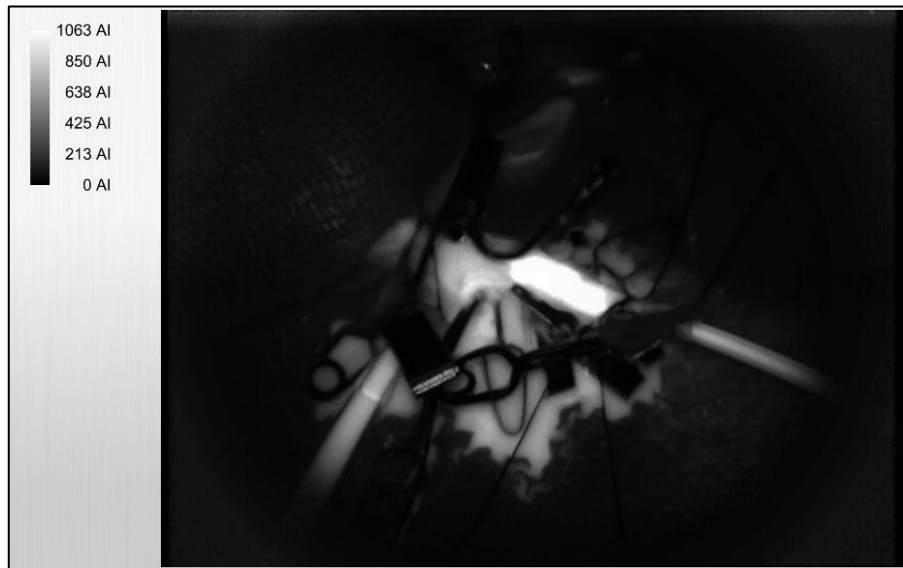


Figura 195.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Mapa de retardo:

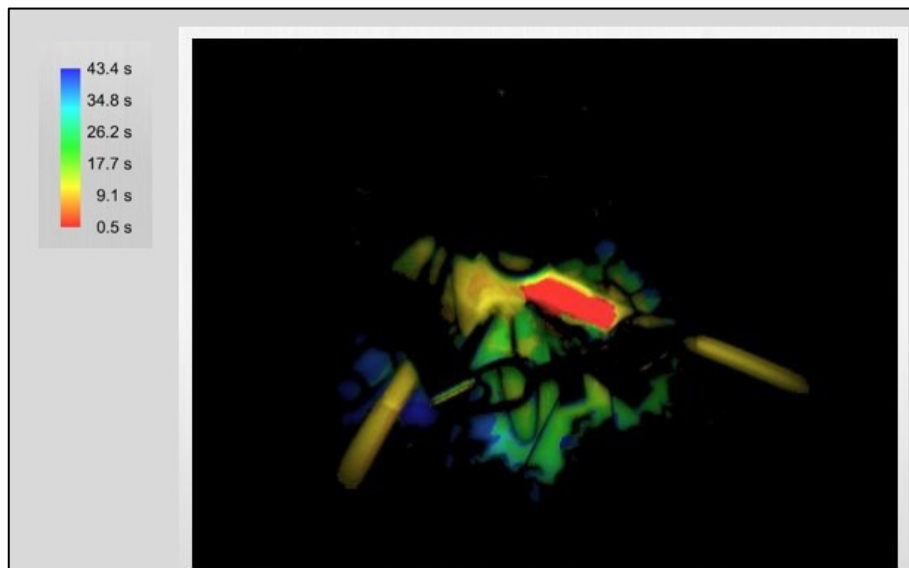


Figura 196.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Diagrama:

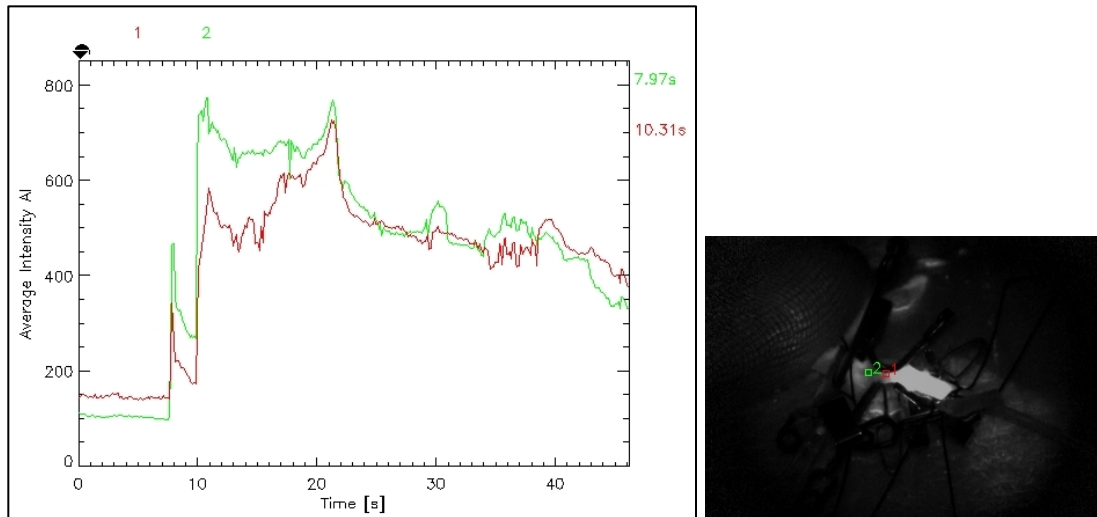


Figura 197.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el segundo pulso (F2) sobre la arteria cerebral media izquierda (caso 3) con estenosis del 50% del diámetro externo del vaso. El ROI rojo (1) representa el punto de interés antes de la estenosis, el verde (2) es el punto distal a dicho estrechamiento.

Tras este segundo pulso tampoco se objetiva fluorescencia residual.

### PULSO 3 (F3)

Diámetro externo: Estenosis en un único punto por clip quirúrgico.

En el tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda se detecta fluorescencia.

El análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores cercanos al máximo en el segmento estudiado (color blanco-gris, 567-708 AI), quedando la máxima intensidad sobre el segmento de cánula previamente fijado con ICG (Figura 198)

Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con color azul (20,4 s) en contraposición al segmento de cánula fijado (0,1 s) (Figura 199).

El diagrama igualmente muestra una pendiente ascendente pronunciada, pero con una pendiente de descenso muy irregular y poco clara, con unos tiempos de demora de

19,06 s para el punto proximal a la estenosis y 19,07 s para el distal, esto es 0,01 s de diferencia entre ambos (Figura 200).

Mapa de intensidad:



Figura 198.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo comprometido en un único punto por un clip quirúrgico.

Mapa de retardo:

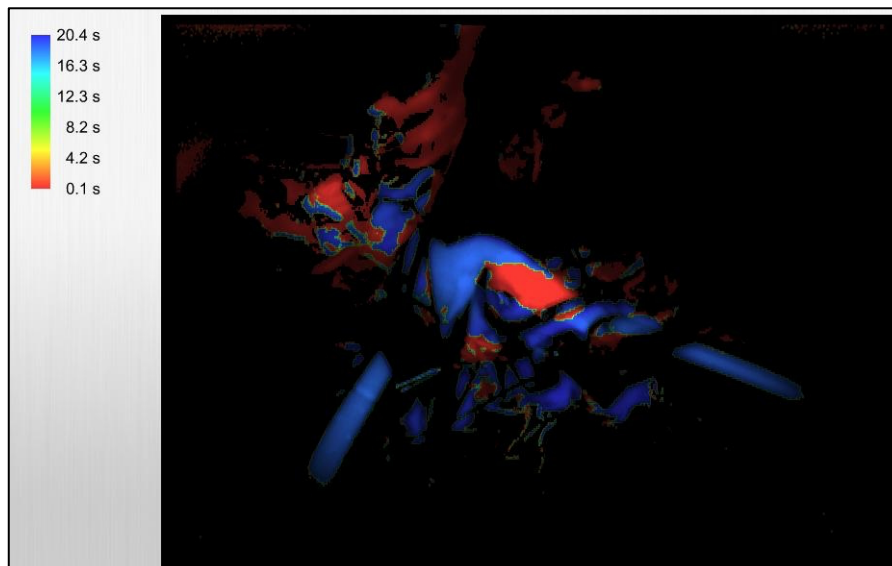


Figura 199.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con el diámetro externo comprometido en un único punto por un clip quirúrgico.

Diagrama:

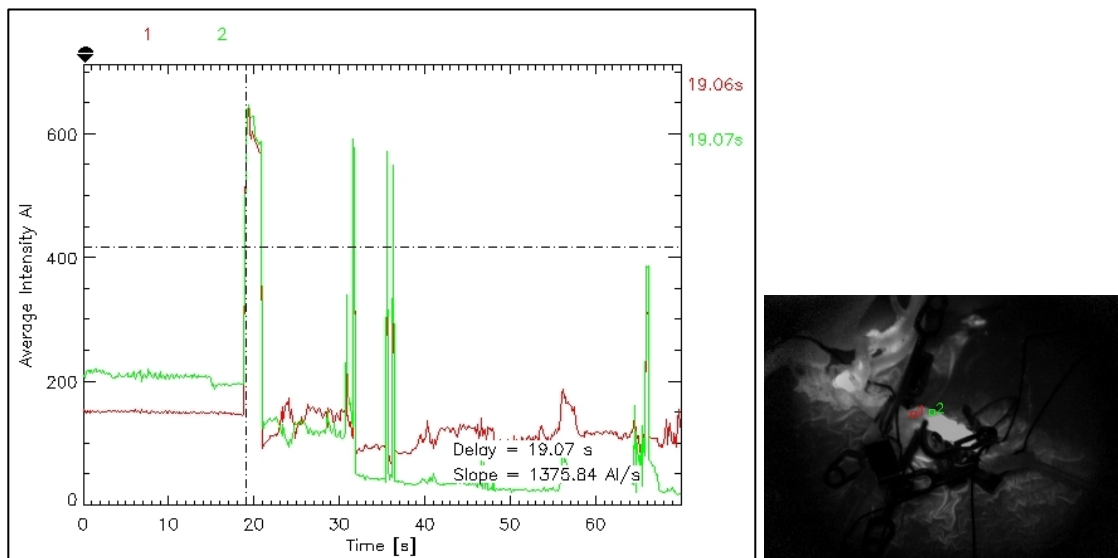


Figura 200.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el tercer pulso (F3) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) con estenosis de un punto a lo largo del segmento estudiado. El ROI rojo (1) representa el punto de interés antes de la estenosis, el verde (2) es el punto distal a dicho estrechamiento.

Tras este tercer pulso tampoco se objetiva nueva fluorescencia residual.

## COMPARATIVA ENTRE PULSOS

### F1 vs F2

Al comparar los resultados del primer pulso con los del segundo en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) empleando escalas independientes no existen diferencias cualitativas significativas (Figura 201). Al usar una escala común, el segmento de arteria cerebral media estudiado presenta un discreto cambio cualitativo siendo algo más intenso en el primer pulso (F1 1545 vs F2 1063) siendo difícil poder cuantificarlo con exactitud (Figura 202).

Cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad tanto con escalas independientes (Figura 203) como con la misma escala temporal (Figura 204) se observa un cambio cualitativo en el color observado. Con escalas independientes, pasando de un color naranja (F1, 6,9) a amarillo (F2, 9,1) y empleando una misma escala

común el color se modifica a un naranja más intenso (F1, 0,5-9,1s) a amarillo (F2, 9,1 s).

El diagrama en el primer caso es poco valorable, mientras que en el segundo pulso muestra una morfología similar a la de otros pulsos, con tiempos de demora de 0,06 vs 2,34 s entre los pulsos F1 y F2 respectivamente (Figura 205).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

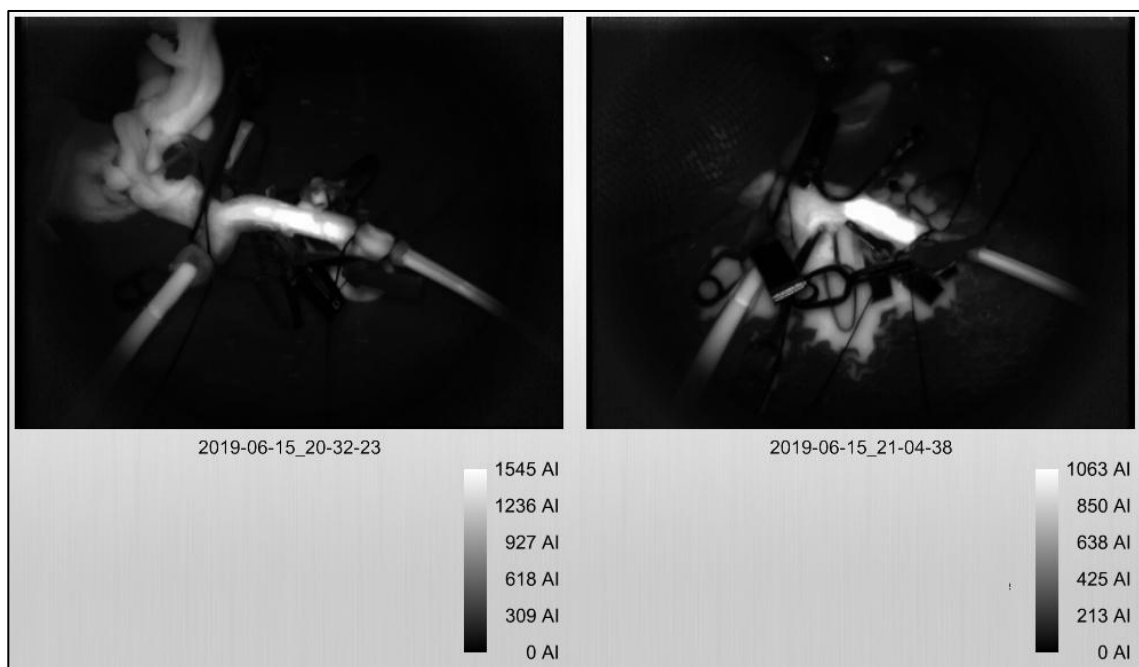


Figura 201.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.



Comparación con escala única:



Figura 202.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando una escala común.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

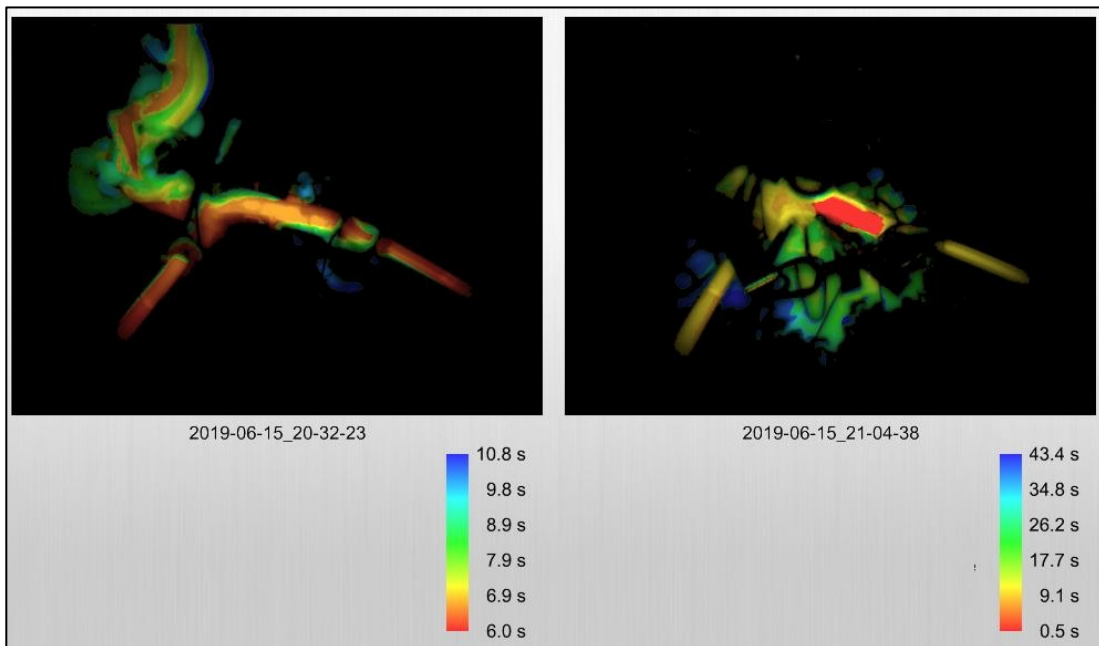


Figura 203.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

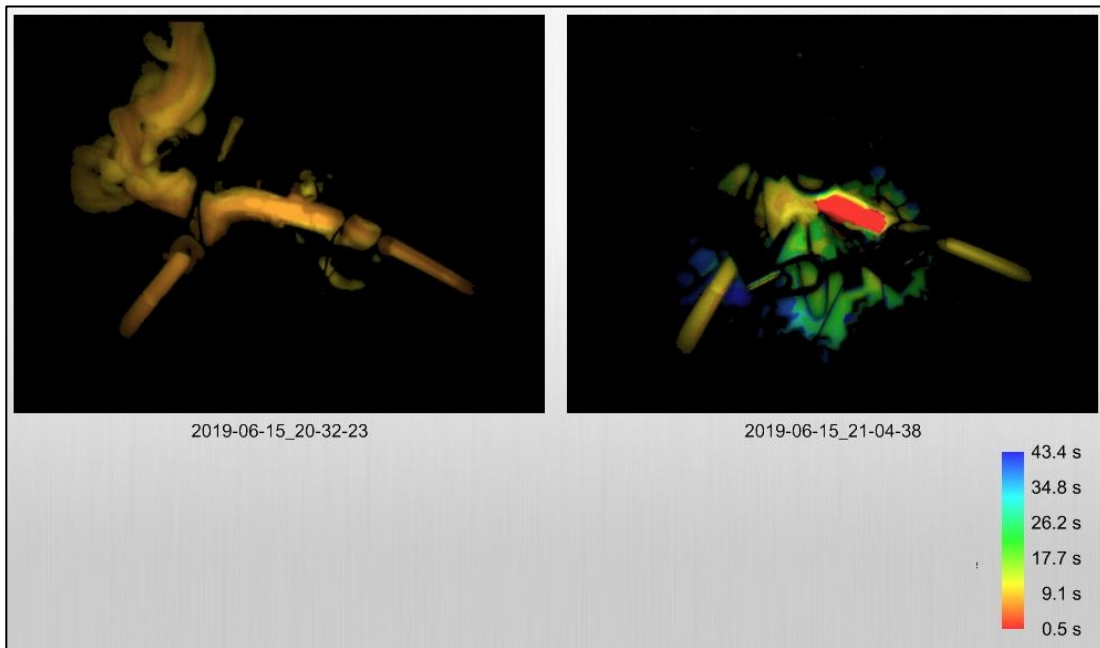


Figura 204.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando una escala común.

Diagramas:

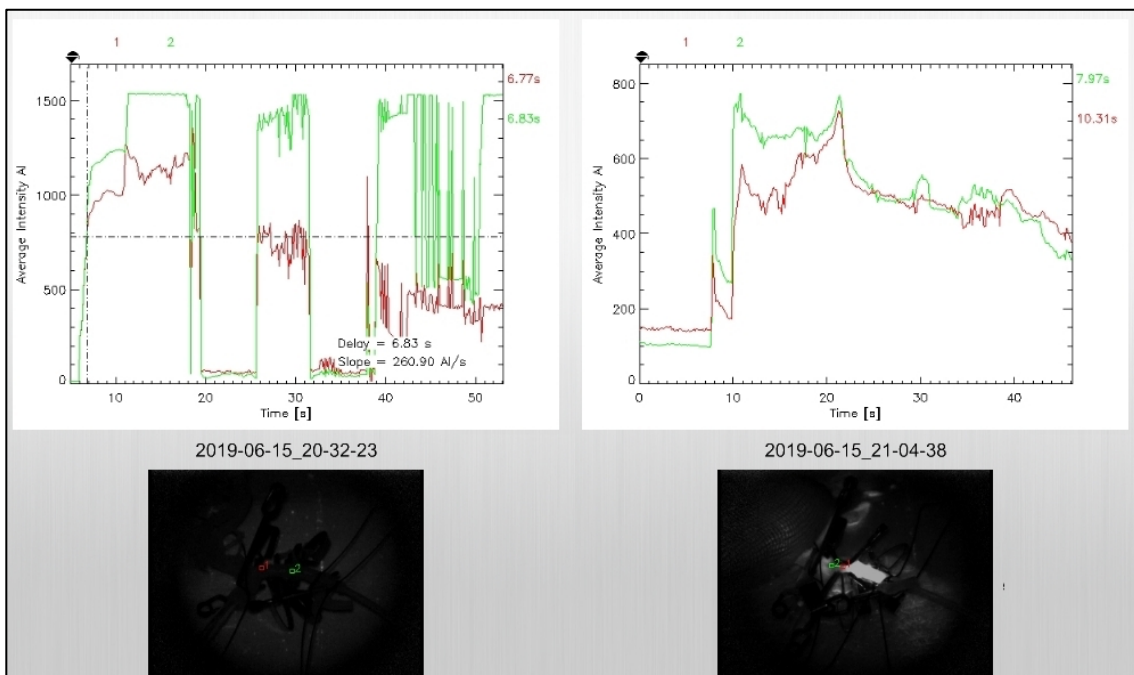


Figura 205.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3).

**F1 vs F3**

Comparando los resultados del primer pulso con los del tercero en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) y empleando escalas independientes no existen diferencias cualitativas significativas (Figura 206). Al usar una escala común, el segmento de arteria cerebral media estudiado presenta un discreto cambio cualitativo siendo algo más intenso en el primer pulso (F1 1545 vs F3 1236) sin poder cuantificarlo con exactitud (Figura 207).

Cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad empleando escalas independientes se observa claramente una diferencia cualitativa. Para el pulso F1 el color es naranja (6,9 s) mientras que el pulso F3 es azul (20,4s) (Figura 208). E igualmente, si se analiza con una escala común, persiste la diferencia cualitativa. Para F1 se exhibe un color verde (8,2-12,3s) frente al color azul del pulso F3 (20,4 s) (Figura 209)

El diagrama en el primer caso es poco valorable, mientras que en el tercer pulso es igualmente poco valorable con varios picos de intensidad máxima. Los tiempos de demora son de 0,06 vs 0,01 s entre los pulsos F1 y F3 respectivamente, a pesar de la diferente morfología de la curva (Figura 210).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

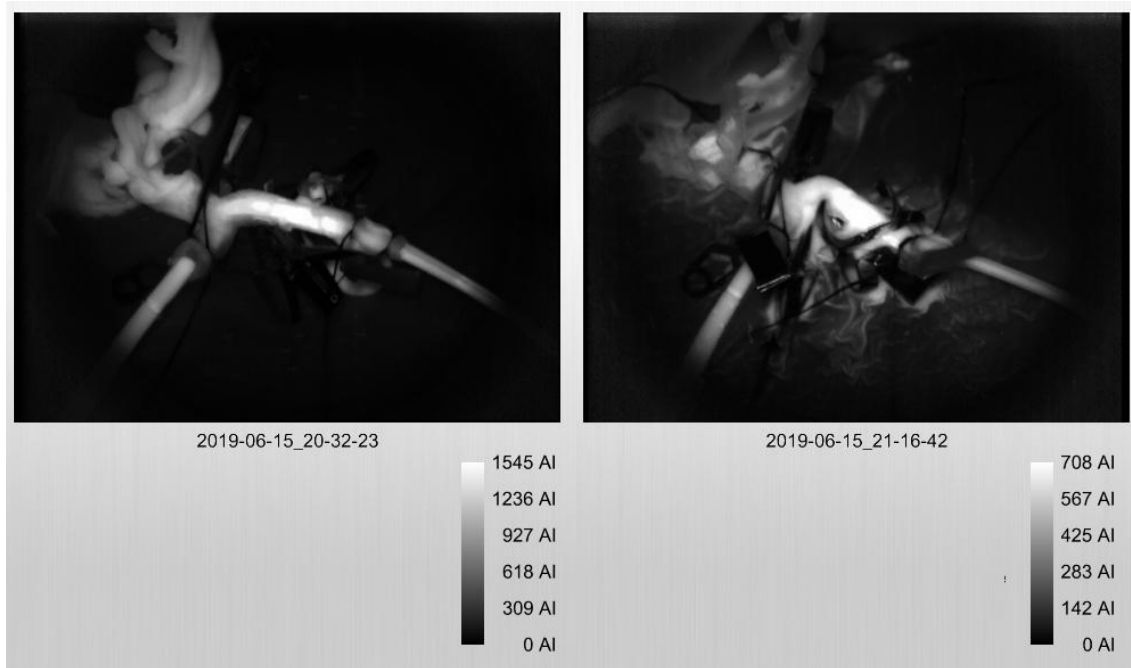


Figura 206.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:



Figura 207.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando una única escala.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

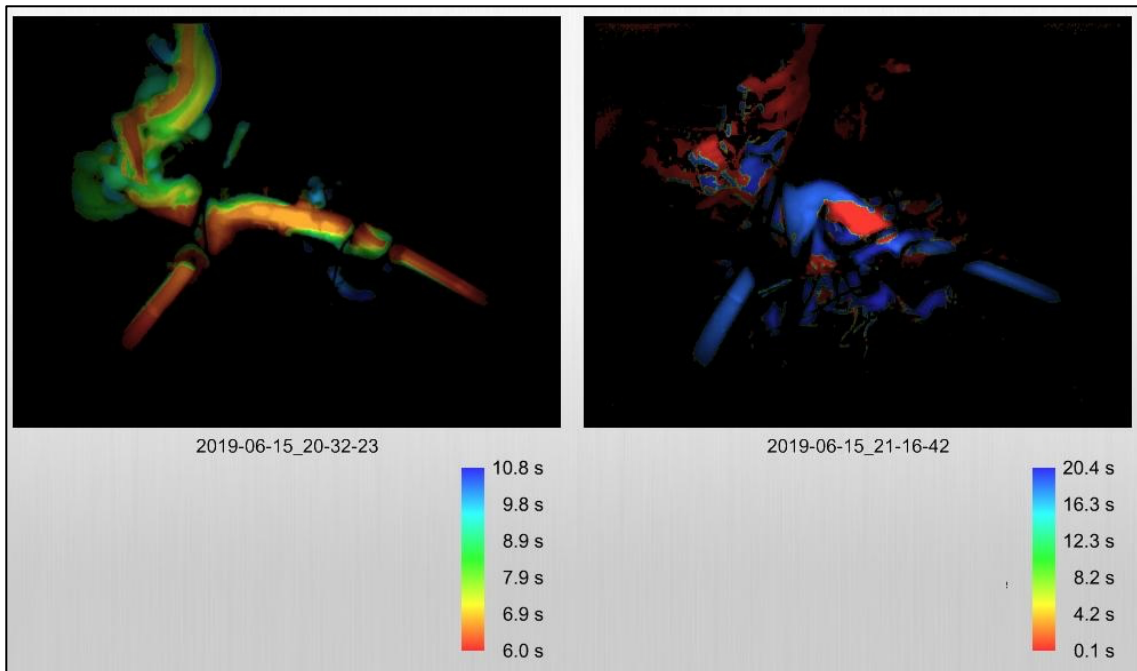


Figura 208.- Comparativa del mapa de retardo intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

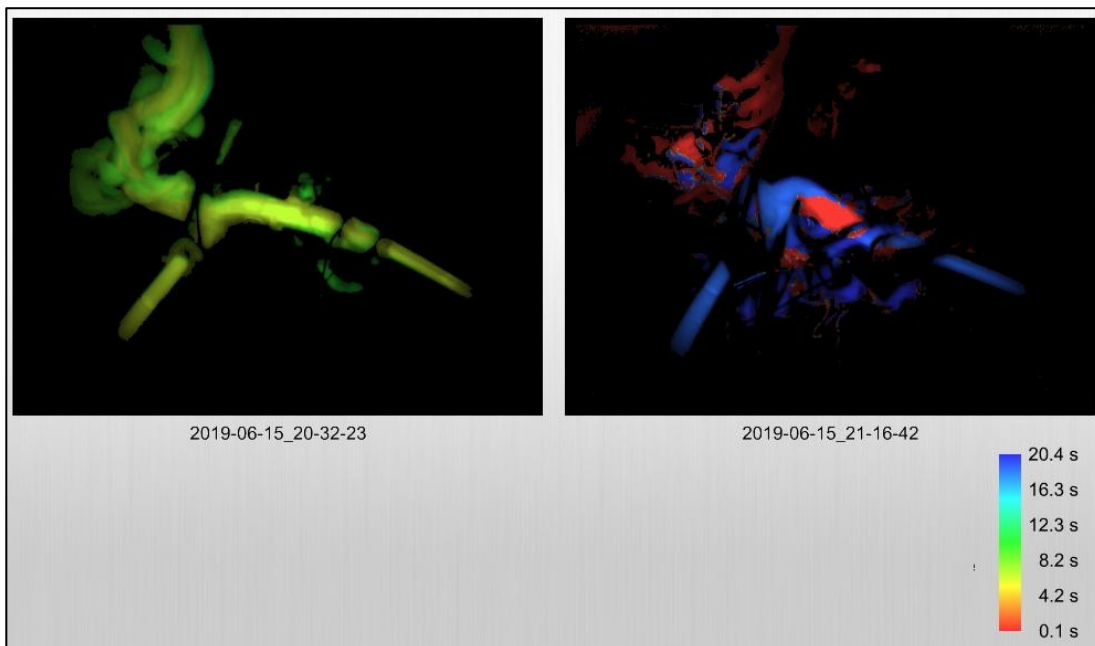


Figura 209.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3) empleando una única escala.

Diagramas:

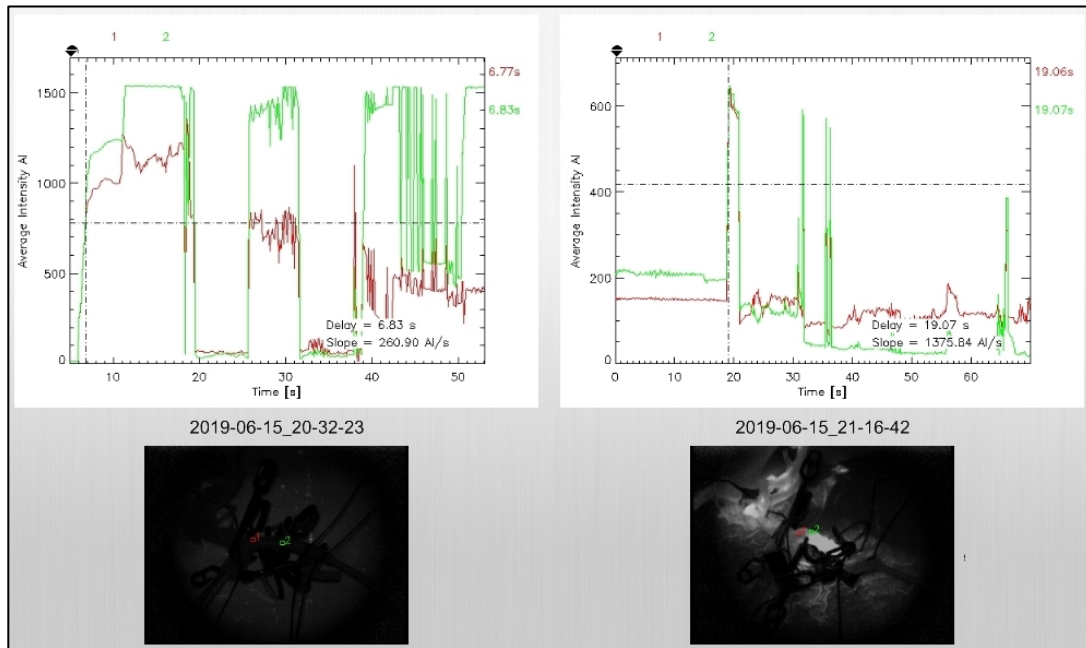


Figura 210.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media izquierda (Caso 3).

## 5.4 CASO 4

### 5.4.1 Descripción

Imágenes descriptivas del sistema arterial disecado:

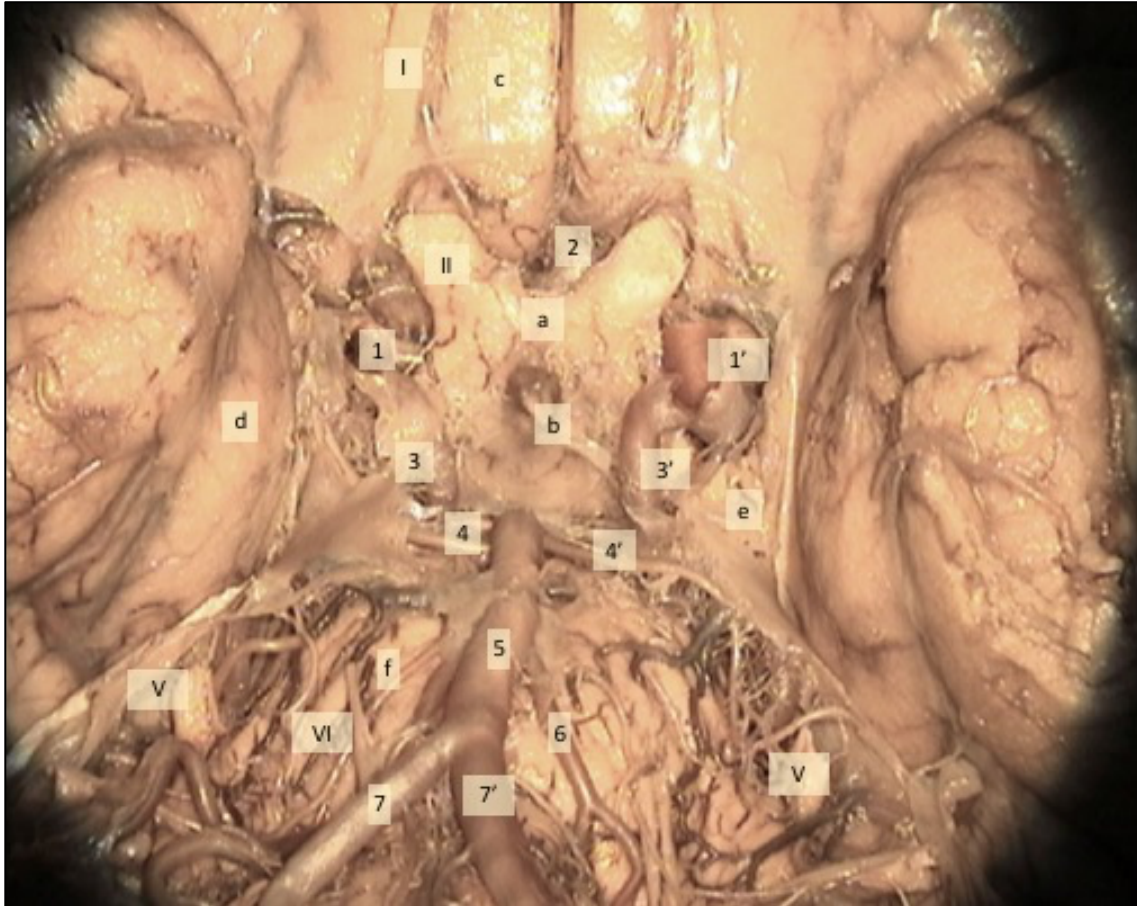


Figura 211.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 4: los números se refieren a estructuras vasculares, las letras minúsculas representan estructuras encefálicas adyacentes y finalmente los números romanos enumeran los nervios craneales. 1 y 1': ACI; 2 y 2': ACA; 3 y 3': ACoP; 4 y 4': A.Cerebelosa superior; 5: A. Basilar; 6: AICA; 7 Y 7': AA. Vertebrales; a: Quiasma óptico; b: Tallo hipofisario; c: Giro recto (lóbulo frontal) d: Giro parahipocampal (lóbulo temporal) derecho; e: uncus (lóbulo temporal); f: Protuberancia; I: I par o N. Olfatorio; II: II par o N. Óptico; V: V par o N. Trigémino; VI: VI par o N. Abducens/Motor ocular externo;





Figura 212.- Imagen de la cara basal del encéfalo Caso 4 centrada en la unión entre las circulaciones anterior y posterior: 1 y 1': ACI; 2 y 2': ACA; 3 y 3': ACoP; 4 y 4': A. Cerebelosa superior, parcialmente cubierta por aracnoides; 5: A. Basilar; 6: AICA; a: Quiasma óptico; b: Tallo hipofisario; c: Giro recto (lóbulo frontal) d: uncus (lóbulo temporal); e: Protuberancia; f: detalle de las trabéculas en el espacio subaracnoideo; II: II par o N. Óptico; VI: VI par o N. Abducens / Motor ocular externo;





Figura 213.- Imagen a mayor aumento del complejo circulatorio anterior retrayendo con un disector el quiasma óptico (Caso 4): 1 y 1': AA. Carótidas Internas; 2 y 2': ACA en su segmento precomunicante (A1), 2''': ACA segmento postcomunicante (A2); \*\*: ACoA (véase la duplicidad de la misma); 3 y 3': ACoP; 4: Detalle de las arterias perforantes originadas en la ACoA y que se dirigen hacia el quiasma y sustancia perforada anterior; a: Giro recto (lóbulo frontal); b: Quiasma óptico; II: II par craneal o N. Óptico.

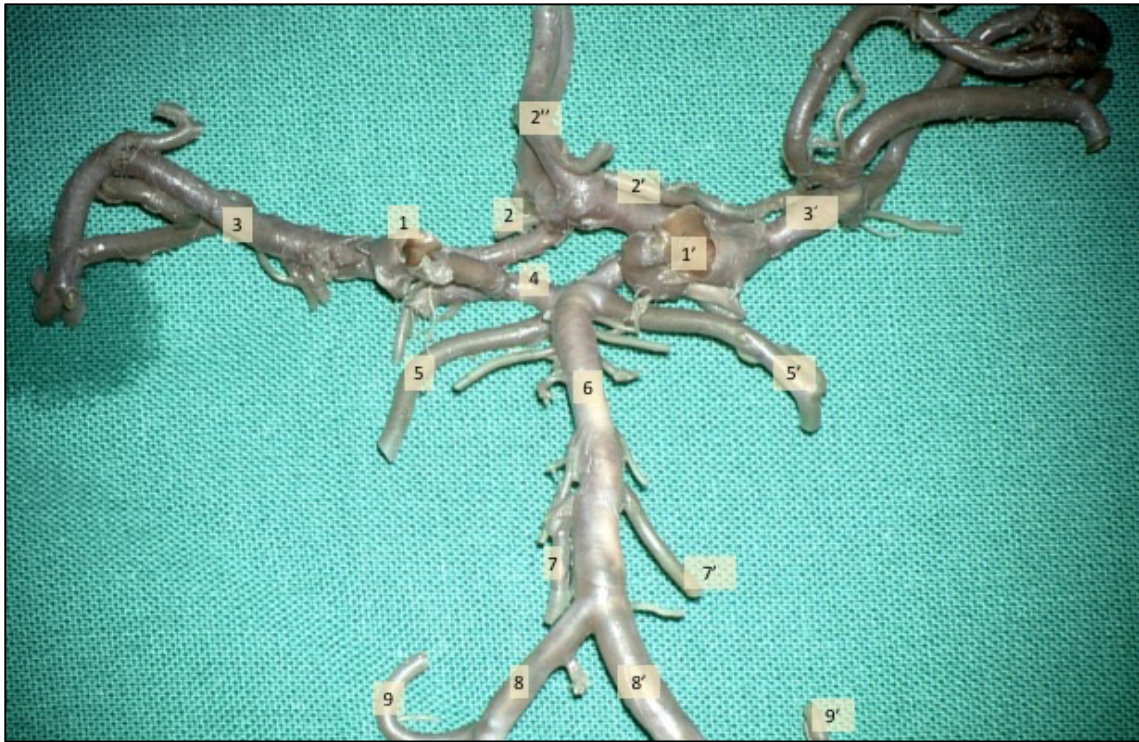


Figura 214.- Imagen de cara anterior del sistema encefálico previo (Caso 4) disecado: 1 y 1': ACI; 2 y 2': ACA (segmento precomunicante o A1), 2'': ACA (segmento postcomunicante o A2); 3 y 3': ACM (segmento horizontal o M1); 4: AcoP derecha; 5 y 5': ACS; 6: A. Basilar; 7 y 7': AICA; 8 y 8': AA. Vertebrales; 9 y 9': PICA.



Figura 215.- Imagen basal del polígono caso 4 disecado centrada en parte de la circulación posterior: 1: A. Basilar; 2 y 2': AICA; 3 y 3': A. Vertebral; 4 y 4': PICA.





Figura 216.- Arteria cerebral media izquierda disecada (Caso 4):

**A:** Imagen basal de la arteria cerebral media izquierda disecada. 1: ACI; 2: ACA; 3: ACM (segmento horizontal o M1); 4, 4' y 4'': ramas de la ACM segmento insular o M2; 4: tronco inferior; 4': tronco superior; 4'': A. Temporal anterior medial.

**B:** Detalle de la cara posterior de esta misma arteria que muestra un defecto por avulsión en el origen de la ACA, lo que inhabilita el espécimen para su canulación como sistema estanco y posterior estudio. 1: ACM; 2: ACA; El triángulo señala el defecto.



Figura 217.- Imagen basal de la arteria cerebral media derecha diseccionada (Caso 4). 1: ACI; 2: ACA; 3: ACM (segmento horizontal o M1); 4 y 4': Ramas de la ACM segmento insular o M2; 4: tronco inferior; 4': tronco superior; 5: AcoP; 6: ACP.



Figura 218.- Imagen de la arteria cerebral media derecha del espécimen caso 4 canulada para la infusión: 1: ACI, 2: ACA (ocluida por clip quirúrgico); 3: ACM, segmento horizontal o M1 (objeto de estudio); 4 y 4': ACM, ramas de la bifurcación o segmento insular (M2); Af: cánula aferente, punto entrada del fluido; Ef: cánula eferente; 2: cánula eferente (salida del fluido); La flecha amarilla señala la dirección del flujo.

### 5.4.2 Análisis de fluorescencia

De este cuarto y último sistema arterial se emplean 3 arterias: ambas arterias vertebrales y la arteria cerebral media derecha.

Se desestiman ambas arterias carótidas internas como en casos previos, por tratarse de segmentos muy cortos, imposibles de canular. La arteria cerebral media izquierda no se considera para el estudio por presentar diversos defectos en la pared del segmento M1, al igual que las arterias cerebrales anteriores. Y de forma análoga a los casos precedentes, las arterias cerebrales posteriores, cerebelosas superiores, AICA y PICA, igualmente no se consideran aptas para el estudio dado que su reducido calibre no permite reproducir las pruebas de reducción del calibre.

#### 5.4.2.1 Arteria vertebral izquierda

##### PULSO 1 (F1)

Diámetro externo: 3,504 mm

En el primer pulso a través de la arteria vertebral izquierda se detecta fluorescencia.

Al analizar cualitativamente esta fluorescencia en términos de intensidad muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco, 483 AI) (Figura 219). Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un intenso color azul cuya traducción cuantitativa aproximada es de 4,9 s (Figura 220).

El diagrama igualmente muestra una morfología similar a la de la mayor parte de pulsos, con una pendiente ascendente pronunciada y descenso progresivo, con un pico de intensidad mantenido para todos los puntos de interés igual. Los tiempos de demora de la fluorescencia sobre la arteria vertebral izquierda son de 4,86 s para el punto proximal a



donde se establecerá posteriormente la estenosis y 4,99 s para el distal, esto es 0,13 s de diferencia entre ambos (Figura 221).

Mapa de intensidad:



Figura 219.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Mapa de retardo:

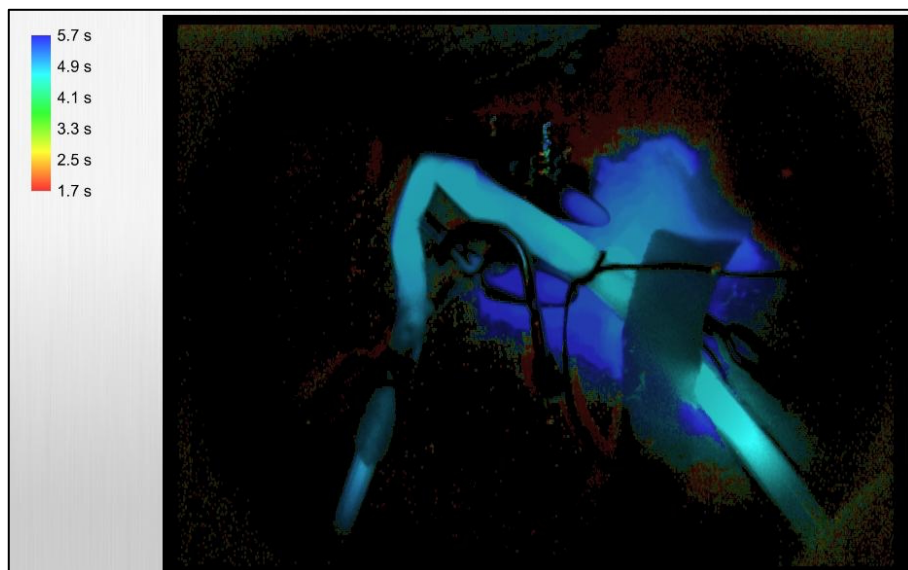


Figura 220.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Diagrama:

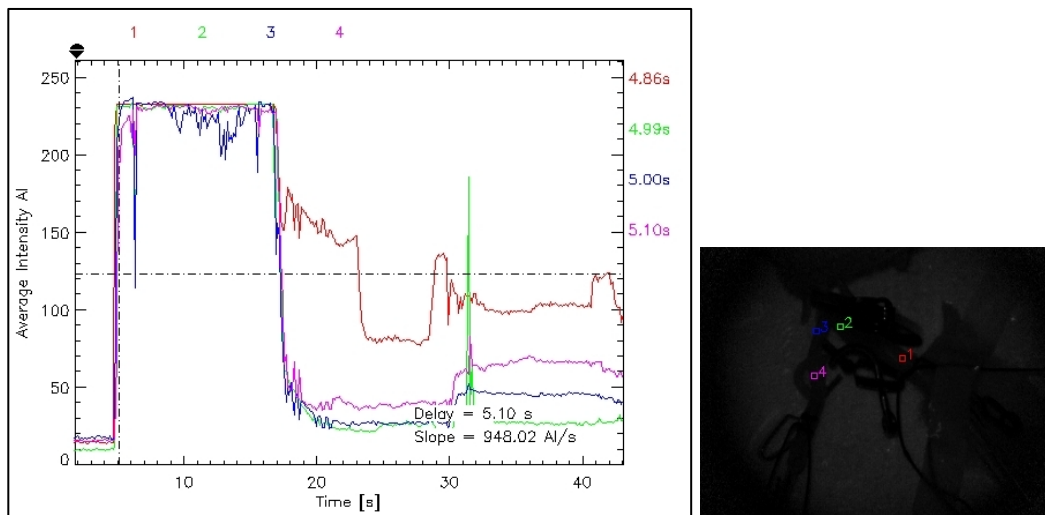


Figura 221.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el primer pulso (F1) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el 100% del diámetro externo del vaso. El ROI rojo (1) representa el punto de interés antes de la porción del vaso que se someterá a estenosis en los siguientes pulsos. El resto de los ROIs representan puntos para valorar el flujo distal a dicha área estenosada a continuación: El verde (2) es el punto inmediatamente distal a dicho futuro estrechamiento del lumen del vaso, mientras que los puntos azul (3) y rosa (4) se encuentran situados sobre la arteria vertebral derecha.

Tras este primer pulso no se objetiva fluorescencia residual.

## PULSO 2 (F2)

Diámetro externo (50%): 1,855 mm

En el segundo pulso a través de la arteria vertebral izquierda igualmente se detecta fluorescencia.

El análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, muestra valores máximos de ésta en el segmento estudiado (color blanco, 810 AI), con la misma intensidad tanto antes como inmediatamente después del área estenótica (Figura 222).

Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un intenso color verde, igualmente uniforme, cuya traducción cuantitativa aproximada es de entre 15,7-23,5 s (Figura 223).

El diagrama muestra una morfología superponible a la del primer pulso pero trasladada en el tiempo, es decir, con mayor retardo. Los tiempos de demora son, paradójicamente, de 15,25 s para el punto proximal a la estenosis y 15,23 s para el distal, esto es -0,02 s de diferencia entre ambos (Figura 224).

Mapa de intensidad:

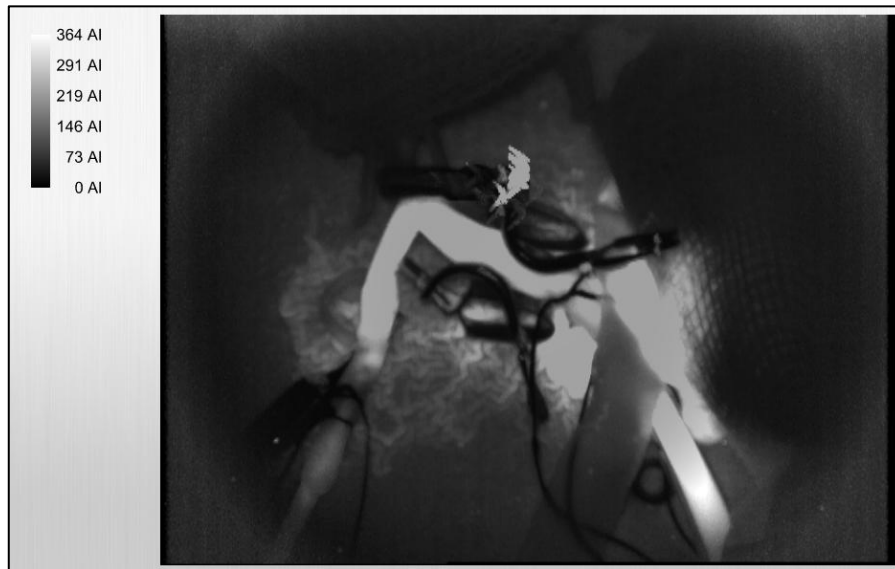


Figura 222.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Mapa de retardo:

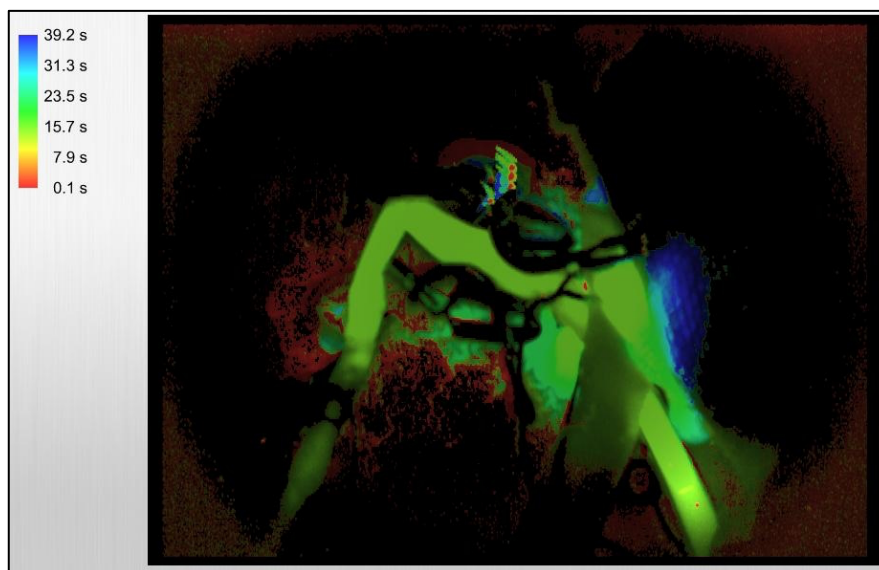


Figura 223.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.



Diagrama:

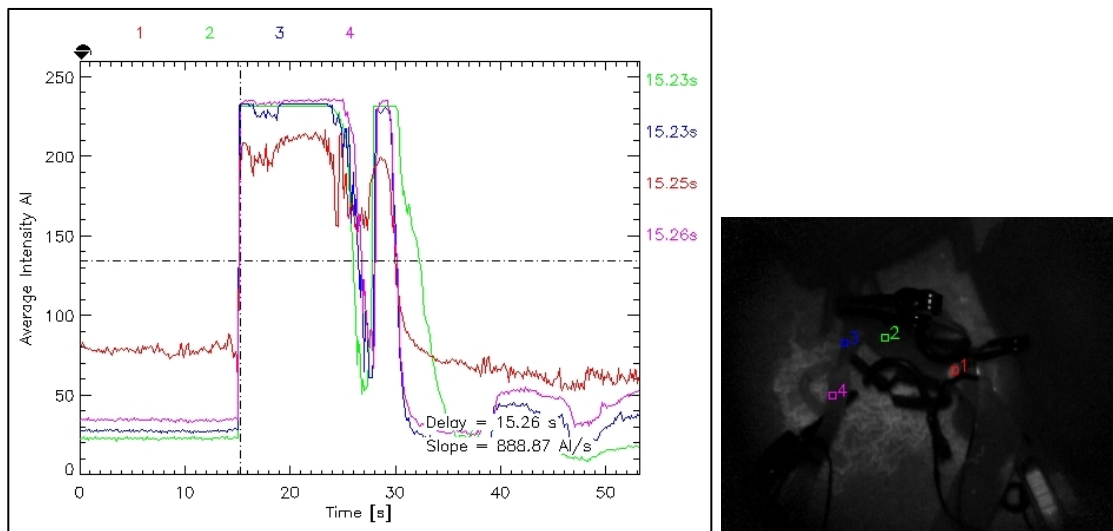


Figura 224.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el segundo pulso (F2) con el 50% del diámetro externo de la arteria vertebral izquierda (Caso 4) ocluido. Los ROIs se sitúan de forma análoga a su localización en el primer pulso. El ROI rojo (1) representa el punto de interés antes de la zona de estenosis. El resto de los ROIs representan puntos para valorar el flujo distal a dicha área estenosada a continuación: El verde (2) es el punto inmediatamente distal a dicho futuro estrechamiento del lumen del vaso, mientras que los puntos azul (3) y rosa (4) se encuentran situados sobre la arteria vertebral derecha.

Tras este segundo pulso tampoco se objetiva fluorescencia residual.

### PULSO 3 (F3)

Estenosis de un punto en la arteria con clip quirúrgico.

En este tercer pulso a través de la arteria vertebral izquierda igualmente se detecta fluorescencia.

En términos de intensidad de señal, se registran uniformemente en todo el vaso, valores máximos de intensidad (color blanco 364 AI) (Figura 225).

Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un intenso color verde uniforme, cuya traducción cuantitativa aproximada es de 10,6s (Figura 226).

El diagrama se diferencia del anterior no en la morfología, que es muy similar, sino en los tiempos de demora, que para la arteria vertebral izquierda son de 9,51s en el

punto proximal a la estenosis y 9,59 s para el distal, esto es 0,08 s de diferencia entre ambos (Figura 227).

Mapa de intensidad:



Figura 225.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Mapa de retardo:

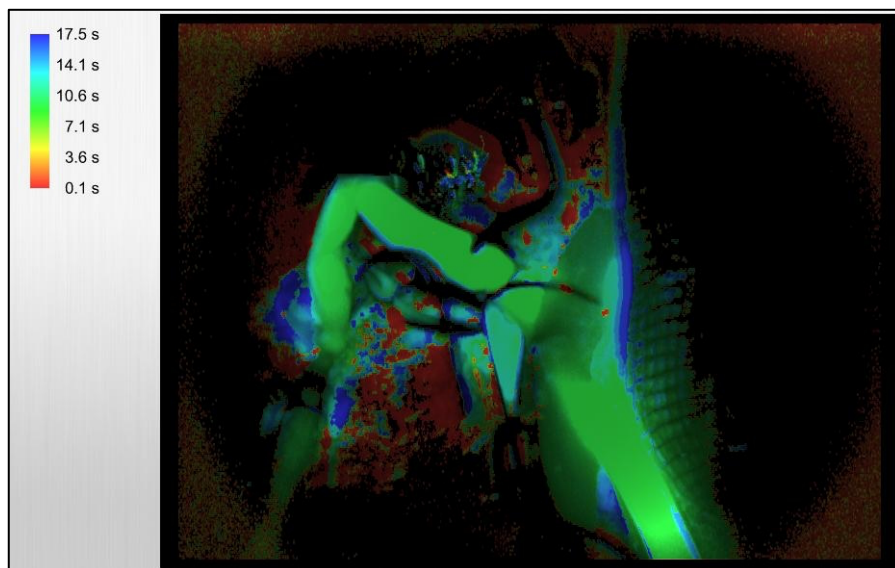


Figura 226.- Mapa de retardo de intensidad del tercer pulso sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Diagrama:

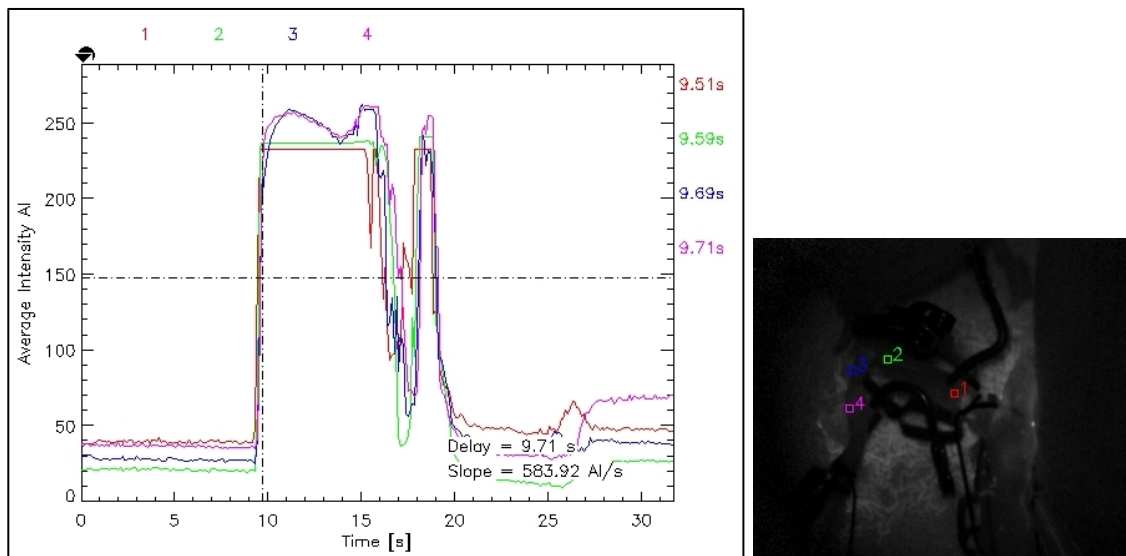


Figura 227.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el tercer pulso (F3) con la arteria vertebral izquierda estenosada en un único punto por un clip quirúrgico. Los ROIs se sitúan de forma análoga a su localización en los pulsos previos. El ROI rojo (1) representa el punto de interés antes de la zona de estenosis. El resto de los ROIs representan puntos para valorar el flujo distal a dicha área estenosada a continuación: El verde (2) es el punto inmediatamente distal a dicho estrechamiento del lumen del vaso, mientras que los puntos azul (3) y rosa (4) se encuentran situados sobre la arteria vertebral derecha.

Tras este tercer pulso tampoco se objetiva fluorescencia residual.

(Ver vídeo 11)

## COMPARATIVA ENTRE PULSOS

### F1 vs F2

Al comparar los resultados del primer pulso con los del segundo en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) tanto al emplear escalas independientes (Figura 228) como una única escala común (Figura 229), para ambos pulsos se obtienen valores máximos de fluorescencia y por tanto colorimétricamente indistinguibles.

Sin embargo, cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad la diferencia cualitativa es notable. Empleando escalas independientes en F1 se colorea en azul (5,7s) vs F2 en verde (15,7 s) (Figura 230). Con una escala común

también se observa un cambio cualitativo, pasando de un naranja (F1, 7s) a verde (F2, 15,7 s) (Figura 231).

En cuanto a la morfología del diagrama, es muy similar para ambos pulsos, cambiando el tiempo de aparición de fluorescencia y la forma del descenso de la misma en el punto proximal. La diferencia en el tiempo de demora de 0,13 s en el primer pulso frente a los 0,02 s del segundo (Figura 232).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

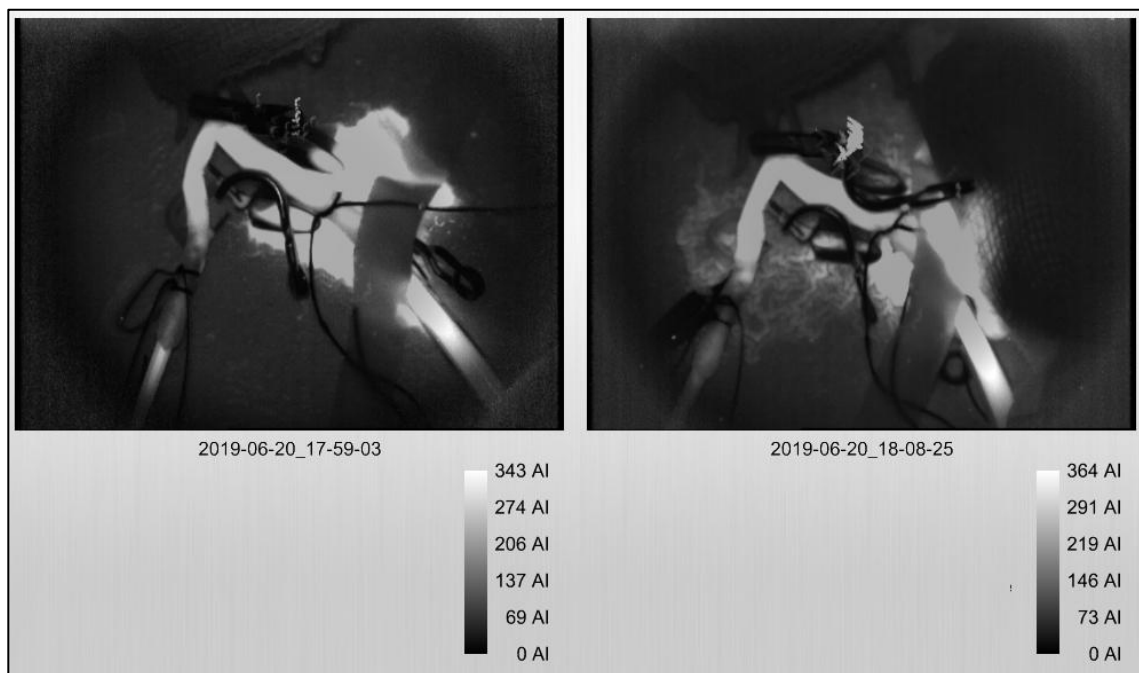


Figura 228.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:



Figura 229.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando una escala única.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

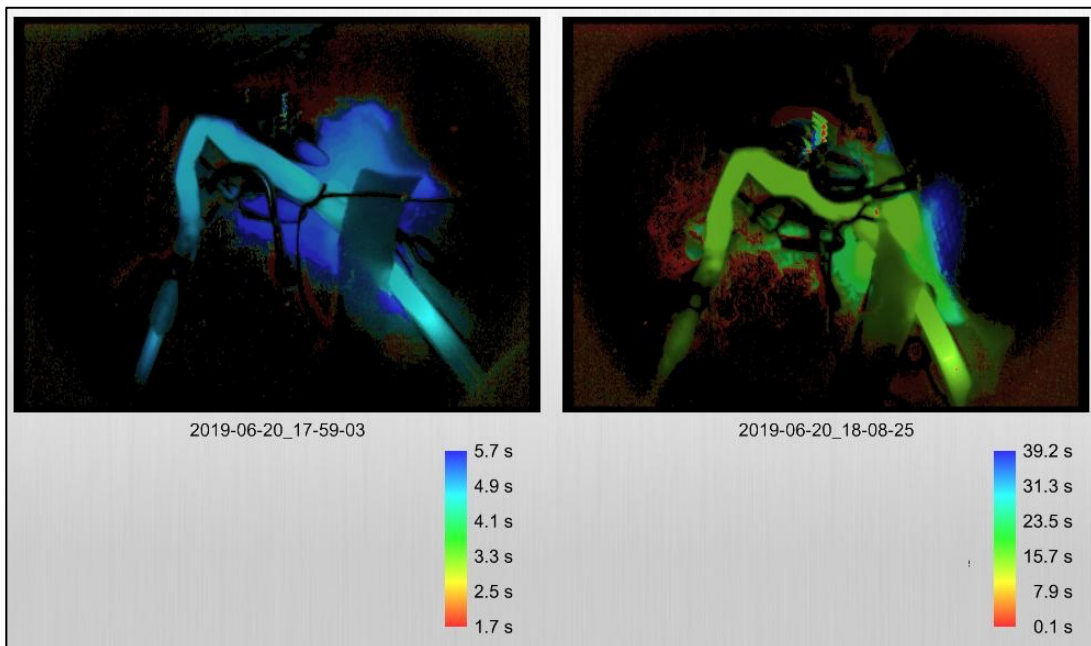


Figura 230.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

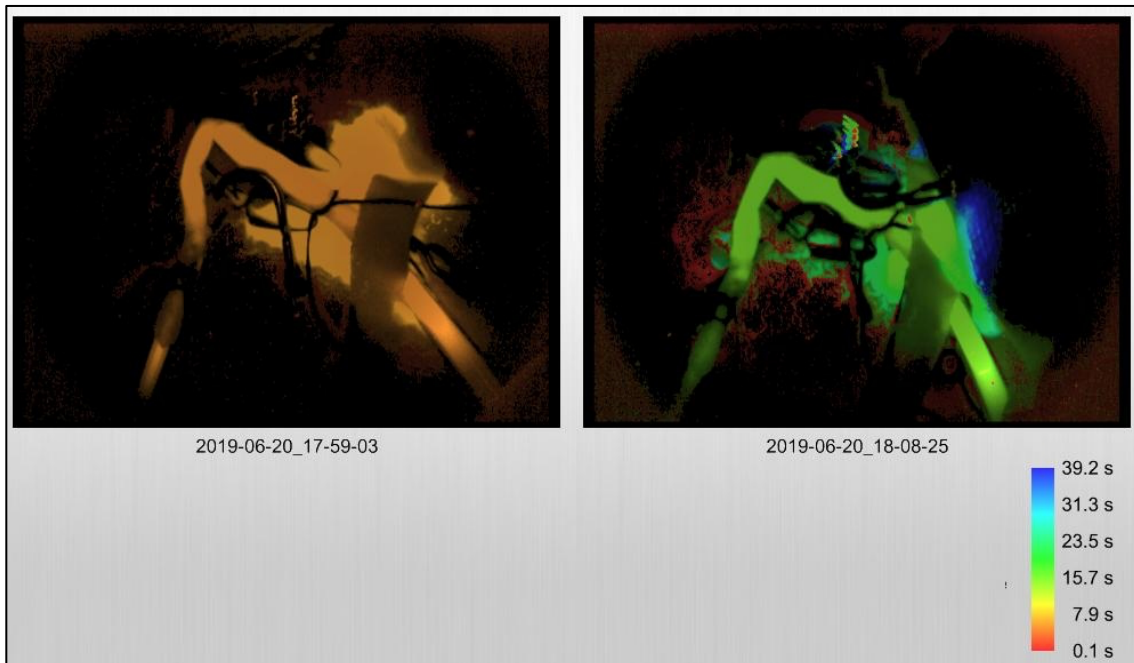


Figura 231.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando una escala única.

Diagramas:

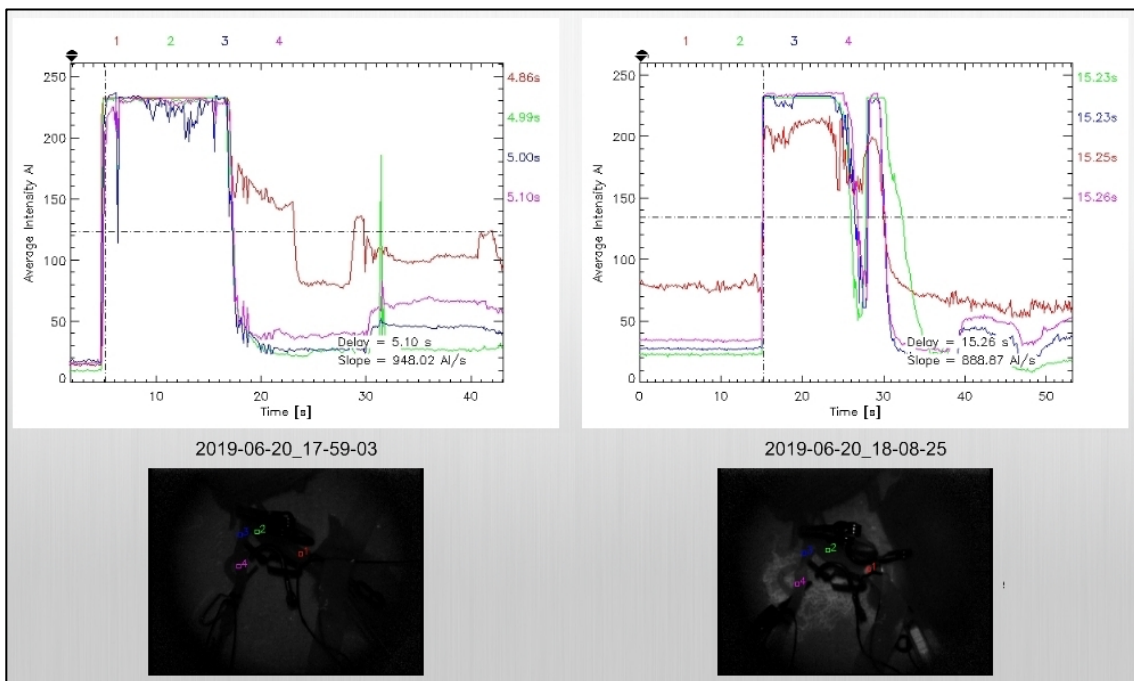


Figura 232.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4).

**F1 vs F3**

Cuando se comparan los resultados del pulso F1 con los del pulso F3 en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) tanto al emplear escalas independientes (Figura 233) como una única escala común (Figura 234), para ambos pulsos se obtienen valores máximos de fluorescencia y por tanto colorimétricamente indistinguibles, al igual que sucedía con el pulso F2.

Y de forma análoga a la comparación con el pulso previo, cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad la diferencia cualitativa es destacada. Empleando escalas independientes en F1 se colorea en azul (5,7s) vs F3 en verde (15,7 s) (Figura 235). Con una escala común también se observa un cambio cualitativo marcado, pasando de un amarillo (F1, 3,6 s) a verde (F3, 15,7 s) (Figura 236).

En cuanto a la morfología del diagrama, es muy similar para ambos pulsos, cambiando el tiempo de aparición de fluorescencia y la forma del descenso de la misma en el punto proximal. La diferencia en el tiempo de demora de 0,13 s en el primer pulso frente a los 0,08 s del segundo (Figura 237).



Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

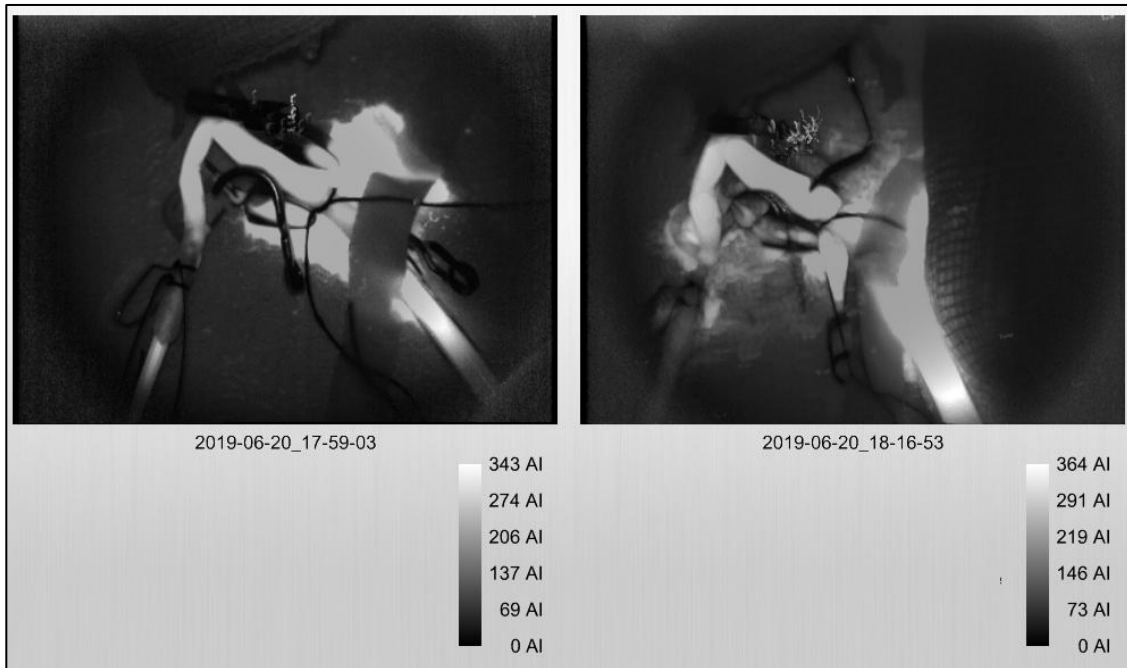


Figura 233.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

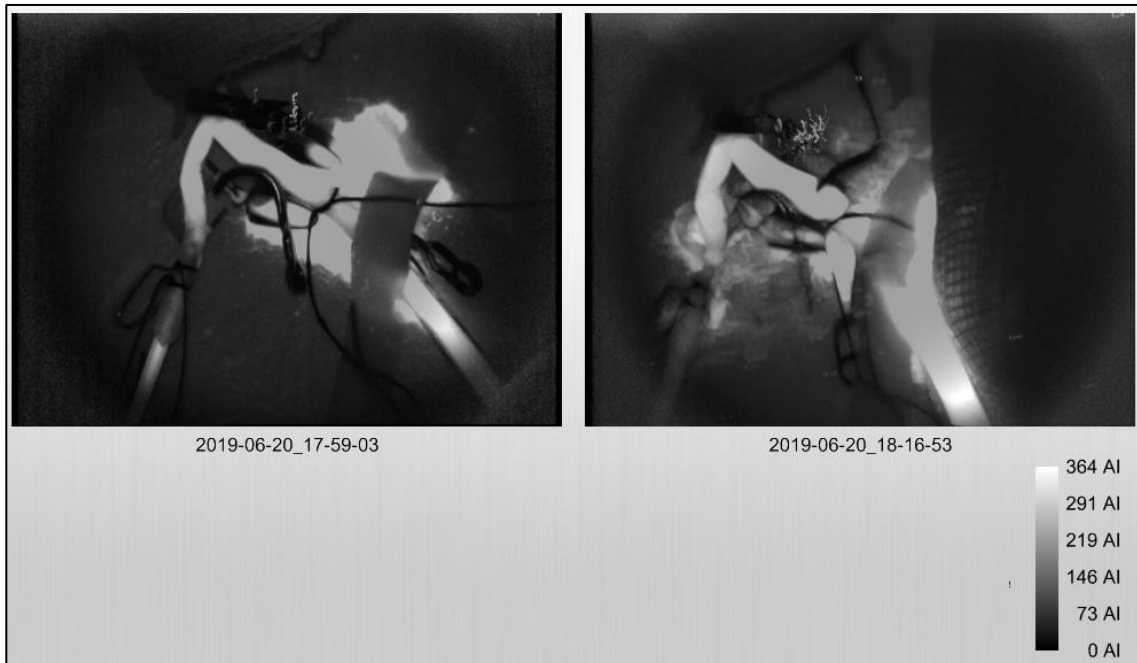


Figura 234.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando una escala única.



Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

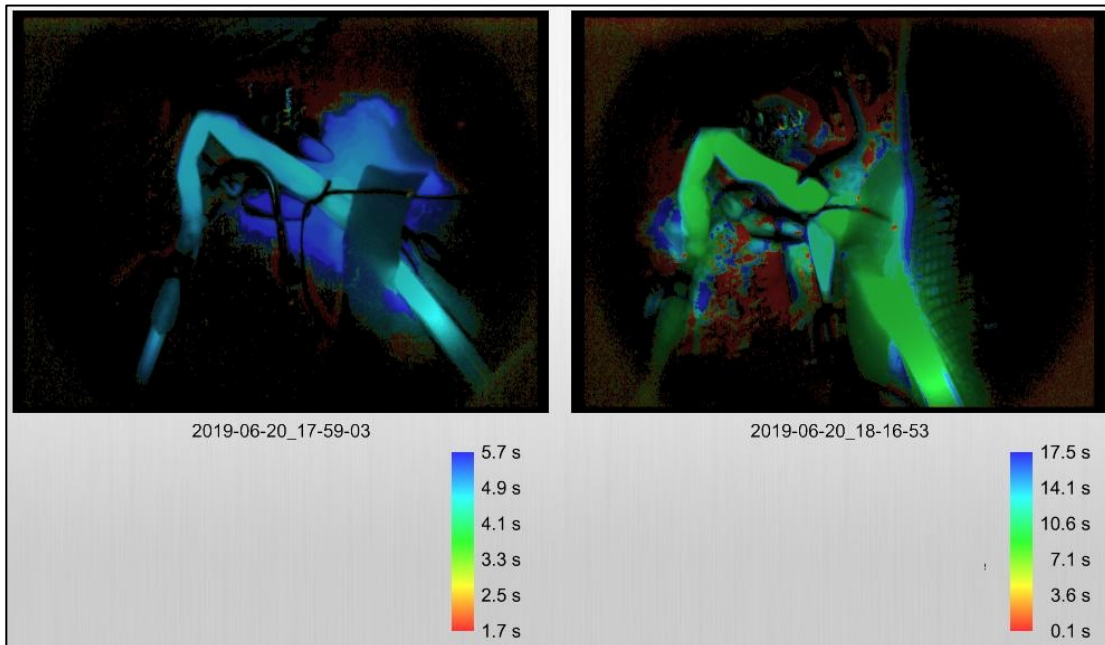


Figura 235.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

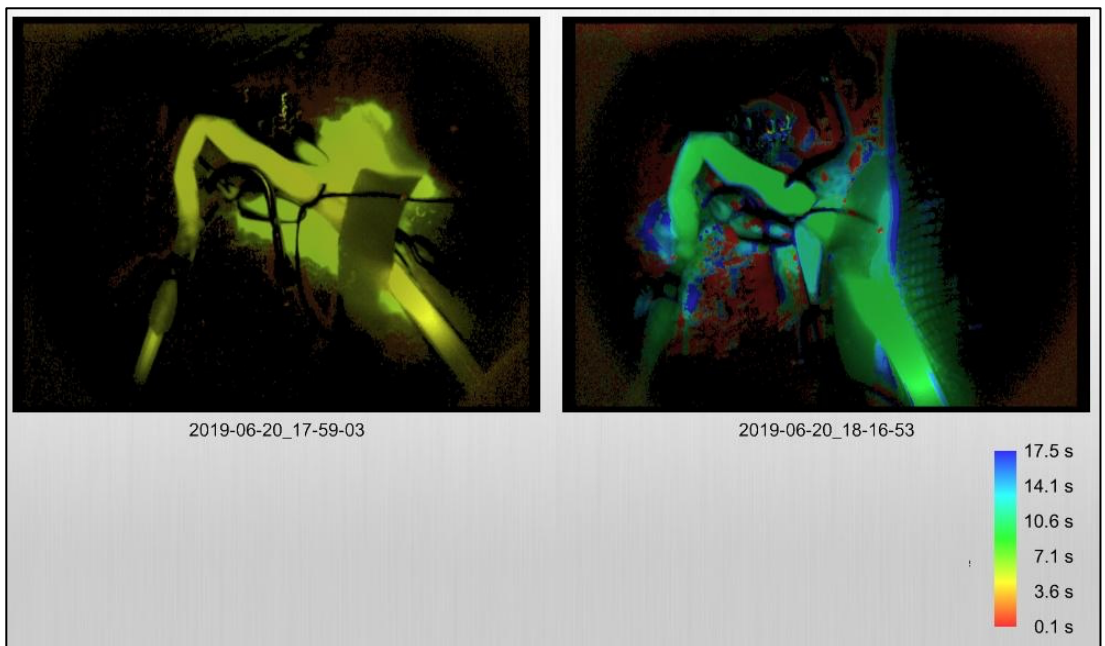


Figura 236.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4) empleando una escala única.

Diagramas:

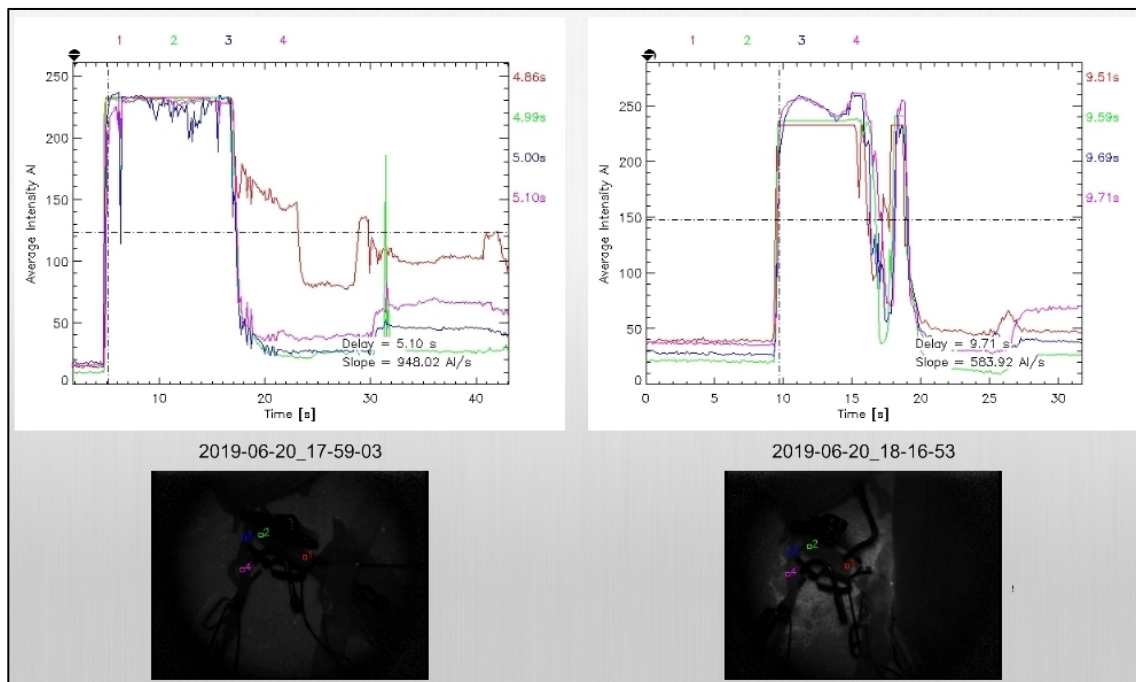


Figura 237.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral izquierda (Caso 4).

#### 5.4.2.2 Arteria vertebral derecha

##### PULSO 1 (F1)

Diámetro externo: 2,702 mm

En el primer pulso a través de la arteria vertebral derecha se detecta fluorescencia.

En cuanto al análisis de la intensidad de esta fluorescencia se registran valores máximos en el segmento estudiado (color blanco, 343 AI) (Figura 238).

Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un intenso color azul, cuya traducción cuantitativa aproximada es de 4,9 s, uniformemente en todo el vaso (Figura 239).

El diagrama igualmente muestra una morfología similar a la de la mayor parte de pulsos, con una pendiente ascendente pronunciada y descenso progresivo, con un pico de

intensidad mantenido para todos los puntos de interés igual. Los tiempos de demora de la fluorescencia sobre la arteria vertebral derecha en este caso son de 5,00 s para el punto proximal a donde se establecerá posteriormente la estenosis y 5,10 s para el distal, esto es 0,13 s de diferencia entre ambos (Figura 240).

Mapa de intensidad:



Figura 238.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Mapa de retardo:

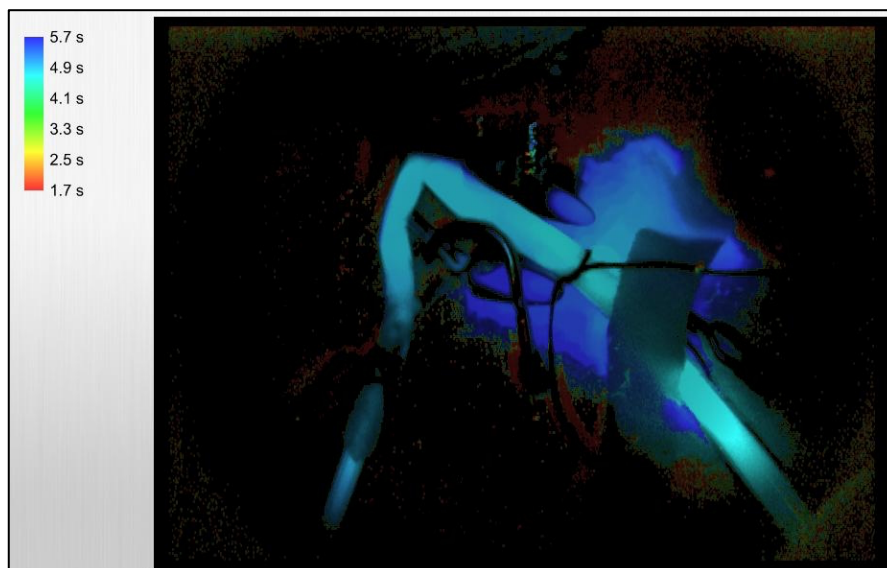


Figura 239.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Diagrama:

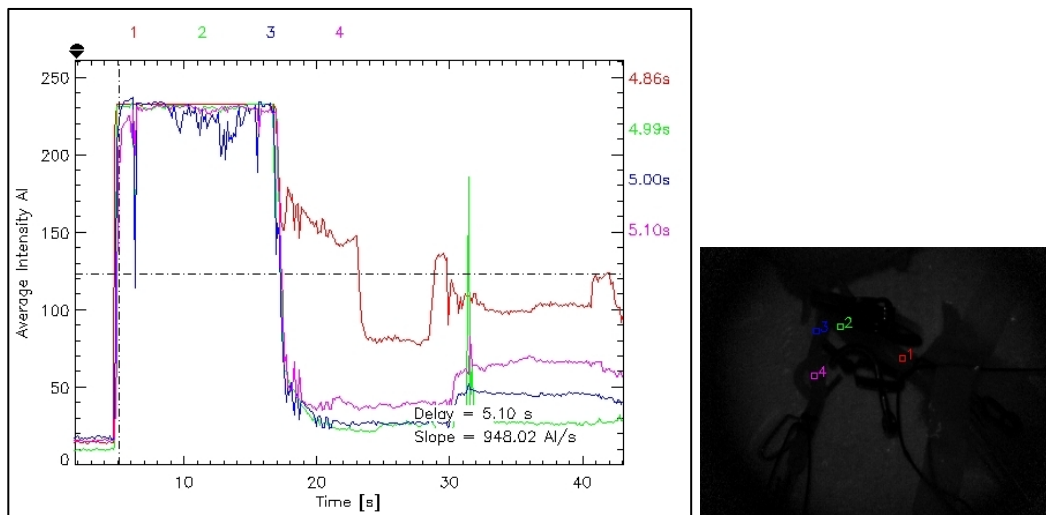


Figura 240.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el primer pulso (F1) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el 100% de su diámetro externo. Los ROIs rojo y verde se refieren a la arteria vertebral izquierda. El ROI azul (3) representa el punto de interés antes de la porción de la AV derecha que se someterá a estenosis en los siguientes pulsos y el rosa (4) el punto distal a dicha área.

Tras el primer pulso no se objetiva fluorescencia residual.

## PULSO 2 (F2)

Diámetro externo (50%): 1,351 mm



Figura 241.- Imagen del polígono correspondiente al caso 4, estenosingo la luz de la arteria vertebral derecha con un micrómetro hasta la mitad del diámetro externo previo.

En el segundo pulso a través de la arteria vertebral derecha se detecta fluorescencia.

En cuanto al análisis de la intensidad de esta fluorescencia se observa de un blanco menos intenso que en el pulso previo registrando valores entre 387-483 AI (Figura 242).

Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un intenso color verde, uniforme a lo largo de todo el vaso tanto antes como después de la estenosis, cuya traducción cuantitativa aproximada es de 9,4 s (Figura 243).

El diagrama igualmente muestra una morfología similar a la de la mayor parte de pulsos, con una pendiente ascendente pronunciada y descenso progresivo. Los tiempos de demora de la fluorescencia sobre la arteria vertebral derecha son de 9,53 s para el punto proximal a la estenosis y 9,55 s para el distal, esto es 0,02 s de diferencia entre ambos (Figura 244).

Mapa de intensidad:

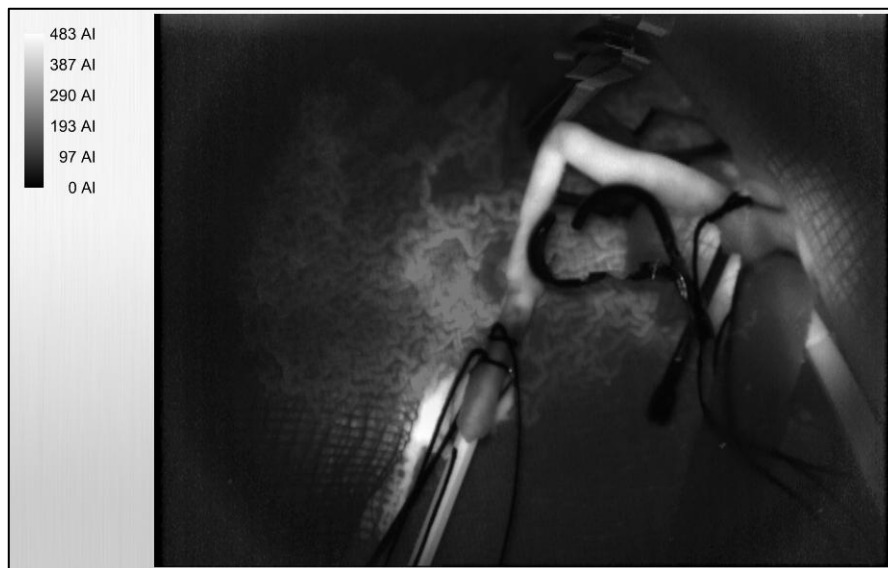


Figura 242.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.



Mapa de retardo:

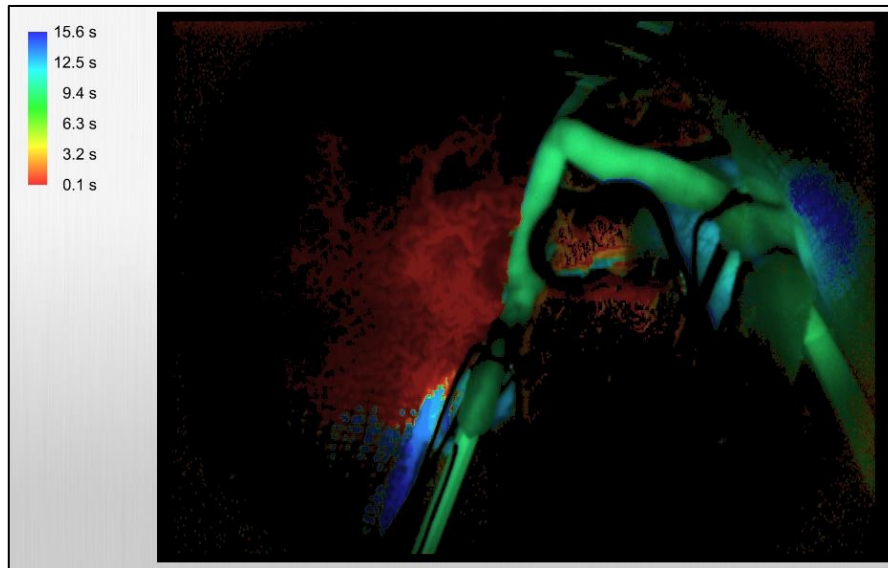


Figura 243.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Diagrama:

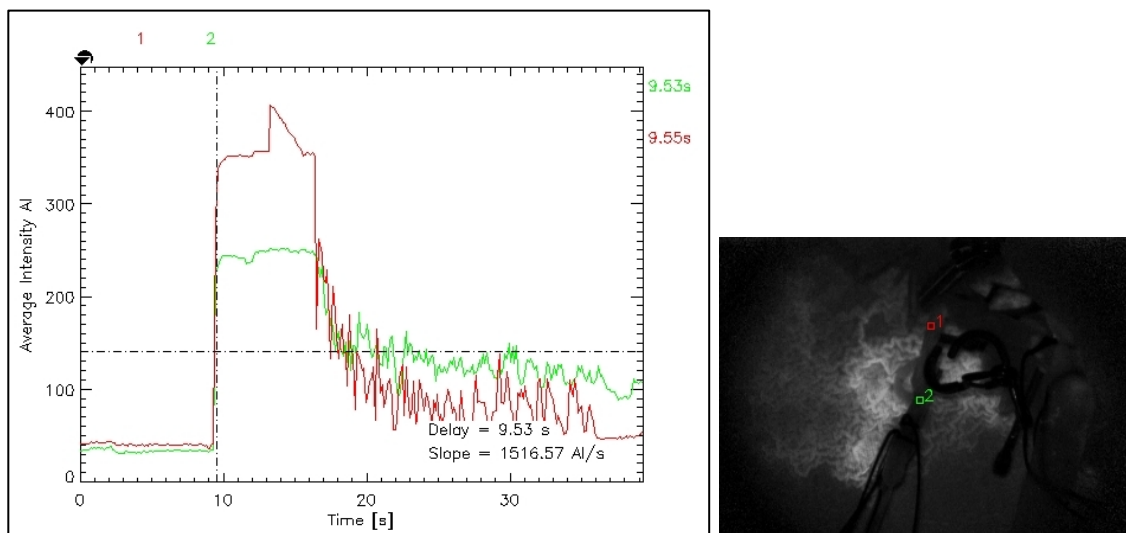


Figura 244.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el segundo pulso (F2) sobre la arteria vertebral derecha con la mitad del diámetro externo inicial. El ROI rojo (1) representa el punto de interés antes de la zona de estenosis. El verde (2) es el punto inmediatamente distal a dicho estrechamiento del lumen del vaso. Estos puntos equivalen a los puntos azul (3) y rosa (4) respectivamente, marcados en los pulsos previos.

Tras el segundo pulso no se observa fluorescencia residual.

**PULSO 3 (F3)**

Estenosis de un punto en la arteria con clip quirúrgico.

En el tercer pulso a través sobre la arteria vertebral derecha se detecta fluorescencia.

En cuanto al análisis de la intensidad de esta fluorescencia se observa una coloración que corresponde al máximo de intensidad (blanco, 464 AI) de modo uniforme a lo largo de todo el vaso y no sólo en la estenosis (Figura 245).

Su interpretación en relación con la velocidad en el mapa de retardo se expresa con un intenso color anaranjado, uniforme, cuya traducción cuantitativa aproximada es de 6,3 s (Figura 246).

El diagrama igualmente muestra una morfología similar a la de la mayor parte de pulsos, con una pendiente ascendente pronunciada (flujo rápido) y descenso progresivo. Los tiempos de demora de la fluorescencia sobre la arteria vertebral derecha son de 5,63 s para el punto proximal a la estenosis y 5,64 s para el distal, esto es 0,01 s de diferencia entre ambos (Figura 247).

Mapa de intensidad:

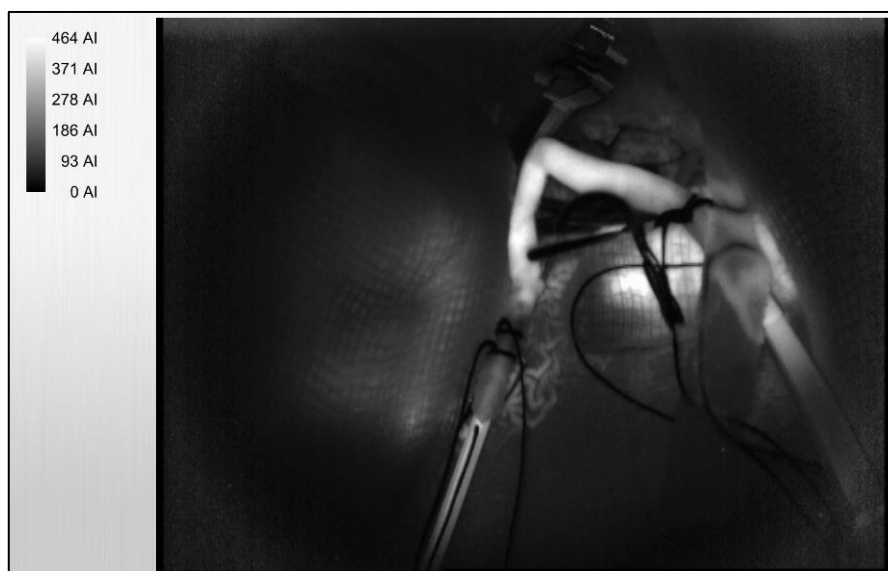


Figura 245.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Mapa de retardo:

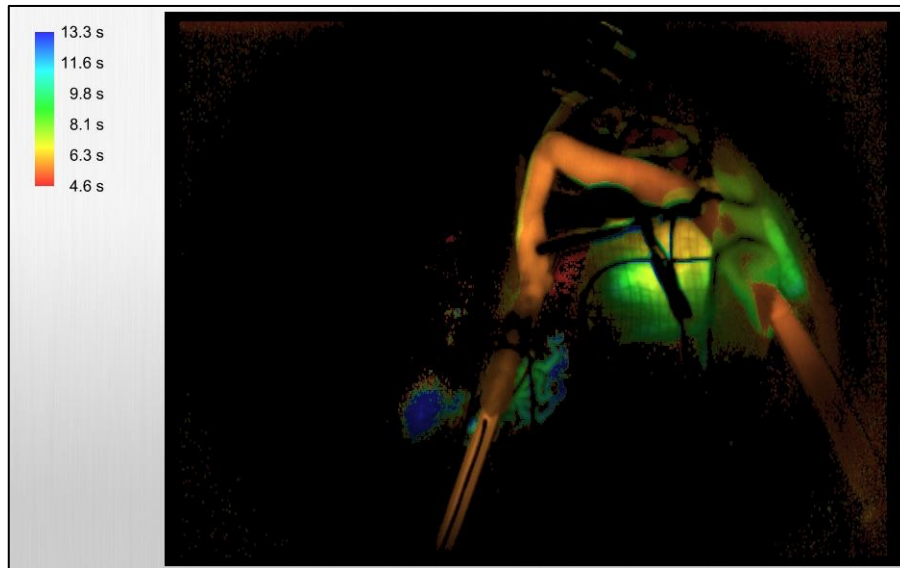


Figura 246.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Diagrama:

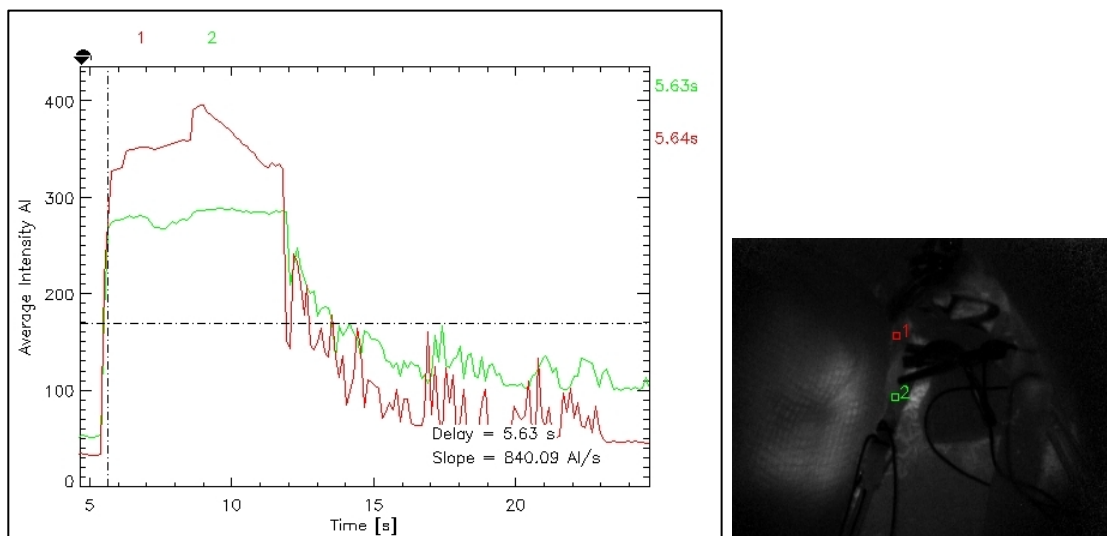


Figura 247.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el tercer pulso (F3) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) estenosada en un único punto. El ROI rojo (1) representa el punto de interés proximal a la zona de estenosis. El verde (2) es el punto inmediatamente distal a dicho estrechamiento del lumen vascular. Estos puntos equivalen a los puntos azul (3) y rosa (4) respectivamente, marcados en los pulsos previos.

Tras el tercer pulso no se registra fluorescencia residual.



## COMPARATIVA ENTRE PULSOS

### F1 vs F2

Al comparar los resultados del primer pulso con los del segundo sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) tanto al emplear escalas independientes (Figura 248) como una única escala común (Figura 249), se observa una discreta diferencia en la intensidad del color blanco exhibido, siendo más intenso en F1 que en F2, si bien los valores cuantitativos aproximados no son correlativos, esto es F1: 343 AI vs F2: 387-483 AI.

Esta diferencia cualitativa se hace más marcada cuando estos mismos pulsos se comparan con el mapa de retardo de intensidad. Al compararlos con escalas diferentes en F1 se colorea de azul (4,9) vs F2 en verde (9,4 s) (Figura 250). Con una escala común también se observa un cambio cualitativo, pasando de un amarillo (F1, 6,3s) a verde (F2, 9,4 s) (Figura 251).

En cuanto a la morfología del diagrama, es muy similar para ambos pulsos, con una diferencia en el tiempo de demora de 0,13 s en el primer pulso frente a los 0,02 s del segundo (Figura 252).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

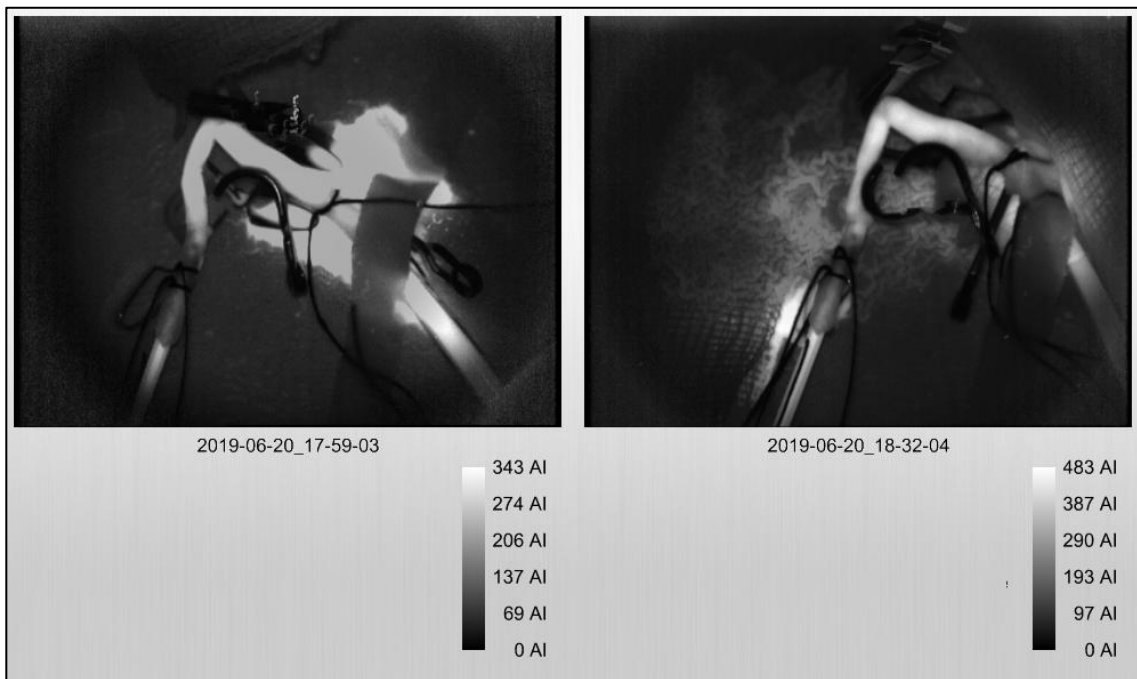


Figura 248.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

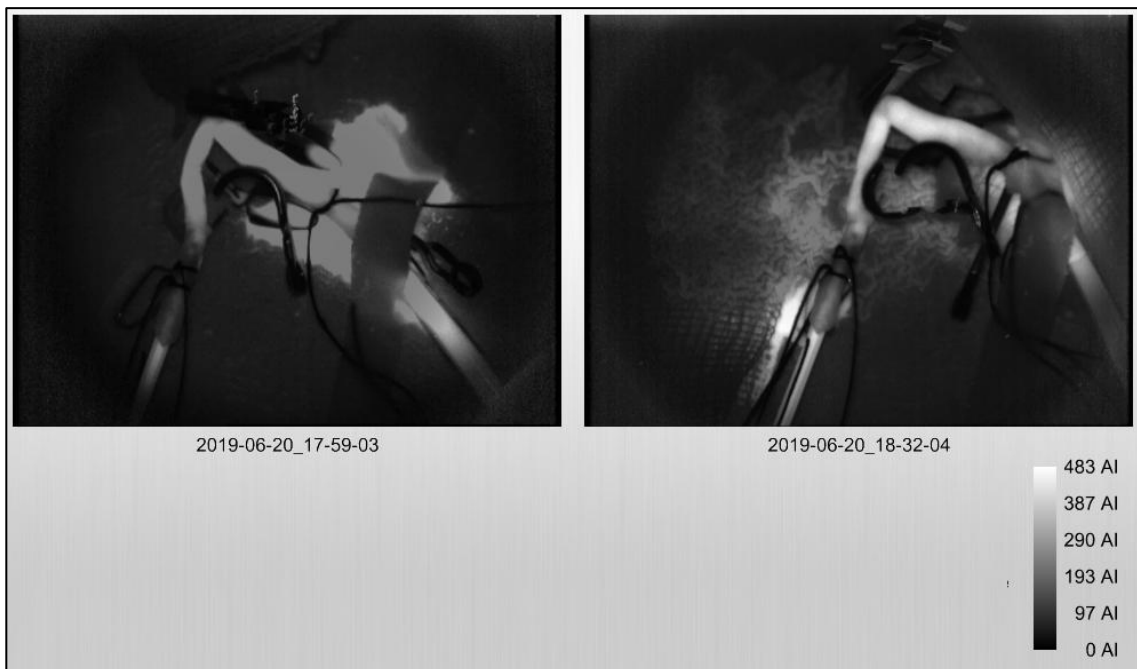


Figura 249.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando con una escala común.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

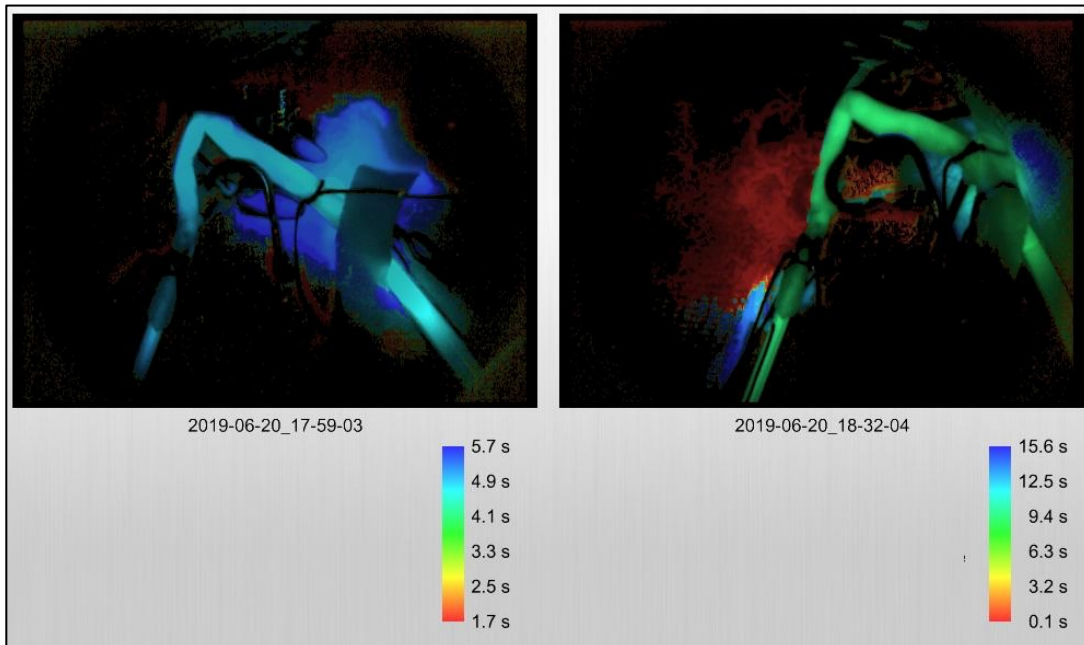


Figura 250.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando escalas independientes.

Comparación con escala única:

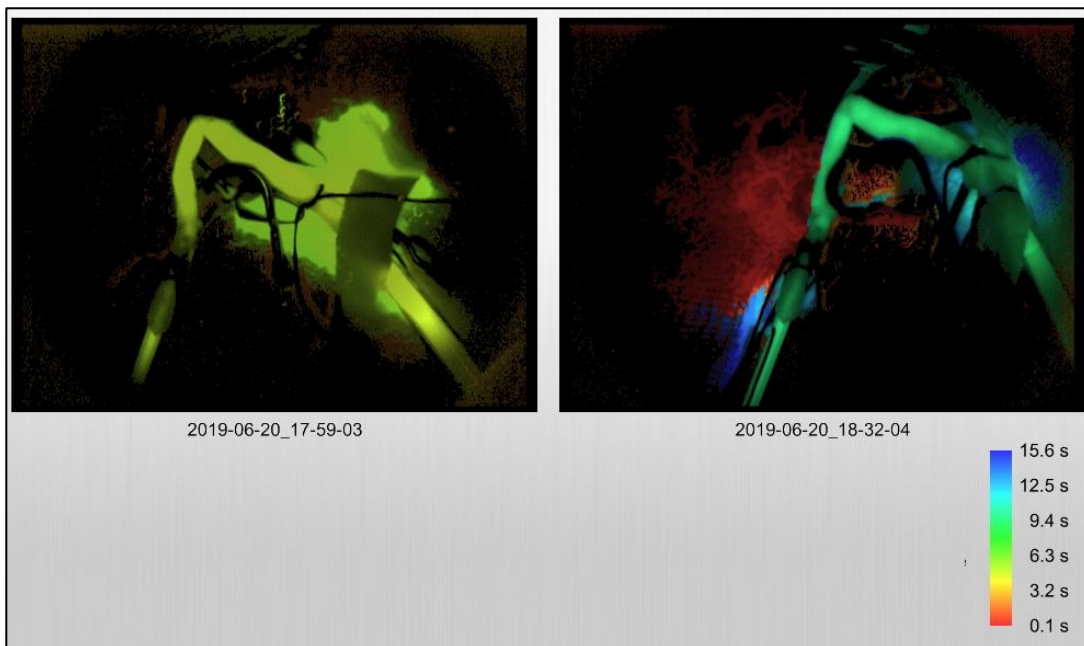


Figura 251.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando una única escalas.

Diagramas:

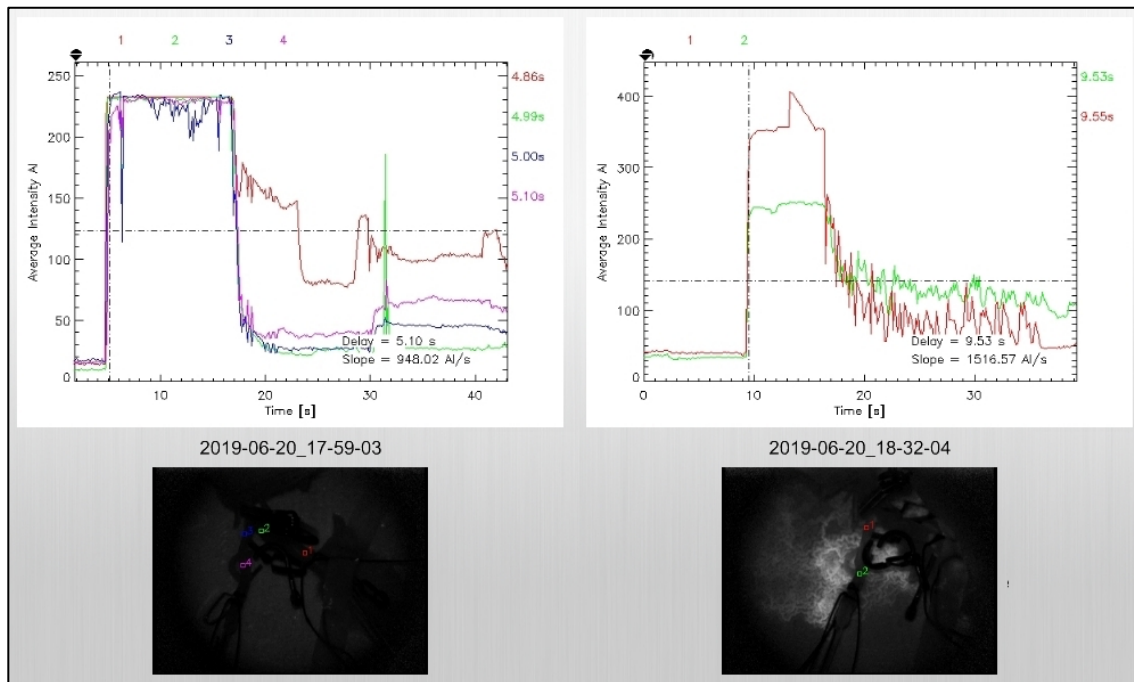


Figura 252.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4).

### F1 vs F3

Comparando los resultados del primer pulso con los del tercero sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) tanto al emplear escalas independientes (Figura 253) como una única escala común (Figura 254), se observa una discreta diferencia en la intensidad del color blanco mostrado, siendo más intenso en F1 que en F3, si bien los valores cuantitativos aproximados no son correlativos, esto es F1: 343 AI vs F4: 464 AI.

Esta diferencia cualitativa se mantiene cuando se analiza el mapa de retardo de intensidad. Al compararlos con escalas diferentes en F1 se colorea de azul (4,9) vs F3 en naranja (6,3 s) (Figura 254). Con una escala común también se observa un cambio cualitativo, aunque más tenue, pasando de un amarillo (F1, 4,0) a verde-amarillo (F3, 6,4 s) (Figura 255).

En cuanto a la morfología del diagrama, es igualmente muy similar para ambos pulsos, con una diferencia en el tiempo de demora de 0,13 s en el primer pulso frente a los 0,01 s del tercero (Figura 256).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

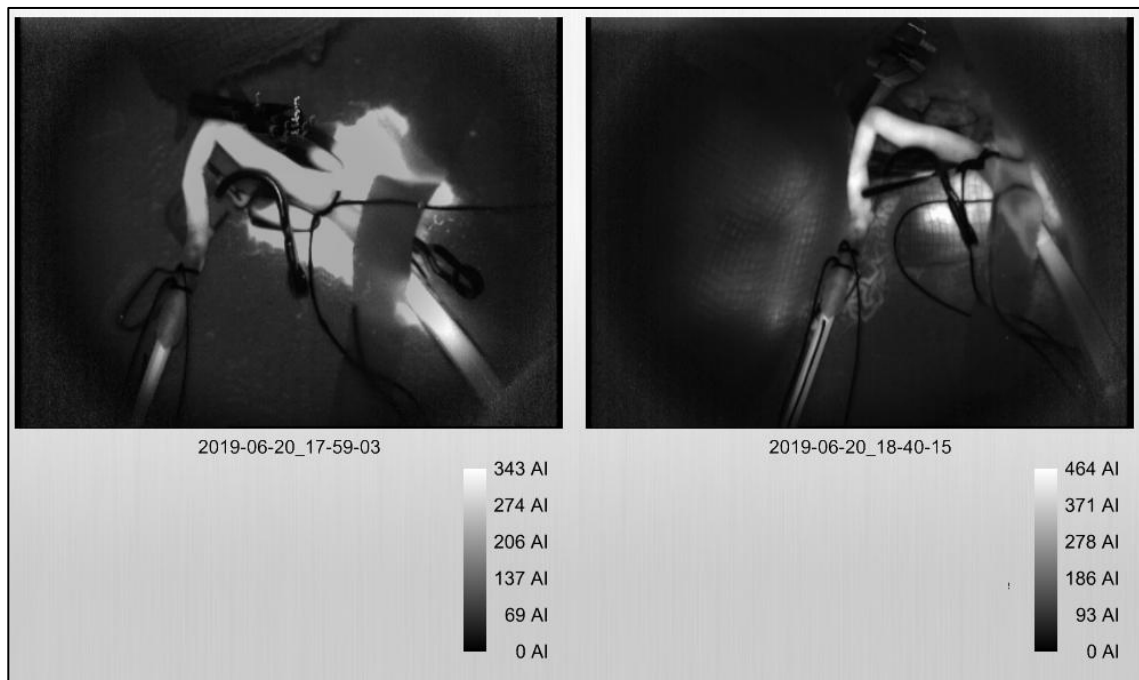


Figura 253.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

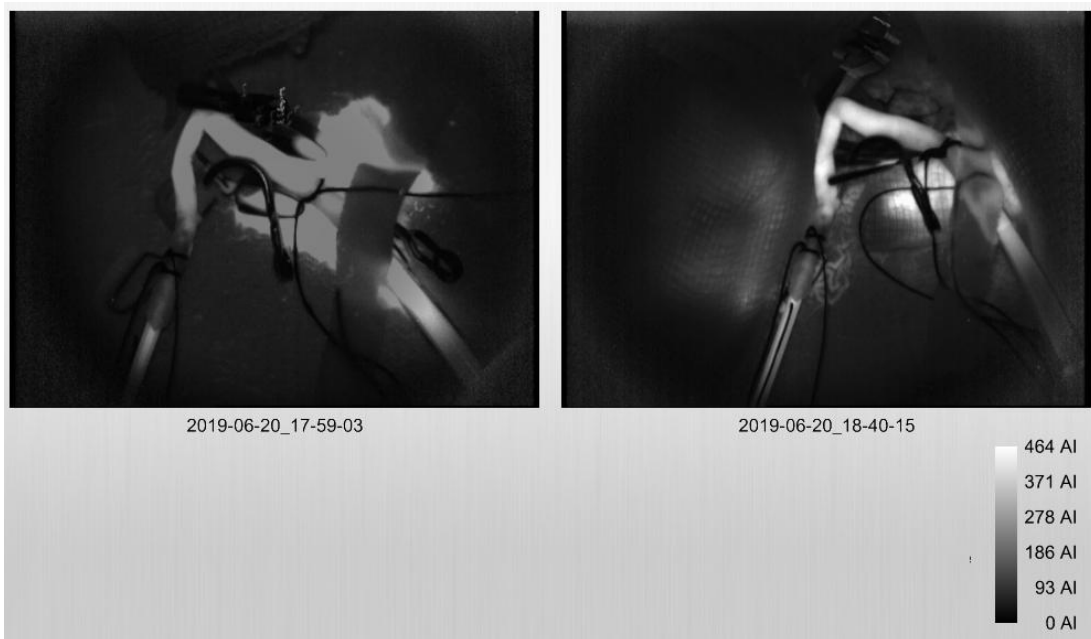


Figura 254.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando una escala colorimétrica común.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

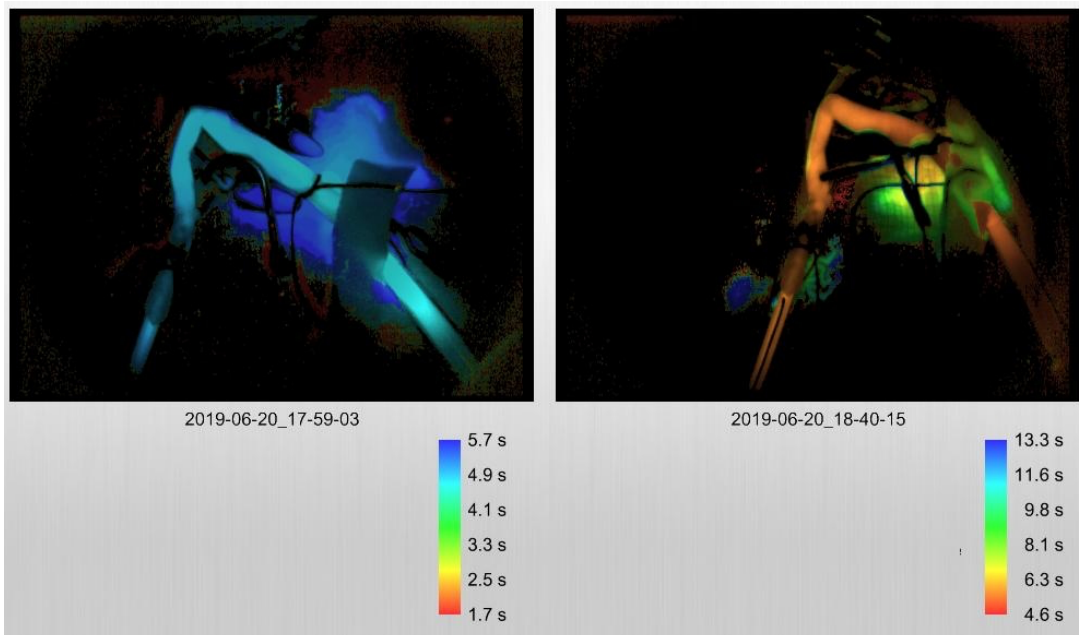


Figura 255.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando escalas independientes.

Comparación con escala única:

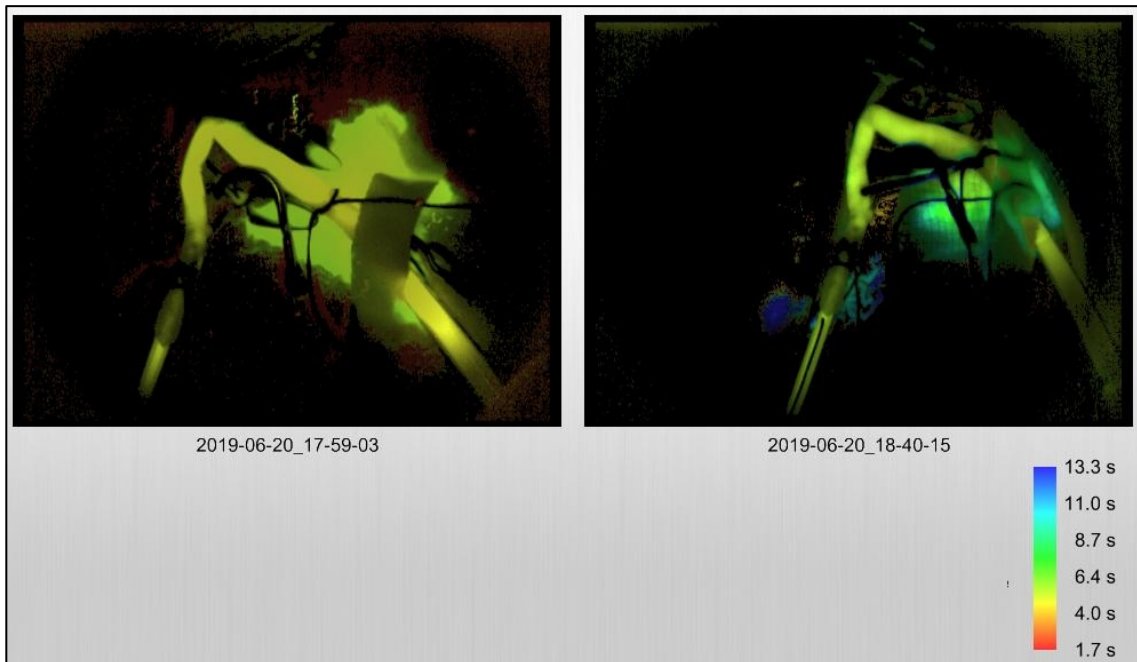


Figura 256.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4) empleando una escala común.

Diagramas:

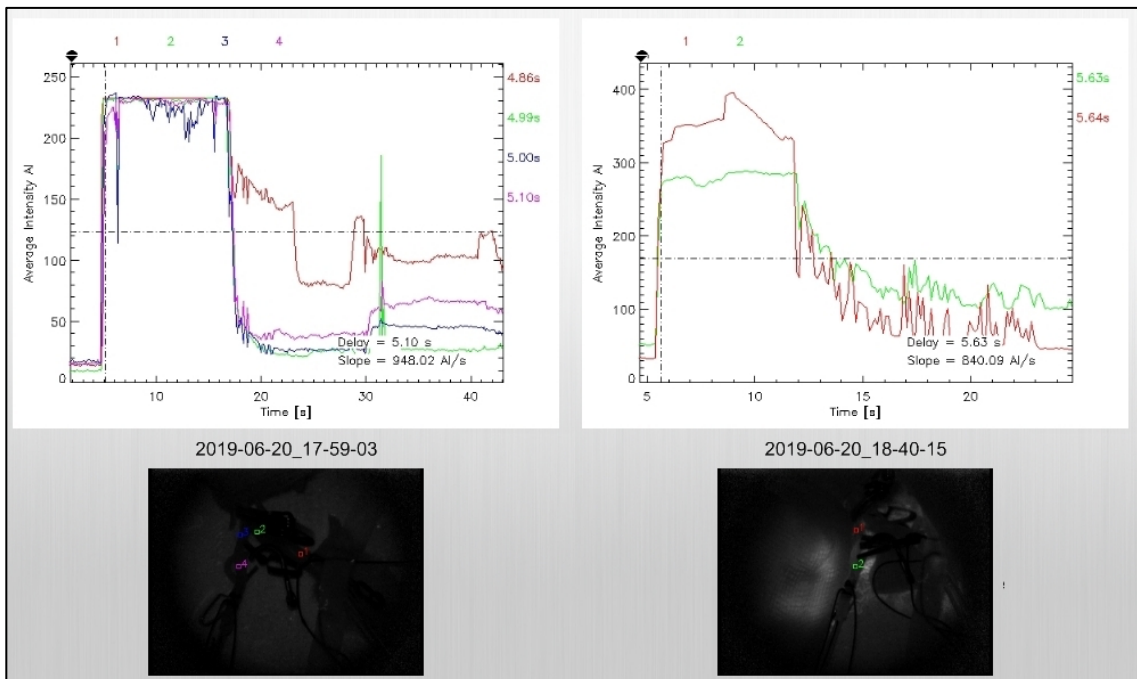


Figura 257.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria vertebral derecha (Caso 4).

### 5.4.2.3 Arteria cerebral media derecha

#### PULSO 1 (F1)

Diámetro externo: 2,827 mm

En el primer pulso a través de la arteria cerebral media derecha se detecta fluorescencia.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, se observan valores cercanos al máximo de intensidad (que se fija a la cánula de plástico) arrojando un color blanco-grisáceo, que en AI equivale a 540-675 (Figura 258).

Valorando la relación con la velocidad en el mapa de retardo, se expresa con un intenso color rojo de forma homogénea en todo el sistema, cuya traducción cuantitativa aproximada es de 7,5 s (Figura 259).

El diagrama muestra una pendiente ascendente tan pronunciada que es prácticamente vertical en los primeros segundos, pero con tiempos de demora para alcanzar la mitad de la fluorescencia algo más prolongados: 7,70 s para el punto proximal a la estenosis, 7,76s para el segundo punto y 7,72s para un tercer punto, más distal (Figura 260).



Mapa de intensidad:

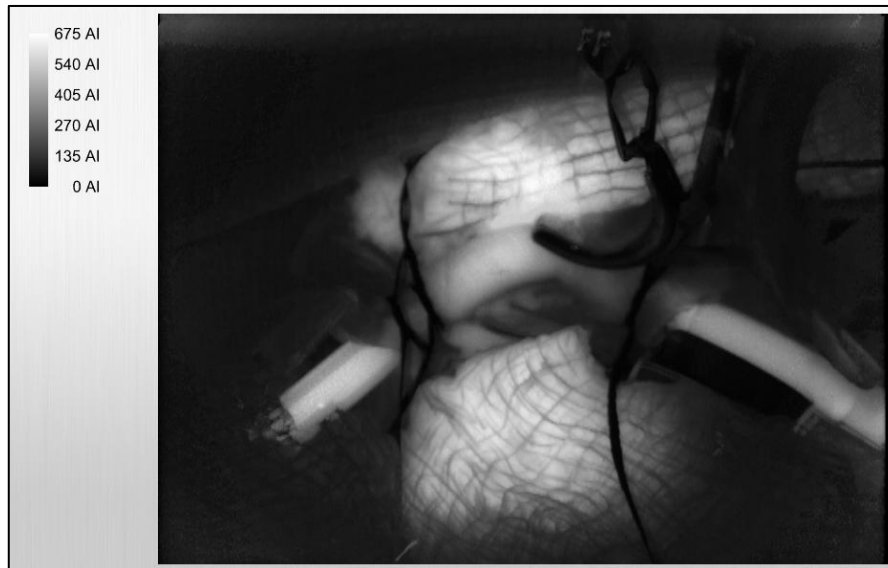


Figura 258.- Mapa de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Mapa de retardo:

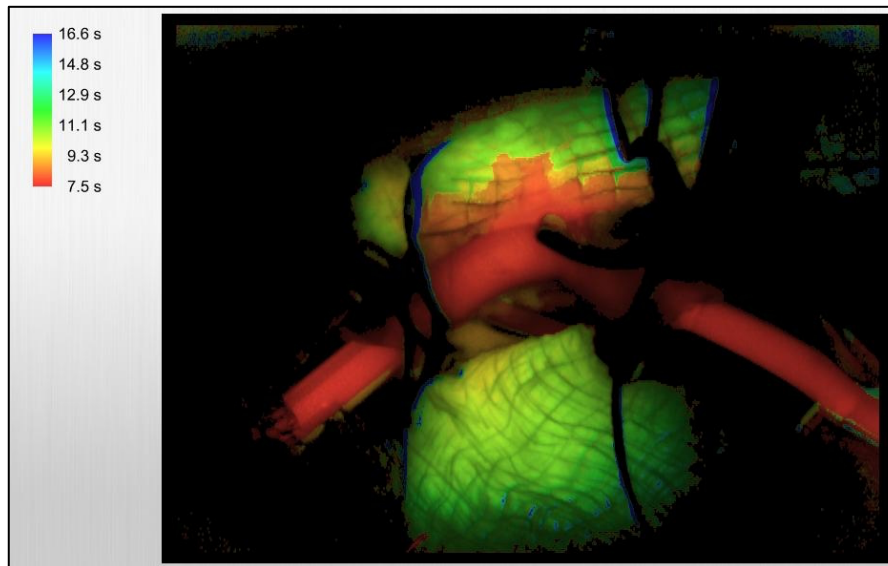


Figura 259.- Mapa de retardo de intensidad de señal del primer pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo basal.

Diagrama:

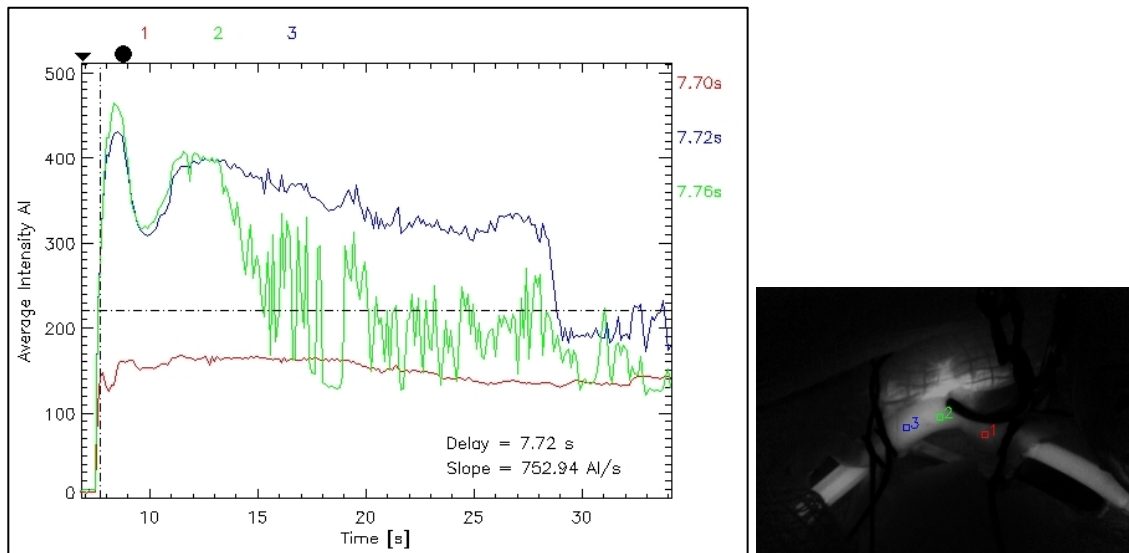


Figura 260.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el primer pulso (F1) a través de la arteria cerebral media derecha del caso 4, manteniendo el 100% del diámetro externo indemne. Los ROIs se sitúan de forma análoga a su localización en los experimentos previos: un ROI se sitúa inmediatamente proximal al segmento que se estenosará en los siguientes pulsos (rojo, 1) y en este caso, se emplean 2 ROIs adicionales para valorar la fluorescencia distal a la zona estenosada: verde (2) es el punto inmediatamente distal a dicho estrechamiento del lumen del vaso, seguido de un segundo punto distal azul (3).

Tras este primer pulso no se objetiva fluorescencia residual en el segmento estudiado (queda fluorescencia fijada a la cánula de plástico con la que se cateteriza el vaso)

## PULSO 2 (F2)

Diámetro externo (50%): 1,414 mm.

En el segundo pulso a través de la arteria cerebral media derecha se detecta fluorescencia. Se produce una extravasación del contraste que no impide la interpretación de la fluorescencia. Además, el contraste también fuga intravascularmente a las arterias cerebrales anteriores, a pesar de que se encontraban ocluidas por un clip quirúrgico.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, se observan valores máximos de intensidad (blanco, 364 AI) (Figura 261).

Valorando la relación con la velocidad en el mapa de retardo, se expresa con un color naranja homogéneo en todo el sistema, cuya traducción cuantitativa aproximada es de 8,8 s (Figura 262).

El diagrama continúa mostrando una pendiente ascendente muy pronunciada, de inicio 10 segundos más tarde que en la previa, pero con un pico mantenido de fluorescencia y descenso progresivo. Los tiempos de demora registrados son de 8,58 s para el punto proximal a la estenosis, 7,18 s para el segundo punto inmediatamente distal a la estenosis y 8,18s para un tercer punto, más distal (Figura 263).

Mapa de intensidad:



Figura 261.- Mapa de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Mapa de retardo:

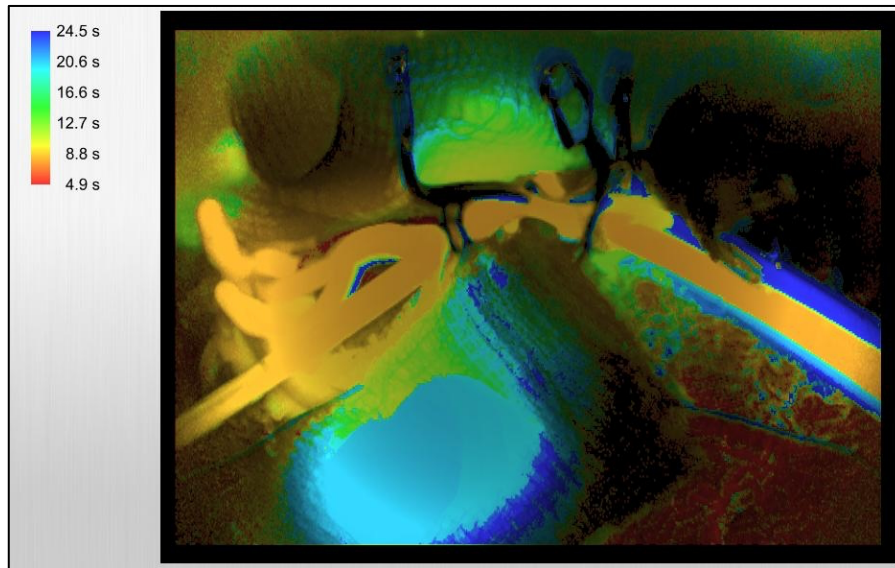


Figura 262.- Mapa de retardo de intensidad de señal del segundo pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo reducido al 50% del valor basal.

Diagrama:

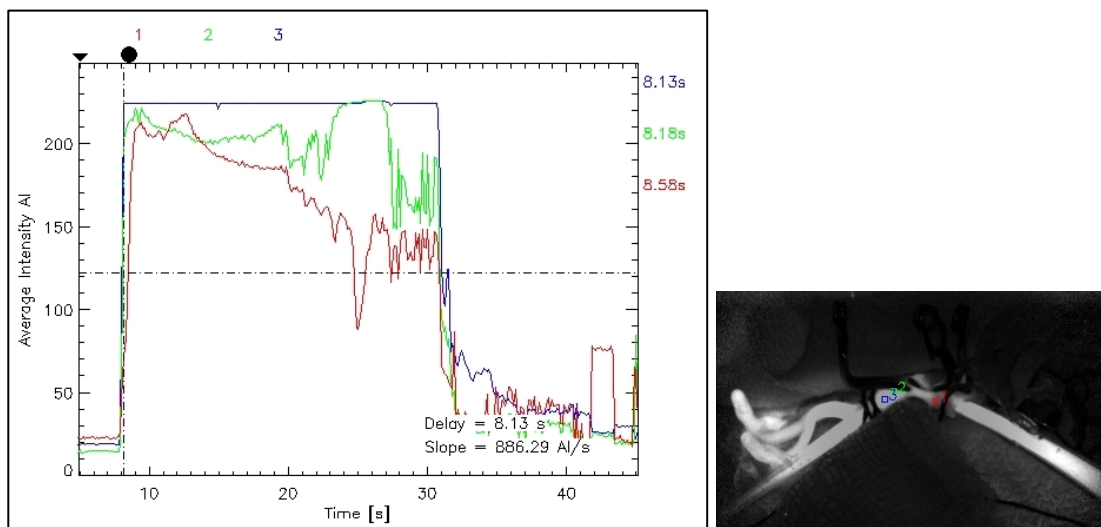


Figura 263.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el segundo pulso (F2) a través de la arteria cerebral media derecha del caso 4, reduciendo al 50% el diámetro externo. Los ROIs se sitúan de forma análoga a la previa: un ROI se sitúa inmediatamente proximal al segmento estenosado (rojo, 1) y los puntos verde (2) y azul (3) se sitúan distalmente.

Tras el segundo pulso no se registra fluorescencia residual.

### PULSO 3 (F3)

Estenosis de un punto en la arteria con clip quirúrgico.

En el tercer pulso a través de la arteria cerebral media derecha se detecta fluorescencia.

En el análisis cualitativo de la intensidad de esta fluorescencia, se observan una coloración algo menos intensa que el valor asignado como máximo que se observa en la pared de las cánulas aferente y eferente del sistema (blanco-gris, 547-683 AI) (Figura 264).

Valorando la relación con la velocidad en el mapa de retardo, se expresa con un color rojo intenso y homogéneo en todo el sistema, antes y después de la estenosis, cuya traducción cuantitativa aproximada es de 1,0 s (Figura 265).

El diagrama mantiene la pendiente ascendente igualmente muy pronunciada, pero la curva de descenso se aplana y alarga. Los tiempos de demora registrados son de 1,96 s para el punto proximal a la estenosis, 1,47 s para el segundo punto inmediatamente distal a la estenosis y 1,45s para un tercer punto, más distal (Figura 266).

Mapa de intensidad:

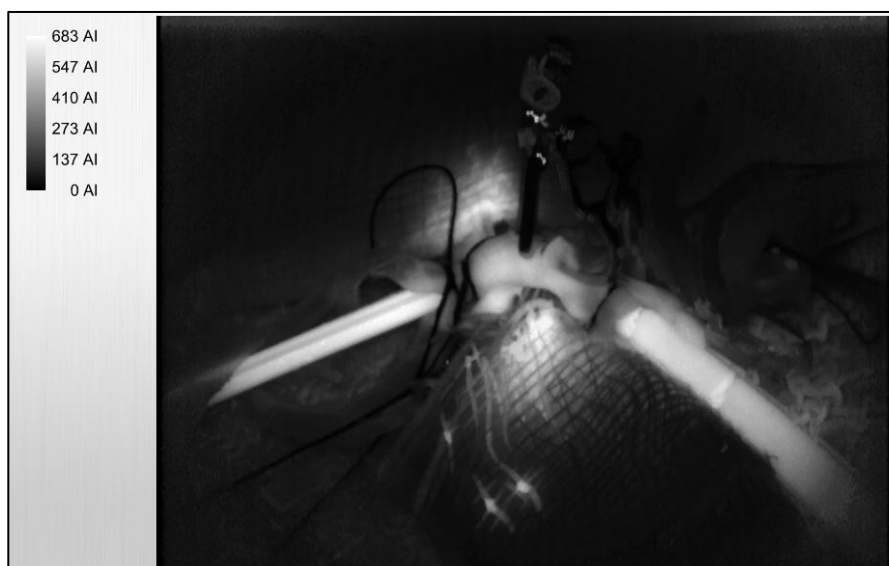


Figura 264.- Mapa de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Mapa de retardo:

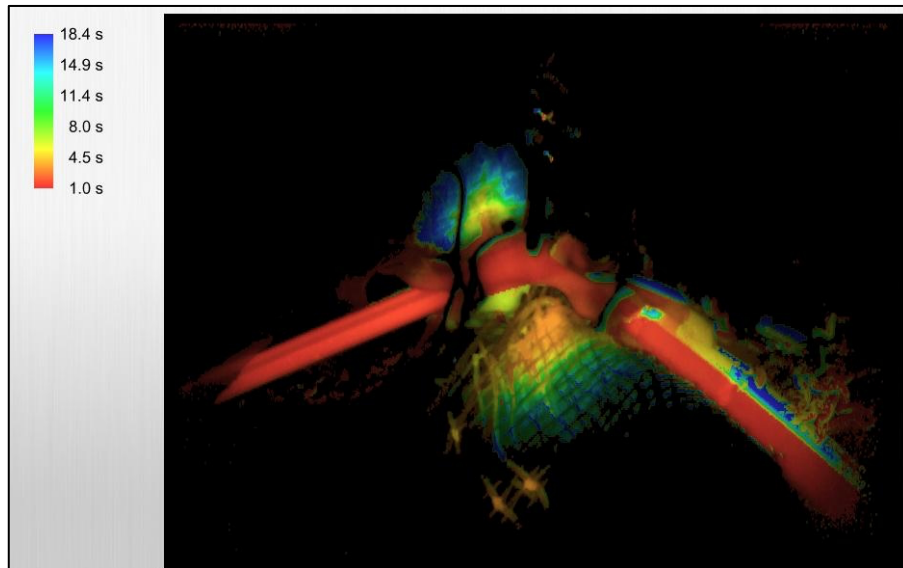


Figura 265.- Mapa de retardo de intensidad de señal del tercer pulso sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) con el diámetro externo comprometido en un único punto.

Diagrama:

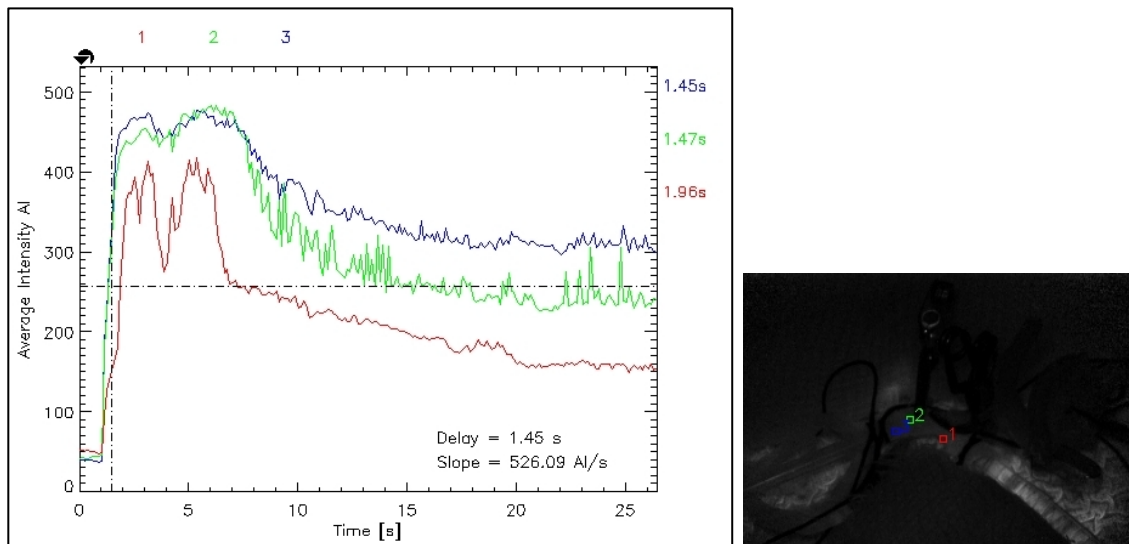


Figura 266.- Diagrama correlacionando intensidad de señal y retardo de la misma al realizar el tercer pulso (F3) a través de la arteria cerebral media derecha del caso 4, reduciendo la luz del vaso en un único punto. Los ROIs se sitúan de forma análoga a la previa: un ROI se sitúa inmediatamente proximal al segmento estenosado (rojo, 1) y los puntos verde (2) y azul (3) se sitúan distalmente.

## COMPARATIVA ENTRE PULSOS

### F1 vs F2

Al comparar los resultados del primer pulso con los del segundo sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) tanto al emplear escalas independientes (Figura 267) como una única escala común (Figura 268), se observa una clara diferencia cualitativa en la intensidad del color blanco exhibido, siendo más intenso en F3 que en F1, si bien los valores cuantitativos aproximados no son correlativos, esto es F1: 540 AI vs F3: 364 AI.

Esta diferencia cualitativa se mantiene cuando se analizan con el mapa de retardo de intensidad. Al compararlos con escalas diferentes en F1 se colorea de rojo intenso y homogéneo (1,0 s) vs F3 en naranja (8,8 s) (Figura 269). Sin embargo, empleando una escala común esta diferencia cualitativa se atenúa, quedando ambos en la escala naranja, siendo el primer pulso más intenso (Figura 270).

En cuanto a la morfología del diagrama, ambos tienen en común las pendientes de ascenso muy pronunciadas, con descensos irregulares y diferentes. La diferencia en el tiempo de demora de 0,06 s en el primer pulso frente a los 0,45 s del tercero (Figura 271).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

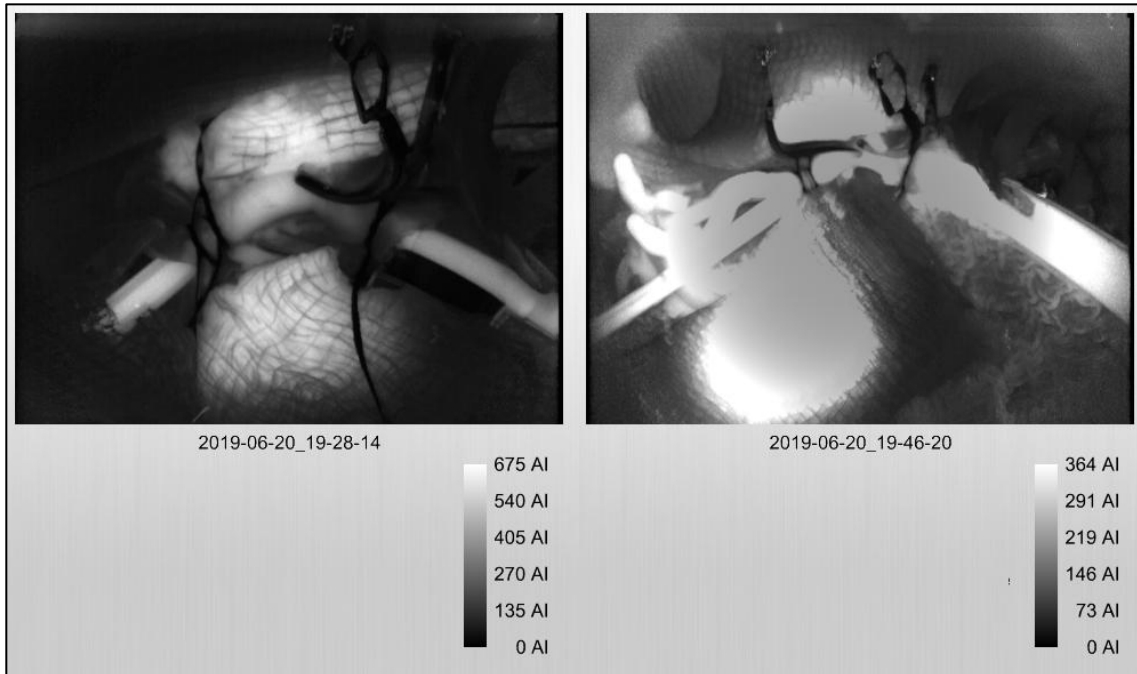


Figura 267.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:



Figura 268.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando una escala común.



Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

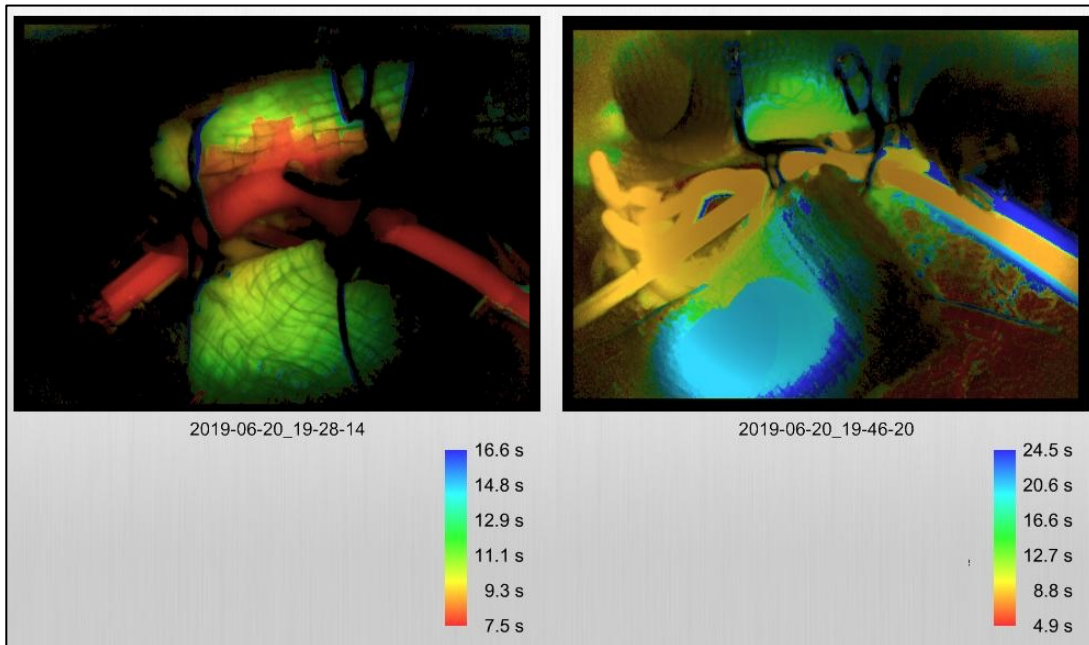


Figura 269.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

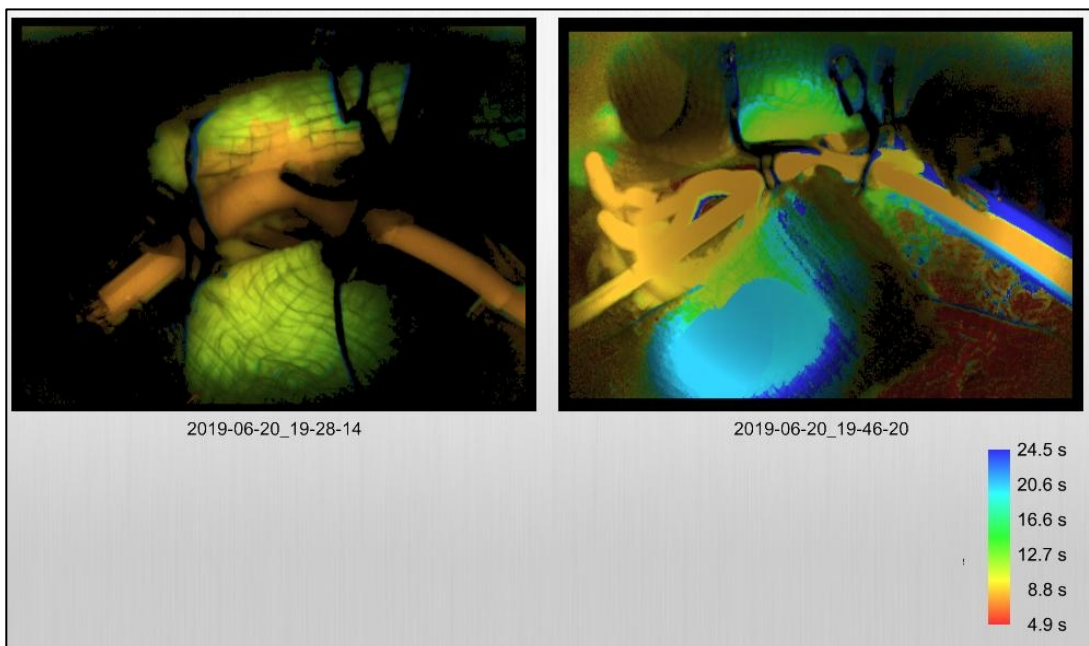


Figura 270.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando una escala común.

Diagramas:

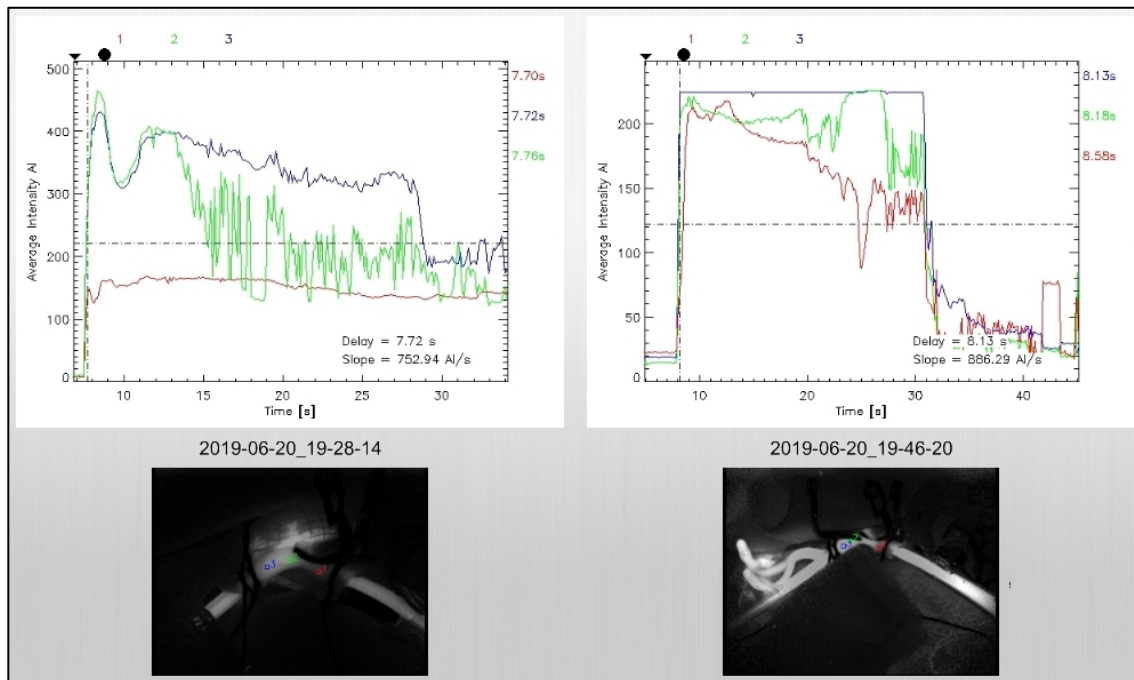


Figura 271.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F2 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4).

### F1 vs F3

Confrontando los resultados del primer pulso con los del tercero sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) en términos de intensidad de señal (mapa de intensidad) tanto al emplear escalas independientes (Figura 272) como una única escala común (Figura 273), se observa una leve diferencia cualitativa en la intensidad del color blanco exhibido, siendo más intenso en F3 que en F1, con valores que también aumentan, esto es F1: 540-675 AI vs F3: 547-683 AI.

Esta diferencia cualitativa desaparece cuando se analizan con el mapa de retardo de intensidad empleando escalas independientes: ambos pulsos colorean la arteria en rojo intenso, imposibles de distinguir cualitativamente (Figura 274). Por el contrario, al

equipararlos con una única escala, es posible visualizar un cambio cualitativo considerable pasando de un color verde homogéneo en F1 (8,0 s) a rojo intenso en F3 (1,0 s) (Figura 275).

En cuanto a la morfología del diagrama, ambos tienen en común las pendientes de ascenso muy pronunciadas, con descensos irregulares y diferentes, menos acusados en el pulso F1. La diferencia en el tiempo de demora de 0,06 s en el primer pulso frente a los 0,51 s del tercero (Figura 276).

Mapa de intensidad:

Comparación con escalas independientes:

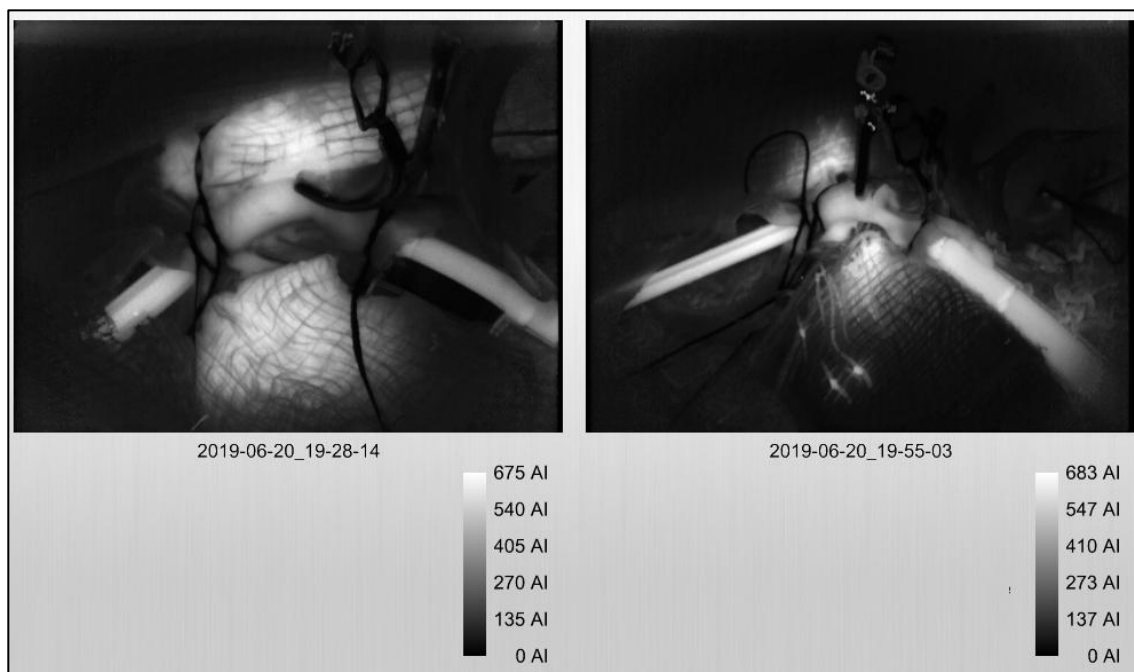


Figura 272.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando escalas colorimétricas independientes.

Comparación con escala única:

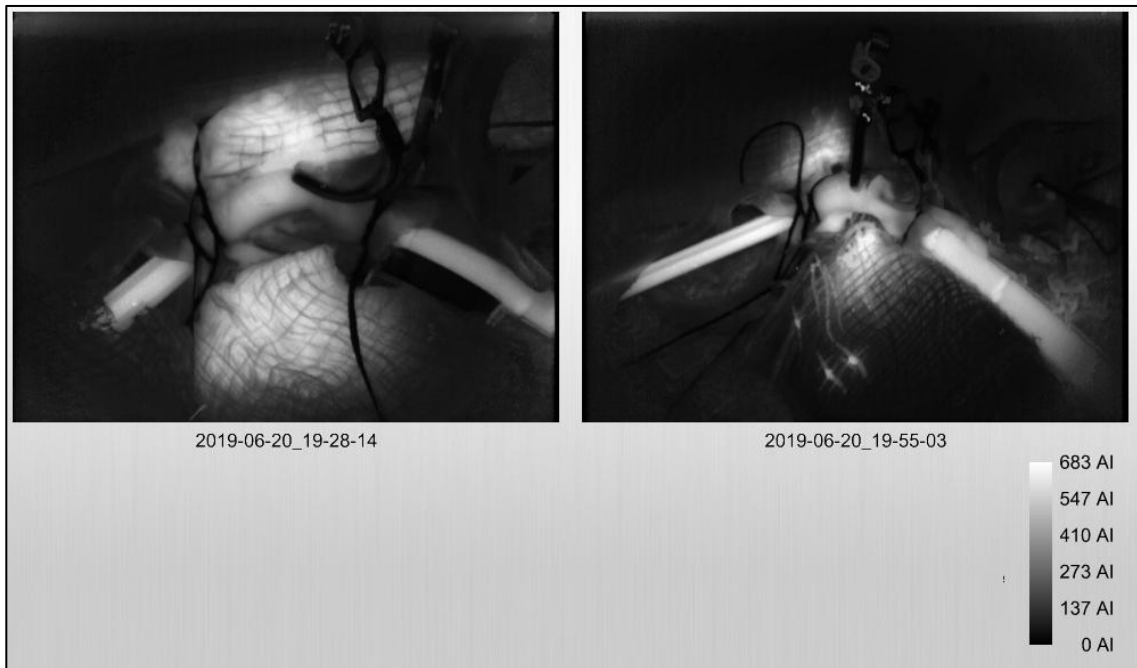


Figura 273.- Comparativa del mapa de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando una escala común.

Mapa de retardo:

Comparación con escalas independientes:

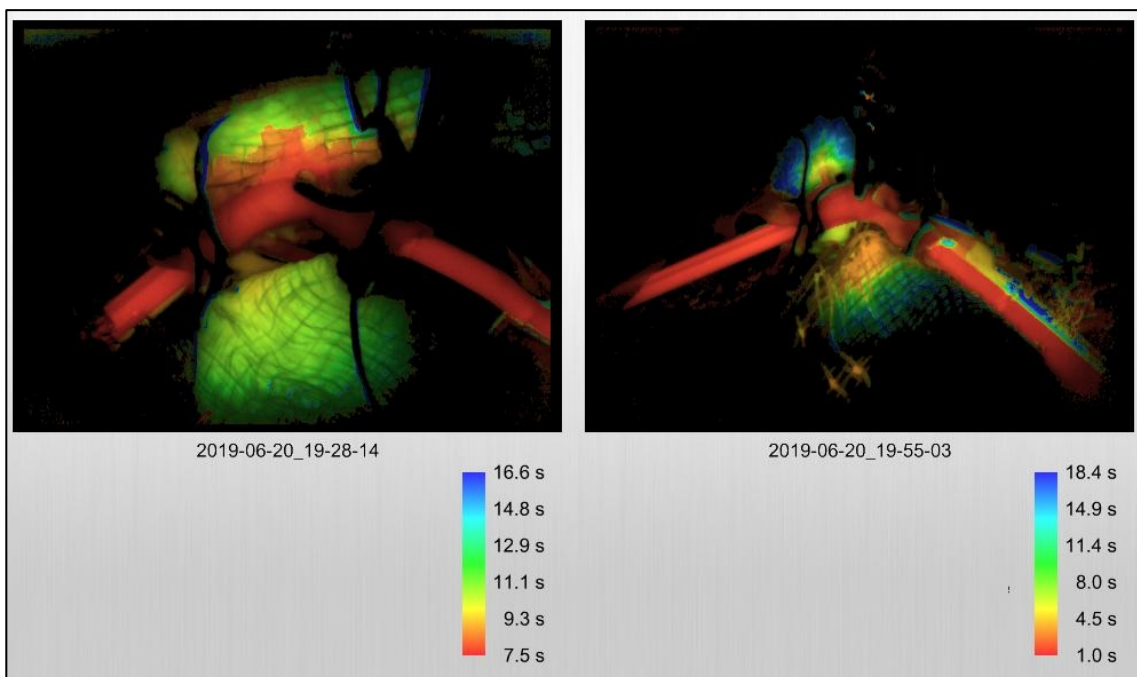


Figura 274.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando escalas cualitativas independientes.

Comparación con escala única:

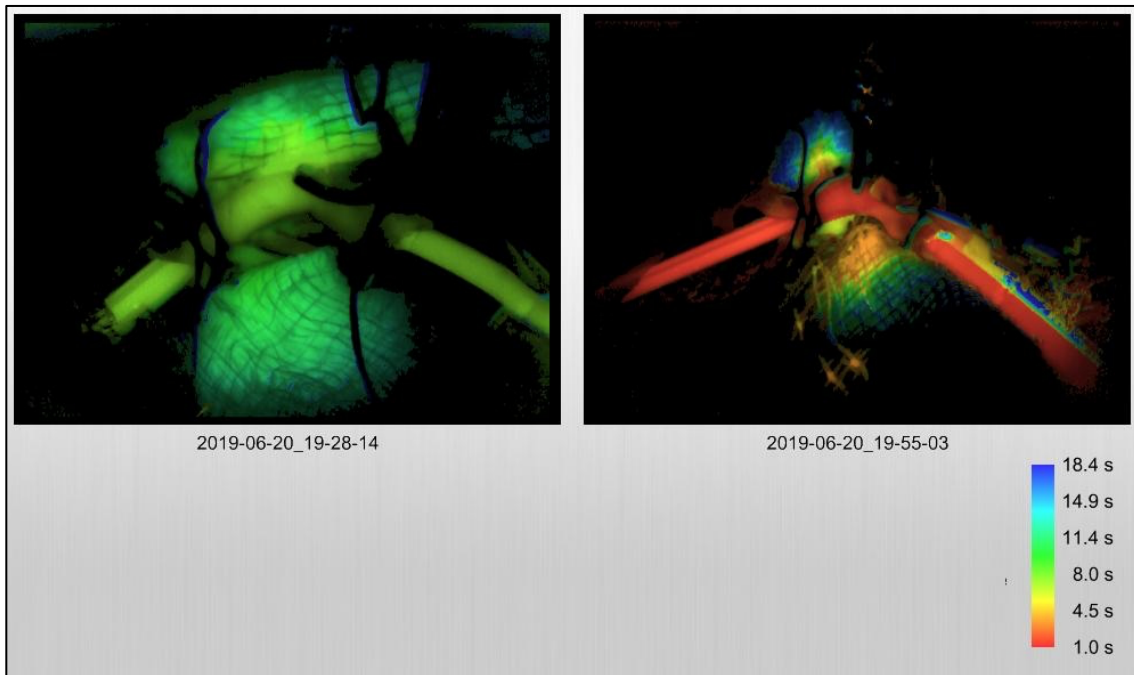


Figura 275.- Comparativa del mapa de retardo de intensidad entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4) empleando una escala común.

Diagramas:

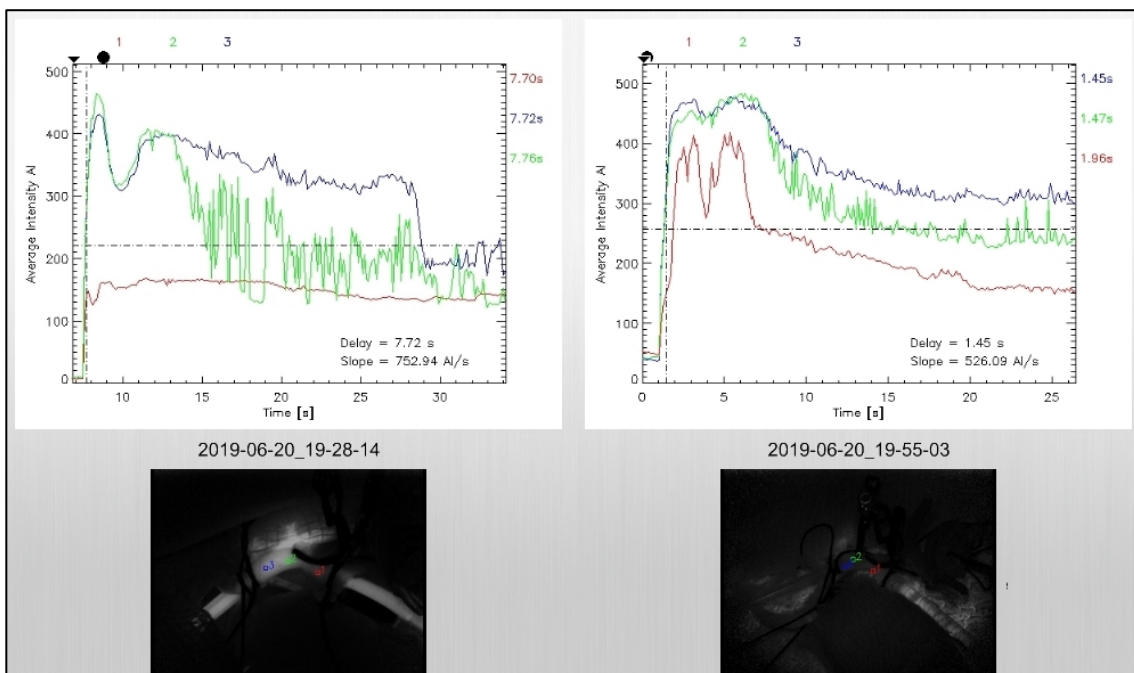


Figura 276.- Comparativa de los diagramas entre los pulsos F1 (izquierda) y F3 (derecha) sobre la arteria cerebral media derecha (Caso 4).

**Tabla 4.- Resumen de los polígonos de Willis estudiados.**

Leyenda de la tabla:

**D<sub>100</sub>**: diámetro externo inicial del vaso normal (medido en milímetros), es decir, el 100% de la luz del vaso;

**D<sub>50</sub>**: diámetro externo del vaso con una reducción a la mitad del diámetro inicial, esto es, al 50 % (medido en milímetros);

**AI**: unidades arbitrarias de intensidad de fluorescencia; s: segundos;

OBS.: Observaciones;

Lado estudiado: **D**: Derecha; **I**: Izquierda;

Arterias estudiadas:

**ACM**: Arteria Cerebral Media (segmento M1);

**AV**: Arteria Vertebral (segmento V4, porción intradural);

Fluorescencia:

F1: fluorescencia en pulso 1; Fr<sub>1</sub>: fluorescencia residual tras el pulso 1;

F2: fluorescencia en pulso 2; Fr<sub>2</sub>: fluorescencia residual tras el pulso 2;

F3: fluorescencia en pulso 3; Fr<sub>3</sub>: fluorescencia residual tras el pulso 3.

Símbolos:

+: fluorescencia presente;

-: ausencia de fluorescencia;

∅: no realizado.

Tabla 4.1: Resultados de fluorescencia en el Caso 1















CASO	ARTERIA	D <sub>100</sub>	F1		Fr1	D <sub>50</sub>	F2		Fr2	F3		Fr3	OBS.
			MAPA	FLOW			MAPA	FLOW		MAPA	FLOW		
CASO 1	ACMD	3,2	+++ 708 	0,1 	+++	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	Fuga masiva por defecto no reparable en la pared.
	AVI	4,3	+++ 1019 	29,9-30,6 	-	2,15	+++ 810 	39,5 	-	+++ (Fuga) 1246 	6,1 	-	Fuga de contraste en el tercer pulso.
	AVD	3,1	+++ 1025 	11,9 	-	1,55	+++ 1019 	2,1 	-	+++ 1019 	2,2 	-	-



Tabla 4.2: Resultados de fluorescencia en el Caso 2







CASO	ARTERIA	D <sub>100</sub>	F1		Fr1	D <sub>50</sub>	F2		Fr2	F3		Fr3	OBS.
			MAPA	FLOW			MAPA	FLOW		MAPA	FLOW		
CASO 2	AVI	3,11	+++ 752	11,3-17,4 	-	1,55	++ 622	11,2 	-	+++ 717	8,8 	∅	Fuga masiva tras el tercer pulso, impide visualizar bien A. Vertebral derecha.
	ACMI	3,2	+++ 708	3,8 	+	1,5	+++ 544	19,2 	++	+++ (Fuga) 476-594	5,6-11 	∅	Fuga e irriga por fuera.



Tabla 4.3: Resultados de fluorescencia en el Caso 3

CASO	ARTERIA	D <sub>100</sub>	F1		Fr1	D <sub>50</sub>	F2		Fr2	F3		Fr3	OBS.
			MAPA	FLOW			MAPA	FLOW		MAPA	FLOW		
CASO 3	AVD	3,44	+++ 1254	27,2 	-	1,72	+++ 997-1246	6,2 	-	∅	∅	∅	No se realiza F3 por fuga masiva irreparable en el segmento estudiado.
	AVI	2,34	+++ 1003-1254	27,2-32,9 	-	1,17	+++ 956-1275	11,4-17 	-	+++ (Fuga) 1280	13,3 	∅	Fuga de contraste en el segundo y tercer pulsos, sin fluorescencia residual significativa.
	ACMI	3,65	+++ 1545	6,9 	-*	1,825	+++ 850-1063		-*	+++ 567-708	20,4 	-*	* Fluorescencia residual sólo en la cánula de plástico. En el resto del vaso no hay fluorescencia residual.

Tabla 4.4: Resultados de fluorescencia en el Caso 4

CASO	ARTERIA	D <sub>100</sub>	F1		Fr1	D <sub>50</sub>	F2		Fr2	F3		Fr3	OBS.
			MAPA	FLOW			MAPA	FLOW		MAPA	FLOW		
CASO 4	AVI	3,50	+++ 483	4,9	-	1,86	+++ 364	15,7-23,5	-	+++ 364	10,6	-	Fuga de contraste en F1 sin Fr.
	AVD	2,70	+++ 343	4,9	-	1,35	+++ 387-483	9,4	-	+++ 464	6,3	-	Fuga de contraste en el segundo y tercer pulsos, sin Fr significativa.
	ACM D	2,83	++ 540-675	7,5	-	1,41	+++ 364	8,8	-	++ 547-683	1,0	-	Fuga +++ de contraste desde F1.

## 5. 5 RESUMEN DE RESULTADOS DE FLUORESCENCIA

### 5.5.1 Presencia de fluorescencia

De los 4 sistemas encefálicos en total se han estudiado 11 segmentos arteriales. Estudiando en su globalidad los datos de fluorescencia arrojados por cada caso en lo que se refiere a la visualización de fluorescencia se obtiene:

En el 100% de los especímenes estudiados se obtiene fluorescencia valorable en todos los pulsos, ya sea el primero, el segundo o el tercero, a que se somete cada segmento arterial.

Tras el primer pulso tan sólo en un espécimen se observa fluorescencia residual significativa, siendo muy leve en otro, lo que representa un 18,2% de la muestra, teniendo en cuenta el reducido número de la misma.

Para el segundo pulso, sólo en caso (el mismo que previamente) se observa fijación de la fluorescencia, que sin embargo no impide la repetición y evaluación de pulsos sucesivos (especimen 5, ACM izquierda, caso 2), representando el 10% de la muestra (No se pudo valorar el espécimen 1 en este segundo pulso).

Tras el tercer pulso ningún espécimen presentó fluorescencia residual, si bien, cabe destacar que únicamente se valoró en 6 de los 11 especímenes.

(Ver Tabla 5)

Tabla 5: Resumen de los hallazgos de fluorescencia por espécimen estudiado:

CASO	ARTERIA	ESPÉCIMEN	F1	Fr1	F2	Fr2	F3	Fr3
1	ACMD	1	+++	+++	∅	∅	∅	∅
	AVI	2	+++	-	+++	-	+++	-
	AVD	3	+++	-	+++	-	+++	-
2	AVI	4	+++	-	++	-	+++	∅
	ACMI	5	+++	+	+++	++	+++	∅
3	AVD	6	+++	-	+++	-	∅	∅
	AVI	7	+++	-	+++	-	+++	∅
	ACMI	8	+++	-	+++	-	+++	-
4	AVI	9	+++	-	+++	-	+++	-
	AVD	10	+++	-	+++	-	+++	-
	ACMD	11	++	-	+++	-	++	-

Fluorescencia:

F1: fluorescencia en pulso 1

Fr1: fluorescencia residual tras el pulso 1.

F2: fluorescencia en pulso 2.

Fr2: fluorescencia residual tras el pulso 2.

F3: fluorescencia en pulso 1

Fr3: fluorescencia residual tras el pulso 3.

Símbolos:

+: fluorescencia presente

-: ausencia de fluorescencia.

∅: no realizado

### 5.5.2 Análisis cualitativo de fluorescencia

Dado que no es posible obtener datos cuantitativos directos de fluorescencia, se valora cualitativamente si en los pulsos sucesivos la herramienta de vídeo-angiografía y el software FLOW800 son útiles para detectar cambios en el calibre de los vasos y por extensión en el flujo cerebral.

De este análisis cualitativo, esto es, si se aprecia cambio de intensidad en la escala colorimétrica presentada se obtiene (Ver Tabla 6):

Para el análisis con mapa de intensidad, empleando:

Escalas independientes: De 19 comparaciones, detecta diferencia en 10 (52%)

Escala común: Detecta diferencia en 10 de las 21 comparaciones (47,6%)

Para el análisis con mapa de retardo de intensidad, empleando:

Escalas independientes: Detecta diferencia cualitativa en 15 de las 19 comparaciones (78,9%)

Escala común: Expresa diferencia cualitativa en 19 de las 21 comparaciones (90,5%)

Es decir, el mapa de retardo es capaz de expresar una diferencia cualitativa cuando cambia el diámetro del vaso estudiado en el 85% de los casos, mientras que con el mapa de intensidad ese porcentaje disminuye al 62,5% (Ver Tabla 6)

Tabla 6.- Resumen de cambios cualitativos de la fluorescencia entre pulsos.

CASO	ARTERIA	ESPÉCIMEN	COMPARACIÓN	INTENSIDAD		RETARDO	
				INDEP.	COMÚN	INDEP.	COMÚN
1	ACMD	1	F1 vs F2	∅	-	∅	+
			F1 vs F3	∅	-	∅	+
	AVI	2	F1 vs F2	-	-	+	+
			F1 vs F3	-	-	+	+
	AVD	3	F1 vs F2	-	-	-	-
			F1 vs F3	+	+	+	+
2	AVI	4	F1 vs F2	+	+	+	+
			F1 vs F3	+	+	+	+
	ACMI	5	F1 vs F2	+	+	+	+
			F1 vs F3	-	-	-	+
3	AVD	6	F1 vs F2	+	+	-	+
			F1 vs F3	∅	∅	∅	∅
	AVI	7	F1 vs F2	+	-	+	+
			F1 vs F3	+	-	+	+
	ACMI	8	F1 vs F2	-	+	+	+
			F1 vs F3	-	+	+	+
4	AVI	9	F1 vs F2	-	-	+	+
			F1 vs F3	-	-	+	+
	AVD	10	F1 vs F2	+	+	+	+
			F1 vs F3	+	+	+	+
	ACMD	11	F1 vs F2	+	+	+	-
			F1 vs F3	-	-	-	+

+: Se detecta cambio cualitativo; -: No se visualiza cambio cualitativo. ∅: no realizado  
 INDEP: Escalas independientes. COMÚN: Escala única.



## **6. DISCUSSION**





### **6.1 Diseño de un modelo experimental de aplicación de la técnica de vídeo angiografía por fluorescencia con verde de indocianina y *software* FLOW 800.**

Este trabajo representa un intento novedoso de diseñar un modelo experimental que pueda reproducir las condiciones necesarias para evaluar la fiabilidad de la vídeo-angiografía intraoperatoria con verde de indocianina y técnica FLOW 800.

El principal rasgo de originalidad radica en el uso de sistemas arteriales encefálicos de cadáver como base para un modelo experimental de fluorescencia, sin precedente en la literatura.

De este tipo de especímenes existen numerosas referencias de estudios anatómicos, siendo los relacionados con las variantes morfológicas arteriales los más numerosos <sup>88-92</sup>.

Por otro lado, se han desarrollado modelos con cadáveres para reproducir ex vivo las condiciones quirúrgicas intraoperatorias de la cirugía vascular cerebral. Sirva de ejemplo el modelo circulatorio de Aboud et al.<sup>93, 94</sup>, en el que se recrea no sólo la circulación de sangre sino también de líquido cefalorraquídeo, lo que junto con la creación de aneurismas cerebrales artificiales en piezas cadavéricas conservadas en etilen-glicol, permite la reproducción de situaciones similares a las que pueden encontrarse en la realidad neuroquirúrgica facilitando así una forma de entrenamiento no sólo para los principiantes sino también un modelo de perfeccionamiento para aquéllos más avezados.

En este modelo <sup>93, 94</sup>, se emplean cabezas de cadáveres humanos seccionadas a la altura del cuello. Se cateterizan las arterias carótidas comunes (para tener flujo tanto en la arteria carótida externa como en la interna), arterias vertebrales y venas yugulares a nivel de su exposición en el cuello con tubos de plástico ajustados al diámetro de cada vaso en la medida de lo posible, como en nuestro estudio. Pero además se inserta un

catéter intradural en el espacio subaracnoideo a cada lado del canal espinal hasta las cisternas para irrigar suero, recreando el lavado de líquido cefalorraquídeo real. La cánula arterial se conecta a una bomba de presión simulando la presión arterial sistólica intraoperatoria, 120-180 mmHg, así como la pulsatilidad cardíaca, 60-80 pulsos por minuto. El sistema se cierra colocando una bomba en la línea venosa a presión menor, 20-40 mmHg, y ambos reservorios siempre por encima del nivel de la cabeza para evitar embolismos aéreos durante el ejercicio de disección. En este sentido, el modelo podría parecerse al empleado en este trabajo, creando un sistema circulatorio cerrado con aferencia de un fluido que tras circular por las estructuras vasculares se expele. A diferencia de lo sucedido con el modelo experimental planteado para esta tesis, en el caso de que se produzca extravasación del fluido, este hecho no influye en la visualización de estructuras gracias al sistema de lavado adicional de que dispone.

Pero la principal diferencia con nuestro modelo estriba en el fluido empleado. En el modelo de Aboud et. Al.<sup>93,94</sup> preparan “sangre artificial” a base de agua en la que se diluye colorante alimentario, creando un fluido rojo para la infusión a través de las cánulas arteriales y otro fluido azul para la infusión en el sistema venoso a través del catéter yugular. Este modelo de circulación reproduce de forma bastante fidedigna las condiciones intraoperatorias reales como un posible sangrado, teniendo una utilidad muy clara para el entrenamiento microquirúrgico en diferentes tipos de procedimientos, ya sea los relacionados con base de cráneo, neurovasculares como el caso que nos ocupa o endoscópicos. Teniendo en cuenta lo observado en la fase de iniciación técnica del estudio que presentamos, dicha formulación del fluido conductor (suero con colorante) resulta de poca utilidad para el objetivo de este trabajo, al carecer de una estructura similar o meramente aproximada a la de la sangre.

No obstante, queda clara la finalidad docente y académica del uso de este tipo de modelo en cadáveres. Con todo, no se han desarrollado trabajos en los que estos polígonos de Willis se empleen para contrastar otro tipo de información, como comprobar la utilidad de una determinada técnica, que como hemos recalado es nuestro propósito fundamental.

Por otro lado, no resulta difícil encontrar una nutrida literatura sobre la utilidad de la vídeo-angiografía intraoperatoria con verde de indocianina, no sólo en el ámbito vascular cerebral, sino también y especialmente en otras especialidades médicas que han sido predecesoras en el uso de esta técnica, como bien desarrolla en su exhaustiva revisión Alander et al.<sup>95</sup>. En este sentido, no sólo viaja por la historia de esta técnica hasta su aceptación en Neurocirugía sino que también analiza su rendimiento para otros campos médicos como la cirugía vascular, oncología (ganglio centinela), cirugía hepática y viabilidad de los colgajos en cirugía reconstructiva, entre otros. Sin embargo, no se encuentran modelos experimentales inertes, especialmente en cadáveres, orientados a valorar la utilidad de esta técnica.

Cabría plantearse la posibilidad de desarrollar un modelo experimental animal. Si bien, ya se han empleado diversos modelos animales, frecuentemente ratas, para valorar las aplicaciones de la vídeo-angiografía, como en oncología<sup>99, 100</sup> o en patología cardíaca<sup>101</sup>.

En esta línea de experimentación animal, probablemente el estudio que más se aproxime al diseño de este trabajo de tesis doctoral sea el de Mücke et al.<sup>85</sup>. En dicho estudio se analizan los cambios en el flujo sanguíneo inducidos por diferentes grados de estenosis en anastomosis vasculares, empleando ratas, y valorando así de forma no invasiva mediante la herramienta FLOW800 dicho flujo. En este sentido, éste es el primer artículo encontrado que evalúa el flujo en diversas circunstancias de permeabilidad vascular y la fiabilidad de este software de vídeo-angiografía, de manera análoga al del

modelo experimental planteado en este trabajo. En el modelo animal, se emplean 25 ratas a las que se les practican anastomosis término-terminales en diferentes arterias (carótida, aorta o femoral) con el fin de producir estenosis progresivas de las mismas, reduciendo el calibre basal de cada una de ellas en un 25%, 50%, 75%, y 100% progresivamente, comparando el flujo a través de esos vasos mediante vídeo-angiografía con ICG y FLOW 800 comparando los resultados con la situación inicial. En este caso además se intenta realizar una cuantificación del flujo de forma indirecta valorando diversos aspectos de la curva de flujo en el diagrama más que el aspecto cualitativo de la escala colorimétrica, determinando que con el estrechamiento progresivo de las anastomosis, se modifica la morfología de la curva, con aplanamiento de la misma y reducción del área bajo la curva. Cualitativamente se aprecia un cambio de color, ya desde un 25% de disminución del calibre. En definitiva el trabajo de este grupo representa el primer modelo experimental en la evaluación de FLOW 800 aplicado por vídeo-angiografía para el análisis semicuantitativo del flujo cerebral.

Sin embargo, y a pesar de las semejanzas en el diseño del estudio, en ningún caso se ha descrito el uso de especímenes arteriales encefálicos de cadáver con fines similares a los de nuestro estudio.

El presente estudio determina que empleando 20 microlitros de verde de indocianina tomados de la dilución a concentración estándar de 5 mg/ml, disueltos en 50 ml de sangre dispuesta como fluido conductor y administrada esta mezcla en bolos de 5 ml de volumen a una velocidad de 1ml/s, es posible reproducir en un polígono de Willis disecado de cadáver humano, condiciones de vídeo-angiografía intraoperatoria similares a las del vivo.

El modelo experimental desarrollado cumple con los requisitos que se perseguían como objetivo primario del estudio, esto es: el uso de polígonos de Willis (sistemas

arteriales encefálicos) junto con el fluido conductor determinado como idóneo, sangre, y la dosis de verde de indocianina encontradas (20 microlitros de la dilución estándar de 5 miligramos por mililitro), permiten aplicar *ex vivo* la técnica de vídeo-angiografía por fluorescencia con dicha molécula e incluso el procesamiento de datos con el software FLOW 800.

En definitiva, se ha comprobado que este modelo permite la generación de fluorescencia y más aún el registro de la misma y su cualificación, no siendo posible la cuantificación directa de la misma por las características intrínsecas de la propia técnica de visualización de ICG.

Además, la búsqueda del modelo experimental *per se*, ha facilitado información adicional para la futura reproducibilidad de este estudio:

#### **6.1.1 Evaluación del fluido conductor del agente fluorescente verde de indocianina:**

Empleando el método empírico se ha desestimado el uso de suero fisiológico como fluido conductor de la molécula de verde de indocianina puesto que no impedía la fijación de ésta en las paredes del vaso estudiado, probablemente por la farmacocinética de esta molécula y su necesidad de unión a proteínas de tipo globulina, ausentes en este fluido.

Igualmente se desestimaron el uso de suero fisiológico con ovoalbúmina o con globulinas humanas dado que en ninguno de los dos casos se evitaba la fluorescencia residual. Con el uso de ovoalbúmina la viscosidad del fluido resultante no permitía la administración en condiciones similares a las habituales. En ambos casos, y a pesar de tratarse de globulinas la persistencia de fluorescencia en el espécimen estudiado probablemente se encuentre en relación con la estructura molecular de estas proteínas. La diferente composición de aminoácidos causa un peso molecular distinto<sup>57</sup> y la disposición

de éstos en la estructura proteica modifica la reactividad a la luz haciendo variar por tanto la respuesta ante la presencia de ICG y su emisión de fluorescencia.

Ha quedado probado que debe emplearse sangre como fluido conductor para poder obtener fluorescencia de calidad y poder reproducir repetidamente estos pulsos de vídeo-angiografía experimentalmente en modelos biológicos inertes.

### **6.1.2 Dosis y ritmo de infusión de verde de indocianina apropiados en el modelo.**

Puesto que los datos de fluorescencia se obtienen en términos de intensidad de señal relacionados con la duración de la fluorescencia, la velocidad con la que se administra la molécula fluorescente ICG y la cantidad aplicada pueden modificar los valores de fluorescencia. De hecho, los resultados de las pruebas iniciales y la intensa fijación de la fluorescencia a las paredes de los modelos empleados posiblemente radicasen, al menos en parte, en el hecho de que se administró la misma dosis para un espécimen de unos mg de peso que para un paciente adulto con peso medio de 70 kg. Comparando este hecho con los estudios experimentales previos y aunque, si bien es cierto, que no son superponibles puesto que la mayor parte se realizaron *in vivo*, en animales, en todos ellos la dosis administrada era proporcional al peso del ejemplar empleado. Así, Sonin et al<sup>101</sup>, para el estudio de isquemia miocárdica con ICG en ratas, emplea bolos de 1 mL de suero salino con 0,25 mg/mL diluidos, infundiéndolos por espacio de 10 minutos. Y para ratas de entre 300-350 g, Mücke et al.<sup>85</sup> emplean la dosis estándar ajustada por peso (0,3 mg/kg de peso corporal, de 25 mg de ICG disueltos en 5 ml de agua estéril), sin aclarar el volumen del bolo administrado.

En el trabajo actual, tras esta fijación intensa inicial, la reducción progresiva de las dosis de ICG empleadas hasta el orden de los microgramos posibilitó la obtención de

fluorescencia de calidad similar a la del vivo, y lo que es más importante, la capacidad de repetir el uso de ICG sin fluorescencia residual.

Asimismo, la velocidad de administración de ICG resultó modificar los valores de fluorescencia provocando irregularidad en la evaluación de los resultados, lo que se subsanó con el uso de una bomba inyectora. A un ritmo de infusión de 1ml / s se obtienen valores de fluorescencia cualitativamente similares a los arrojados habitualmente durante la cirugía en la práctica clínica. No se recoge en ninguno de los estudios experimentales revisados medida alguna para estandarizar los pulsos administrados.

### **6.1.3 Tipo de espécimen idóneo y forma de conservación.**

Frente a la hipótesis de que la desnaturalización de proteínas y, por ende, la modificación estructural de la pared que produce la conservación de los especímenes biológicos en formol<sup>87</sup> podría ser la causa de fluorescencia residual, se ha demostrado que no existen diferencias entre especímenes conservados de una u otra forma (formol *versus* fresco) así como tampoco dependiendo del tipo de espécimen vascular, arterial o venoso, empleado.

Sin embargo, se ha observado una intensa fluorescencia fijada sobre las paredes de tubuladuras de PVC, incluso en pequeños fragmentos de las cánulas empleadas para cateterizar y poder infundir los sistemas arteriales del estudio. No existe una clara explicación para este hecho, pudiendo radicar en la estructura química y molecular tridimensional de este compuesto, que podría facilitar la interacción de ICG con ciertos enlaces atómicos de este preparado resultando en la fijación de la fluorescencia, de forma análoga a lo expuesto en relación a las proteínas.



#### **6.1.4 Análisis de los datos de FLOW800 en el modelo y su extrapolación a los casos *in vivo*.**

La vídeo-angiografía es una técnica de uso habitual durante la cirugía vascular cerebral pues permite la evaluación del flujo cerebral en tiempo real durante el propio procedimiento<sup>81,83,86</sup>. El modelo experimental desarrollado ha demostrado que es posible recrear estas situaciones empleando las condiciones previamente descritas.

Con cada pulso de ICG se obtienen datos relacionados con el flujo, en este caso experimental, del fluido conductor a través del vaso estudiado permitiendo obtener datos cualitativos e indirectamente cuantitativos sobre el caudal de dicho flujo, como en otros estudios<sup>85, 86</sup>.

La intensidad de señal obtenida se interpreta mediante mapas cualitativos, representados en escala de color desde blanco a negro (mayor a menor intensidad respectivamente) así como en términos de tiempo de fluorescencia respecto a esa intensidad en los llamados mapas de retardo, con escalas de color desde rojo a azul (menor a mayor tiempo hasta alcanzar la fluorescencia máxima). Esto es posible con el modelo descrito, permitiendo una interpretación *in situ* del flujo.

Estos mapas son similares a los obtenidos *in vivo*, de lo que se deduce que los resultados son extrapolables a situaciones reales.

El modelo y la técnica en sí son válidos para detectar la presencia o ausencia de fluorescencia y por tanto de flujo a través del espécimen estudiado. Sin embargo cuando el mismo ejemplar se somete a diferentes condiciones, esto es, se estrecha su luz a la mitad de su diámetro externo en un segmento o en un único punto del vaso; si bien es cierto que los valores obtenidos de intensidad de fluorescencia en términos cuantitativos son distintos a los de la situación basal (diámetro externo de vaso normal), cualitativamente las escalas colorimétricas arrojadas son muy similares entre los casos.

En un sentido práctico, la información de que dispone el cirujano a primera vista con los mapas de intensidad tras la fluorescencia no es fiable en términos cualitativos a la hora de informar sobre una estenosis del vaso y por tanto sobre una falta de flujo cerebral.

El uso de la herramienta FLOW 800 permite el análisis de la intensidad de señal de fluorescencia relacionándola con una dimensión temporal, en los mapas de retardo de intensidad. Para la mayoría de los pulsos, tanto cuando se comparan con escalas independientes como cuando se emplea la misma escala colorimétrica, se detectan cambios significativos de color, coincidiendo con los datos del estudio experimental *in vivo* de Mücke et al <sup>85</sup>.

Además, la interpretación de los datos cualitativos en términos de escala colorimétrica ha resultado difícil. El viraje de color no siempre se realiza en el mismo sentido, esto es, cuando existe una disminución del calibre vascular, el resultado no necesariamente se desplaza hacia el mismo intervalo de color. En definitiva este análisis cualitativo inmediato no permite una clara interpretación de lo acontecido. En ningún otro estudio experimental se hace referencia a este hecho, lo cual es importante dado que el retardo de intensidad es la herramienta que más se emplea a la hora de identificar la dirección del flujo en estructuras vasculares como una malformación arteriovenosa <sup>83</sup>.

Por tanto, del análisis de los pulsos realizados en los 11 especímenes arteriales estudiados en este caso, y del procesamiento de diferencias colorimétricas obtenidas, únicamente se se puede afirmar que esta herramienta de la vídeo-angiografía (FLOW800) es capaz de detectar cambios en el flujo cerebral secundarios a estenosis en un vaso, sin poder cuantificar por ello, el grado de afectación del vaso.

No obstante, cuando se manejan las escalas de intensidad de señal, esta distinción no es posible en una primera mirada a los resultados. Teniendo en cuenta el escaso margen

de tiempo de que dispone el cirujano durante el procedimiento para decidir si existe riesgo de isquemia y corregir dicha situación, la utilidad de la técnica puede resultar limitada.

Algo similar sucede con la interpretación de los diagramas de intensidad. Aunque en otros estudios como el de Mücke et al <sup>85</sup>, para cada arteria estudiada la morfología se aplanan conforme se aumenta el grado de estenosis de las anastomosis, en los especímenes estudiados en este trabajo no sucede lo mismo. La mayor parte de las curvas modifican la curva de descenso, pero no aplanándola sino de forma irregular y manteniendo la pendiente ascendente inicial pronunciada. Ello refuerza la conclusión previa de que esta técnica puede detectar cambios en el diámetro de los vasos pero que su interpretación *in situ* es difícil.

Por tanto la técnica de vídeo-angiografía con ICG y su procesamiento con FLOW800 puede ser empleada *ex vivo*, demostrando su fiabilidad para la detección de cambios en el flujo a través del vaso objeto de estudio, pero con la limitación de que no es posible obtener dicha información de forma precisa e inmediata, necesitando de un tiempo de tratamiento de los datos.

## 6.2 Limitaciones del estudio

A pesar de haber podido desarrollar un modelo y por tanto cumplir con el objetivo primario de este estudio, la principal limitación a la hora de poder extrapolar y generalizar los resultados es el escaso número de especímenes.

El acceso a los mismos es limitado y el estado de conservación de los especímenes así como la técnica de extracción de los encéfalos y disección de los sistemas encefálicos provocan numerosos defectos en las paredes arteriales, prácticamente imperceptibles incluso bajo visión microscópica, que obligan a desestimar el uso de ese vaso o segmento arterial.

Estos defectos producen importantes fallos de estanqueidad en el circuito diseñado para los pulsos de fluorescencia, la mayor parte de veces no detectados con la infusión de suero. Este hecho probablemente derive de la presión a la que la bomba inyectora administra los bolos de ICG, superior a la presión con la que se infunden otros fluidos (similar a la presión arterial sistólica de un paciente real)

Estas extravasaciones masivas de contraste y la dificultad para lavar el sistema por fuera del mismo podría justificar la presenta de una tenue fluorescencia residual a pesar de emplear el fluido y bolo recomendados. Por otro lado, estas pérdidas en el sistema han limitado la reproducibilidad de algunos de los pulsos, restringiendo aún más el número de especímenes de la muestra.

Por otro lado, cabe destacar que la sangre empleada en la experimentación se encuentra sometida a hemodilución y anticoagulación con heparina. Al tratarse de pequeños volúmenes de sangre para el desecho procedentes de la máquina de circulación extracorpórea no ha sido posible cuantificar su cocentración (hematocrito), variable que podría influir en la farmacocinética de la molécula de ICG y por tanto de la intensidad de señal recogida en cada pulso, en especímenes distintos. Y lo que es más, ocasionalmente esta sangre había de ser refrigerada para su conservación hasta poder ser empleada experimentalmente. La exposición a bajas temperaturas produce desnaturalización de las proteínas, lo que igualmente podría modificar los valores de intensidad de señal, debiendo considerarse pues, como una limitación más.

Finalmente, el uso de sangre como fluido conductor y de especímenes biológicos inertes, ya sean segmentos arteriales o venosos de desecho, o sistemas arteriales encefálicos de cadáver humano, supone el uso de recursos limitados en número, de difícil acceso en muchos casos. Estos hechos pueden condicionar la reproducibilidad de este modelo experimental, limitando así su utilidad.

### 6.3 Propuestas de futuro

Al hilo del carácter limitante de los especímenes y fluidos empleados, una posible nueva línea de investigación sería el desarrollo de un fluido artificial que recreara la composición proteica de la sangre, pudiendo actuar como sustituto de ésta en la interacción con la molécula de ICG y producción de fluorescencia.

Es igualmente importante completar esta primera aproximación experimental ampliando el tamaño muestral, para permitir una extrapolación fidedigna a las condiciones *in vivo*.

Y en este sentido, tratando de buscar una aproximación mayor a las circunstancias a que se enfrenta el cirujano con el paciente, una propuesta de trabajo sería la aplicación de este modelo a sistemas encefálicos de cadáver *in situ*, esto es, sin disecarlos de las estructuras nerviosas adyacentes para poder reproducir del modo más exacto posible las dificultades de acceso e interpretación de la fluorescencia en el escenario real.

## **7. CONCLUSIONES**



1. En respuesta al objetivo general se concluye que el uso de 20 microlitros de verde de indocianina tomados de una dilución a concentración estándar de 5 mg/ml, disueltos en 50 ml de sangre humana heparinizada dispuesta como fluido conductor y administrada esta mezcla en bolos de 5 ml de volumen a una velocidad de 1ml/s, sobre un sistema circulatorio establecido en un polígono de Willis disecado de cadáver humano es válido como modelo experimental para reproducir la vídeo-angiografía con verde de indocianina y FLOW800 en condiciones similares a las del vivo.

2. En respuesta a los objetivos específicos:

- El uso de sangre humana heparinizada se ha mostrado como fluido conductor apropiado del agente fluorescente verde de indocianina para evitar su fijación a la pared vascular y por tanto permitir la reproducibilidad de los pulsos.

- El bolo que se ha mostrado más apropiado para permitir la visualización de fluorescencia sin fijación del agente fluorescente al espécimen estudiado corresponde a 5 ml, obtenidos de la mezcla de 20 microlitros de verde de indocianina de la dilución estándar a 5mg/ml (25 mg de ICG diluidos en 5 ml de agua destilada), disueltos en 50 ml de sangre humana heparinizada, administrado a una velocidad de 1 mililitro por segundo.

- La validez de esta mezcla para la reproducción de fluorescencia *ex vivo* ha quedado demostrada tanto para vasos arteriales como para los venosos, siendo independiente el resultado de la forma de conservación, esto es en fresco o en formol.

- El modelo experimental permite la obtención de fluorescencia en pulsos repetidos y su análisis cualitativo ulterior tanto de forma independiente como comparativa entre dichos pulsos, mediante el programa FLOW 800 y su extrapolación a los casos in vivo.





## **8. BIBLIOGRAFÍA**



1. Vinci L. The Notebooks of Leonardo da Vinci. New York: Reynal and Hitchcock; 1938.
2. Singer CJ. A short History of Anatomy from the Greeks to Harvey. 2nd ed. Mineola, NY: Dover: Publications; 1957.
3. Siesjö BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology. *J Neurosurg.* 1992; 77(2):169-184
4. Spetzler RF, Kalani MYS, Nakaji P. *Neurovascular Surgery.* Thieme; 2015. p.204-206.
5. Goertz L, Hamisch C, Kabbasch C, Borggreffe J, Hof M, Dempfle A-K, et al. Impact of aneurysm shape and neck configuration on cerebral infarction during microsurgical clipping of intracranial aneurysms. *J Neurosurg.* 2019;4(12):1-9.
6. Sharp F, Swanson R, Honkaniemi J, Kogure K. *Neurochemistry and molecular biology. Management,* 3rd ed. Barnett HJ, Mohr JP, Stein BM, FMSStroke Y, Pathophysiology D, and, editores. Philadelphia: Churchill Livingstone; 1998.
7. Pulsinelli W. Pathophysiology of acute ischaemic stroke. *Lancet;* 1992; 339(8792):533-6.
8. Ross R. Atherosclerosis, an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340:115–126.
9. Peterson EC, Wang Z, Britz G. Regulation of cerebral blood flow. *Int J Vasc Med.* 2011; 2011:823525.
10. Hurn P, Traystman R. Overview of cerebrovascular hemodynamics. In: Caplan LR, Reis DJ, Siesjö BK, Weir B, Welch KM, eds. *Primer on Cerebro-vascular Diseases.* San Diego: Academic Press; 1997.
11. Zou H HM Ratz PH. Temporal aspects of Ca(2+) and myosin phosphorylation during myogenic and norepinephrine-induced arteriolar constriction. *J Vasc Res.* 37:556–567.
12. Rubanyi GM, Freay AD, Kauser K. Johns Harder DR Mechanoreception by the endothelium: mediators and mechanisms of pressure and flow induced vascular responses. *Blood vessels* 1990;27:246-257.
13. Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L. Cerebral autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1990;2:161-192.
14. Astrup J SL Siesjö BK. Thresholds in cerebral ischemia- the ischemic penumbra. *Stroke.* 1981;12(6):723-725.
15. Sundt TM Jr Sharbrough FW Anderson RE Michenfelder JD Cerebral blood flow measurements and electroencephalograms during carotid endarterectomy. *J Neurosurg* 1974;41:310-320.
16. Jones TH, Morawetz RB, Crowell RM, et al. Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys. *J Neurosurg* 1981;54:773-782.

17. Heiss WD. Flow thresholds of functional and morphological damage of brain tissue. *Stroke* 1983;14:329-331.
18. Vlak MH, Algra A, Brandenburg R, Rinkel GJ. Prevalence of unruptured intracranial aneurysms, with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*; 2011;10(7):626-636.
19. Fogelholm R, Hernesniemi J, Vapalahti M. Impact of early surgery on outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A population-based study. *Stroke*. 1993; 24(11):1649-1654.
20. Lagares A, Gómez PA, Alén JF, Arikán F, Sarabia R, Horcajadas A, et al. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage: group of study of cerebrovascular pathology of the Spanish society of neurosurgery management guideline. *Neurocir Astur Spain*. 2011;22(2):93-115.
21. Ambekar S, Khandelwal P, Bhattacharya P, Watanabe M, Yavagal DR. Treatment of unruptured intracranial aneurysms: a review. *Expert Rev Neurother*. 2016;16(10):1205-16.
22. Yaşargil MG, Abernathy CD. *Microneurosurgery*. Thieme; 1996. p. 556-558.
23. Louw DF, Asfora WT, Sutherland GR. A brief history of aneurysm clips. *Neurosurg Focus*. 2001;11(2):1-4.
24. Yaşargil MG. Intracranial microsurgery. *Proc R Soc Med*.1972;65(1):15-6.
25. Schramm J, Koht A, Schmidt G, Pechstein U, Taniguchi M, Fahlbusch R. Surgical and electrophysiological observations during clipping of 134 aneurysms with evoked potential monitoring. *Neurosurgery*. 1990(26):61–70.
26. Yasargil MG, Yonekawa Y. Results of microsurgical extra-intracranial arterial bypass in the treatment of cerebral ischemia. *Neurosurgery*.1977;1(1):22-4.
27. Sekhar LN, Nelson PB. A technique of clipping giant intracranial aneurysms with preservation of the parent artery. *Surg Neurol*. 1983;20(5):361-368
28. Kalani MY MN Kalb S. Cerebral revascularization and carotid artery resection at the skull base for treatment of advanced head and neck malignancies. *J Neurosurg*.2013;118:637-642.
29. Kalani MY, Zabramski JM, Hu YC, Spetzler RF. Extracranial intracranial bypass and vessel occlusion for the treatment of unclippable giant middle cerebral aneurysms. *Neurosurgery*.2013;72:428-435.
30. Nussbaum E, Mocco J. Cerebral Revascularization: Microsurgical and Endovascular Techniques: Microsurgical and Endovascular Techniques. Thieme; 2011. p.377 .
31. RamanathanD, Temkin N, Kim LJ, Ghodke B, Sekhar LN. Cerebral bypasses for complex aneurysms and tumors: long term results and graft management strategies. *Neurosurgery*. 2012;70:1442–1457, discussion 1457.

32. Yonas H, Darby JM, Marks EC, Durham M SR, C. CBF measured by Xe-CT: approach to analysis and normal values. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1991;11(5):716-725.
33. Willie CK AP. Integrative regulation of human brain blood flow. *J Physiol.* 2014;592(5):841-859.
34. Spetzler RF, Wilson CB, Weinstein P, Mehdorn M, Townsend J, Telles D. Normal perfusion pressure breakthrough theory. *Clin Neurosurg.* Vol. 25. 1978. 651–672 .
35. Golanov EV, Reis DJ. Oxygen and cerebral blood flow. In: Caplan LR, Reis DJ, Siesjo BK, Weir B, Welch KM, eds. *Primer on Cerebrovascular Diseases.* San Diego:Academic Press;1997:58-59 .
36. Tan CC. Khurana VG, Benarroch EE, Meyer FB. Cerebral blood flow and metabolism and cerebral ischemia. In: Youmans Neurological Surgery: Expert Consult. 6th ed. Philadelphia: Saunders; 2011.p:3537-3562.
37. Choksey MS. Cortical thermal clearance as a predictor of imminent neurological deterioration. *Cerebrovasc Brain Metab Rev.* 1996;8(3):230-271.
38. Feindel W, Yamamoto YL. Cerebral microcirculation: studies by fluorescein angiography and local cerebral blood flow measurements by radioisotopes. *Neurol Med Chir.* Tokyo; 1973;13:21-37.
39. Gur D, Yonas H, Good WF. Local cerebral blood flow by xenon-enhanced CT: current status, potential improvements, and future directions. *Cerebrovasc Brain Metab Rev.* 1989;1(1):68-86.
40. Ibaraki M, Miura S, Shimosegawa E, Sugawara S, Mizuta T, Ishikawa A, et al. Quantification of cerebral blood flow and oxygen metabolism with 3-dimensional PET and 15O: validation by comparison with 2-dimensional PET. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* 2008;49(1):50-9.
41. Lake EMR, Bazzigaluppi P, Stefanovic B. Functional magnetic resonance imaging in chronic ischaemic stroke. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2016;371(1705).
42. Lundell A Bergqvist D Mattsson E Nilsson B. Volume blood flow measurements with a transit time flowmeter: an in vivo and in vitro variability and validation study.1993;13(5):547-557.
43. K. Beach 1975-2000: A quarter century of ultrasound technology. *Ultrasound Med Biol.* 1992;18:377-388.
44. Bailes JE, Tantuwaya LS, Fukushima T, Schurman GW, Davis D. Intraoperative microvascular Doppler sonography in aneurysm surgery. *Neurosurgery.*1997;40:965-970.
45. Amin-Hanjani S, Meglio G, Gatto R, Bauer A, Charbel FT. The utility of intraoperative blood flow measurement during aneurysm surgery using an ultrasonic perivascular flow probe. *Neurosurgery.* 2006;58(4 Suppl 2):305-312.

46. Murkin JM, Arango M. Near-infrared spectroscopy as an index of brain and tissue oxygenation. *BrJAnaesth*.2009;103(Suppl1):i3–i13.
47. Neuloh G, Schramm J. Monitoring of motor evoked potentials compared with somatosensory evoked potentials and microvascular Doppler ultrasonography in cerebral aneurysm surgery. *J Neurosurg*. 2004;100(3):389-99.
48. Tang G, Cawley CM, Dion JE, Barrow DL. Intraoperative angiography during aneurysm surgery: a prospective evaluation of efficacy. *J Neurosurg*. 2002; 96:993–999.
49. Klopfenstein JD, Spetzler RF, Kim LJ, et al. Comparison of routine and selective use of intraoperative angiography during aneurysm surgery: a prospective assessment. *J Neurosurg*.2004;100;230-235.
50. Podlesek D, Meyer T, Morgenstern U, Schackert G, Kirsch M. Improved visualization of intracranial vessels with intraoperative coregistration of rotational digital subtraction angiography and intraoperative 3D ultrasound. *etminan n, editor. PLoS One*. 2015;10(3):e0121345.
51. Normativa bloque quirúrgico mscbs 2019. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/docs/BQ.pdf>
52. Choi E, Lee JY, Jeon HJ, Cho B-M, Yoon DY. A hybrid operating room for combined surgical and endovascular procedures for cerebrovascular diseases: a clinical experience at a single centre. *Br J Neurosurg*. 2019;1-5.
53. Bulsara KR FT Patel T. Cerebral bypass surgery for skull base lesions: technical notes incorporating lessons learned over two decades. *Neurosurg Focus*. 2008;24(2):E11.
54. Raabe A, Beck J. Technique and image quality of intraoperative indocyanine green angiography during aneurysm surgery using surgical microscope integrated near-infrared video technology. *Zentralbl Neurochir*. 2005;66:1–6. discussion.
55. Roessler K, Krawagna M, Dörfler A, Buchfelder M, Ganslandt O. Essentials in intraoperative indocyanine green videoangiography assessment for intracranial aneurysm surgery: conclusions from 295 consecutively clipped aneurysms and review of the literature. *Neurosurg Focus*. 2014;36(2):E7.
56. Kato Y, Oda J, Oguri D, Hirose Y, Jhavar S, Watabe T, et al. Preliminary evaluation of the role of surgical microscope-integrated intraoperative FLOW 800 colored indocyanine fluorescence angiography in arteriovenous malformation surgery. *Neurol India*. 2011;59(6):829.
57. Harvey A, Richard A, Ferrier DR. *Biochemistry*. Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p: 528.
58. Garrett RH, Grisham CM. *Biochemistry*. Cengage Learning; 2016. p:1330.
59. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM, Cox UMM, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. W. H. Freeman; 2005. p:1256.

60. Nickele C, Nguyen V, Fisher W, Couldwell W, Aboud E, David C, et al. A Pilot comparison of multispectral fluorescence to indocyanine green videoangiography and other modalities for intraoperative assessment in vascular Neurosurgery. *Oper Neurosurg.* 2019;17(1):103-9.
61. Millan MIP, Becu-Villalobos D. La proteína verde fluorescente ilumina la biociencia. *Medicina.* Buenos Aires. 2009;p:5.
62. Lacowicz JR. *Protein Fluorescence.* Springer Science & Business Media; 2006. p:320.
63. Sauer M, Hofkens J, Enderlein J. *Handbook of Fluorescence Spectroscopy and Imaging: From Ensemble to Single Molecules.* John Wiley & Sons; 2010. p:189.
64. Lakowicz JR. *Principles of Fluorescence Spectroscopy.* Springer Science & Business Media; 2007. p:961.
65. Roberts S, Strome A, Choi C, Andreou C, Kossatz S, Brand C, et al. Acid specific dark quencher QC1 pHLIP for multi-spectral optoacoustic diagnoses of breast cancer. *Sci Rep.* 2019;9(1):8550.
66. Newton AD, Predina JD, Shin MH, Frenzel-Sulyok LG, Vollmer CM, Drebin JA, et al. Intraoperative near-infrared imaging can identify neoplasms and aid in real-time margin assessment during pancreatic resection. *Ann Surg.* 2019;270(1):12-20.
67. Miranda D, Wan C, Kilian HI, Mabrouk MT, Zhou Y, Jin H, et al. Indocyanine green binds to DOTAP liposomes for enhanced optical properties and tumor photocoagulation. *Biomater Sci.* 2019,DOI:10.1039/C9BM00551J.
68. Kogure K, David NJ, Yamanouchi U, Choromokos E. Infrared absorption angiography of the fundus circulation. *Arch Ophthalmol.* 1970:83–209.
69. Feindel W, Yamamoto YL, Hodge CP. Intracarotid fluorescein angiography: a new method for examination of the epicerebral circulation in man. *Can Med Assoc J.* 96:1–7.
70. Novotny HR, Alvis DL. A method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina. *Circulation.* 1961;24:82-6.
71. Hongo K, Kobayashi S, Okudera H, Hokama M, Nakagawa F. Noninvasive cerebral optical spectroscopy: depth-resolved measurements of cerebral haemodynamics using indocyanine green. *Neurol Res.* 1995(17):89–936.
72. Raabe A, Nakaji P, Beck J. Prospective evaluation of surgical microscope-integrated intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography during aneurysm surgery. *J Neurosurg.* 2005;103(6):982-989.
73. Hadjipanayis CG, Stummer W. *Fluorescence-Guided Neurosurgery: Neuro-oncology and Cerebrovascular Applications.* Thieme; 2018. p: 416.
74. 82368\_ft.pdf.2019]. Disponible en [https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/82368/82368\\_ft.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/82368/82368_ft.pdf)



75. Olsen T, Lim J, Capone A, Myles R, et al. Anaphylactic shock following indocyanine green angiography. *Arch Ophthalmol*. 1996;114(1):97.
76. Cochran ST, Bomyea K, Sayre JW. Trends in adverse events after IV administration of contrast media. *AJR Am J Roentgenol*. 2001;176:1385–1388.
77. Hope-Ross M, Yannuzzi LA, Gragoudas ES, et al. Adverse reactions due to indocyanine green. *Ophthalmology*. 1994;101(3):529-533.
78. VERDYE.82368\_ft.pdf. Disponible en: [https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/82368/82368\\_ft.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/82368/82368_ft.pdf)
79. Ferroli P, Nakaji P, Acerbi F, Albanese E, Broggi G. Indocyanine green (ICG) temporary clipping test to assess collateral circulation before venous sacrifice. *World Neurosurg*; 2011;75(1):122-125.
80. de Oliveira JG, Beck J, Seifert V, Teixeira MJ, Raabe A. Assessment of flow in perforating arteries during intracranial aneurysm surgery using intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography. *Neurosurgery*. junio de 2008;62(6 Suppl 3):1300-10.
81. Balamurugan S, Agrawal A, Kato Y. Intraoperative indocyanine green video-angiography in cerebrovascular surgery: an overview with review of literature. *Asian J Neurosurg*. 2011; 6:88–93.
82. Batjer HH, Frankfurt AI, Purdy PD. Use of etomidate, temporary arterial occlusion, and intraoperative angiography in surgical treatment of large and giant cerebral aneurysms. *J Neurosurg*. 1988(68):234–240.
83. Shah KJ, Cohen-Gadol AA. The application of flow 800 ICG videoangiography color maps for neurovascular surgery and intraoperative decision making. *World Neurosurg*. 2019;122:e186-97.
84. Lai LT, Morgan MK. Use of indocyanine green videoangiography during intracranial aneurysm surgery reduces the incidence of postoperative ischaemic complications. *J Clin Neurosci*. 2014;21(1):67-72.
85. Mücke T, Reeps C, Wolff K-D, Mitchell DA, Fichter AM, Scholz M. Objective qualitative and quantitative assessment of blood flow with near-infrared angiography in microvascular anastomoses in the rat model. *Microsurgery*. 2013;33(4):287-96.
86. Acerbi F, Vetrano IG, Sattin T, Falco J, de Laurentis C, Zattra CM, et al. Use of ICG videoangiography and FLOW 800 analysis to identify the patient-specific venous circulation and predict the effect of venous sacrifice: a retrospective study of 172 patients. *Neurosurg Focus*. 2018;45(1):E7.
87. Montuenga Badia L. Esteban Ruiz F. Formaldehído. En: *Técnicas en histología y biología celular*. Elsevier Masson. 2009. p:39.
88. Puchades-Orts A, Nombela-Gomez M, Ortuno-Pacheco G. Variation in form of circle of Willis: Some anatomical and embryological considerations. *Anatomical Record*. 1975;185:119-24.

89. Fisher CM (1965) The circle of Willis: anatomical variations. *Vasc Dis* 2:99–105.
90. Kapoor K, Singh B, Dewan LI. Variations in the configuration of the circle of Willis. *Anat Sci Int*. 2008;83: 96-106.
91. Yasargil, M.G. Microsurgical anatomy of the basal cisterns and vessels of the brain, diagnostic studies, general operative techniques and pathological considerations of the intracranial aneurysms. *Microsurgery*, Vol. 1. Thieme. New York: Thieme Strattom, 1984.
92. Wieslawa Klimek P, Monika R, Aleksandra W, et al. A multitude of variations in the configuration of the circle of Willis: an autopsy study. *Anat Sci Int Sep*. 2016;91:4:325-33.
93. Aboud E, Al-Mefty O, Yaşargil MG: New laboratory model for neurosurgical training that simulates live surgery. *J Neurosurg* 97:1367–1372, 2002
94. Aboud E, Aboud G, Al-Mefty O, Aboud T, Stylianos R, Kandel M, Hsu S, Koga S, Arthur A, Krisht A. “Live cadavers” for training in the management of intraoperative aneurysmal rupture. *Journal of neurosurgery*. 2015; 123:3: 1-8.
95. Alander JT1, Kaartinen I, Laakso A, Pätilä T, Spillmann T, Tuchin VV, Venermo M, Välisuo P. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int J Biomed Imaging*. (2012) 2012:940585.
96. Sharma M, Ambekar S, Ahmed O, Nixon M, Sharma A, Nanda A, et al. . The utility and limitations of intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography in aneurysm surgery. *World Neurosurg*. (2014) 82:e607–13. 10.1016/j.wneu.2014.05.033
97. Kamp MA, Sloty P, Turowski B, Etminan N, Steiger HJ, Hänggi D, Stummer W. Microscope-Integrated Quantitative Analysis of Intraoperative Indocyanine Green Fluorescence Angiography for Blood Flow Assessment. *Operative Neurosurgery*. 2012 (70) ons65–ons74. doi:10.1227/neu.0b013e31822f7d7c
98. Y. Kang, M. Choi, J. Lee, G. Y. Koh, K. Kwon, and C. Choi, “Quantitative analysis of peripheral tissue perfusion using spatiotemporal molecular dynamics,” *PLoS ONE*, vol. 4, no. 1, Article ID e4275, 2009.
99. W. R. Chen, R. L. Adams, A. K. Higgins, K. E. Bartels, and R. E. Nordquist, “Photothermal effects on murine mammary tumors using indocyanine green and an 808-nm diode laser: an in vivo efficacy study,” *Cancer Letters*, vol. 98, no. 2, pp. 169–173, 1996.
100. W. R. Chen, W. G. Zhu, J. R. Dynlacht, H. Liu, and R. E. Nordquist, “Long-term tumor resistance induced by laser photo-immunotherapy,” *International Journal of Cancer*, vol. 81, no. 5, pp. 808–812, 1999.
101. Sonin D, Papayan G, Pochkaeva E, Chefu S, Minasian S, Kurapeev D, Vaage J, Petrishchev N, Galagudza M. In vivo visualization and ex vivo quantification of experimental myocardial infarction by indocyanine green fluorescence imaging. *Biomed Opt Express*. 2016 Dec 8;8(1):151-161.





**ANEXOS**



## ANEXO A

## Documento memoria de investigación y comité ético hospitalario

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN			
A DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL			
APELLIDOS BAÑO RUIZ	NOMBRE ELENA	NIF 48356233K	TITULACIÓN ACADÉMICA LICENCIADA
CORREO ELECTRÓNICO ebaruiz@gmail.com	GRADO ACADÉMICO DOCTORADO	CATEGORÍA	TELÉFONO DE CONTACTO 445310
CENTRO DE ADSCRIPCIÓN HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ALICANTE		DEPARTAMENTO/SERVICIO/SECCIÓN/UNI DAD/ÁREA 19	
DIRECCIÓN (CALLE/PLAZA, NÚMERO Y PUERTA) Pintor Baeza, 11,		CÓDIGO POSTAL 03010	
LOCALIDAD ALICANTE		PROVINCIA	
TÍTULO DEL PROYECTO  <b>DESARROLLO DE UN MODELO EXPERIMENTAL PARA DETERMINAR LA FIABILIDAD DE LA VÍDEO-ANGIOGRAFÍA INTRAOPERATORIA CON VERDE DE INDOCIANINA EN LA DETECCIÓN DE UNA DISMINUCIÓN DEL FLUJO CEREBRAL</b>			
B MIEMBROS DEL EQUIPO COLABORADOR			
APELLIDOS, NOMBRE	NIF	CENTRO DE ADSCRIPCIÓN	SERVICIO/ DEPARTAMENTO
NIETO NAVARRO, JUAN	21656725V	HGUA	19 NCG
C DOCUMENTACIÓN APORTADA			

MEMORIA CIENTÍFICO-TÉCNICA			
X <input type="checkbox"/>	Memoria Científico-Técnica	X <input type="checkbox"/>	Visto bueno responsable del o los servicios implicados.
X <input type="checkbox"/>	CV del investigador principal y del equipo colaborador		
D SOLICITUD			
En Alicante , 12 d MARZO de 2018			
 <b>GENERALITAT VALENCIANA</b>		 <b>ISABIAL</b> <small>INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA Y BIOMÉDICA DE ALICANTE</small>	
<p>Los datos de carácter personal contenidos en el impreso podrán ser incluidos en un fichero para su tratamiento por ISABIAL, como titular responsable del fichero, en el uso de las funciones propias que tiene atribuidas y en el ámbito de sus competencias. Asimismo, se le informa de la posibilidad de ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición, todo ello de conformidad con lo dispuesto en el art. 5 de la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos de Carácter Personal (BOE nº 298, de 14/12/99).</p>			

### 1. DATOS IDENTIFICATIVOS:

Investigador Principal (nombre y apellidos) **ELENA BAÑO RUIZ**

Título del Proyecto: **DESARROLLO DE UN MODELO EXPERIMENTAL PARA DETERMINAR LA FIABILIDAD DE LA VÍDEO-ANGIOGRAFÍA INTRAOPERATORIA CON VERDE DE INDOCIANINA EN LA DETECCIÓN DE UNA DISMINUCIÓN DEL FLUJO CEREBRAL**

Resumen: objetivos y metodología del proyecto (300 palabras):

El presente estudio se fraguó tras observar un comportamiento no esperado al aplicar la técnica ICG- Flow 800 sobre un polígono de Willis de cadáver humano formalizado. Se pretendía generar externamente estenosis progresivas de la pared del vaso y analizar la información semicuantitativa del flujo con la herramienta Flow 800 a tras realizar pulsos seriados de fluorescencia.

**2. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA** (máximo 3 páginas). Finalidad del proyecto, antecedentes y estado actual de los conocimientos científico-técnicos, grupos nacionales o internacionales que trabajan en la línea específica del proyecto o en líneas afines. Bibliografía más relevante.

En el área del tratamiento de las enfermedades vasculares cerebrales existe una competencia asistencial entre los tratamientos microquirúrgicos y las terapias endovasculares habitualmente desarrolladas por neurorradiólogos. El desarrollo tecnológico de las terapias endovasculares ha experimentado una expansión logarítmica, alcanzando en pocos años metas impensables antes y ampliando sus indicaciones al mismo ritmo. Este hecho ha actuado en detrimento de los tratamientos microquirúrgicos que ven reducidas sus indicaciones a aneurismas complejos y a la cirugía de revascularización cerebral<sup>20</sup>.

La microcirugía vascular cerebral es un campo de excelencia profesional que exige una técnica exquisita en todos y cada uno de los pacientes puesto que los resultados sobre la isquemia resultante son binarios: éxito o fracaso, sin situaciones aceptables intermedias. La adquisición de estas habilidades exige una dedicación extrema, con horas de entrenamiento de los actos quirúrgicos, para que, desde el primer caso tratado, pueda asegurarse el éxito.

Desafortunadamente para la consecución de habilidades, son los casos más complejos y sin posibilidad de tratamiento endovascular los que son remitidos para tratamiento quirúrgico. De tal suerte que la adquisición de destreza y refinamiento manual en casos que podamos considerar dentro de la idiosincrasia de la enfermedad aneurismática, como usuales, no es factible; ya que éstos son resueltos por radiólogos intervencionistas. De tal suerte, que las circunstancias asistenciales actuales nos exigen lidiar con la fiera más brava sin haber podido bregar antes con otras más dóciles.

Esta misma circunstancia competencial es la que se encuentran los cirujanos cardíacos con sus análogos los radiólogos intervencionistas y cardiólogos. Aprovechando las sinergias en recursos e infraestructura con ellos, pretendemos desarrollar el presente trabajo.

Por otro lado, los laboratorios de microcirugía permiten el entrenamiento en modelos animales vivos, fundamentalmente ratas o cerdos anestesiados; y la sutura en modelos inertes como el ala de pollo. Del mismo modo que en el aprendizaje de muchas disciplinas los simuladores complementan, pero no reemplazan a la realidad estudiada, en microcirugía neurovascular se precisa del desarrollo de modelos de entrenamiento ex vivo que reproduzcan fidedignamente las mismas condiciones que in vivo.

Con estos planteamientos previos, este trabajo persigue evaluar la aplicabilidad de la vídeo-angiografía intraoperatoria con verde de indocianina y su herramienta FLOW 800 en modelos experimentales no vivos y que permitan reproducir escenarios quirúrgicos con riesgo de isquemia análogos al vivo.

**3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS** (máximo 1 página).

Diseño y validación de un modelo experimental de aplicación de la técnica de vídeo angiografía por fluorescencia con verde de indocianina (ICG) y software FLOW 800 que permita el entrenamiento microquirúrgico vascular sobre arterias de polígonos de Willis de cadáveres humanos, en condiciones superponibles a las quirúrgicas in vivo.

**Objetivos secundarios**

Evaluar medio fluido apropiado para vehicular el agente fluorescente verde de indocianina y evitar su fijación del a la pared vascular.

Establecer dosis y ritmo de infusión apropiada de verde de indocianina en el modelo experimental.



Analizar su aplicabilidad a vasos arteriales y venosos procedentes de explantes tanto en fresco como preservados en formol.

Analizar los datos de FLOW 800 en el modelo experimental y su extrapolación a los casos in vivo

#### 4. METODOLOGÍA (máximo 3 páginas). Diseño, sujetos de estudio, variables, recogida variables, análisis de datos y limitaciones del estudio

Por todo ello, se ha dividido el presente estudio en dos fases: fase de iniciación técnica y fase de validación.

Una primera fase, denominada **Fase de Iniciación Técnica o Fase 1** para el estudio y definición de las mejores condiciones del modelo experimental, empleando especímenes de complejidad creciente pero no procedentes de encéfalos humanos. Y una segunda fase, denominada **Fase de Validación o Fase 2**, para evaluar la validez de las condiciones del modelo experimental obtenidas en la fase anterior, al aplicarlas sobre polígonos de Willis de encéfalos de cadáveres humanos.

La escasez de polígonos de Willis de cadáveres humanos de que se dispone y la necesidad de reservarlos para la fase 2 de validación, requirió iniciar una búsqueda de especímenes hábiles para esta experimentación, cuya disponibilidad en número no fuese limitante y cuya naturaleza inherente (tejido vascular) permitiese aproximar el modelo experimental en desarrollo a las condiciones habituales de trabajo. Ello condujo a fijar la mirada en los Servicios de Cirugía Cardíaca y de Cirugía Vascular del Hospital General Universitario de Alicante, como fuente de especímenes y de fluidos biológicos de origen vascular, manteniendo el objetivo de economía de medios.

Cabe destacar que diariamente por parte de estos dos servicios se generan especímenes de índole biológica que son directamente enviados al contenedor de desechos, esto es: en Cirugía Vascular se obtienen largos segmentos de vena safena procedentes de intervenciones para tratamiento de la insuficiencia venosa de miembros inferiores (safenectomías); y, por otro lado, en Cirugía Cardíaca se obtienen segmentos de vena safena y arteria mamaria como excedentes de los que se emplean como injertos en cirugía de revascularización cardíaca.

Asimismo, teniendo en cuenta el deseo de conseguir un modelo experimental que reprodujera de la forma más verosímil las condiciones reales de trabajo en Neurocirugía, hubo que considerar la posibilidad de precisar un fluido conductor similar al biológico, es decir, sangre. Es por ello que se consideró que, de nuevo, el Servicio de Cirugía Cardíaca podría ofrecer una fuente de sangre humana en cantidad no limitante para la presente investigación, procedente de remantes no retornables al paciente del sistema de circulación extracorpórea, que son diaria y sistemáticamente desechados como residuos biológicos.

Se pretende utilizar la sangre no recuperable para ser infundida en polígonos de Willis y optimizar el modelo experimental de verde de indocianina y Flow 800.

#### 4. PLAN DE TRABAJO (máximo 3 páginas). Etapas de desarrollo y distribución de las tareas de todo el equipo investigador, y las asignaciones previstas para el personal técnico que se solicita. Indicar además el lugar/centro de realización del proyecto. Incluir cronograma:

RESPONSABLE:			MESES											
Objetivo	Actividades/Tareas	Participantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Objetivo 1	Tarea 1 (p. ej.)													X
	Tarea 2 (p. ej.)													X
	Tarea ...													X
Objetivo 2														

**4.- EXPERIENCIA DEL EQUIPO INVESTIGADOR** (máximo 1 página).

Miembro de la Unidad de Patología Cerebrovascular del Hosp Gral. Universitario de Alicante y responsable del programa de cirugía aneurismática y de malformaciones arteriovenosas cerebrales.

**5.- INTERÉS Y RELEVANCIA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN** (máximo 1 página).

Los resultados del estudio permitirán establecer los parámetros idóneos del modelo experimental y permitirán incrementar la habilidad manual del neurocirujano y la toma de decisiones ayudado con la herramienta Flow 800, hecho que redundará en reducción de las posibilidades de isquemia postquirúrgica del paciente.

**6- VIABILIDAD DEL PROYECTO** (máximo 1 página). Describir los medios disponibles para la realización del proyecto.

No se precisa de implementación de recursos estructurales

**7- JUSTIFICACIÓN DETALLADA DE LAS PARTIDAS PRESUPUESTARIAS SOLICITADAS** (máximo 1 página).

Sin partida presupuestaria

**8- PRESUPUESTO** (máximo 1 página).

<b>Partida de RRHH</b>	<b>Cuantía</b>
	00
<b>Subtotal</b>	
<b>Partida de Bienes y Servicios</b>	
	00
<b>Subtotal</b>	
<b>Partida de Viajes y Dietas</b>	
<b>Subtotal</b>	
<b>TOTAL</b>	<b>0</b>

**ASPECTOS ETICOS A TENER EN CUENTA.** Justificación de la no necesidad de consentimiento informado o de su necesidad, en ese caso, habrá que adjuntar (anexos) hoja de Información al paciente y consentimiento propiamente dicho.




**ANEXO I. Hoja de recogida de datos (este anexo es obligatorio).**

**9- ANEXO II. Hoja de información al paciente.**

(En el caso de que no se adjunte, se debe de justificar su no necesidad en el apartado número 11).

## 10- ANEXO III. Consentimiento informado.

### Documento de consentimiento informado para donación de muestras biológicas con fines de investigación

		
---	---	---

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

---

Número Expediente:	
Título del proyecto:	
Investigador principal:	

Yo.....  
(Nombre y apellidos manuscritos por el participante)

He leído esta hoja de información y he tenido tiempo suficiente para considerar mi decisión. Me han dado la oportunidad de formular preguntas y todas ellas se han respondido satisfactoriamente.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones.
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Después de haber meditado sobre la información que me han proporcionado, declaro que mi decisión es la siguiente:

Doy  No doy

Mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

<b>FIRMA DEL PACIENTE:</b>	<b>FIRMA DEL INVESTIGADOR:</b>
<b>NOMBRE:</b>	<b>NOMBRE:</b>
<b>FECHA:</b>	<b>FECHA:</b>

Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL) - Fundación FISABIO  
Planta 5ª. Centro de Diagnóstico. Hospital General Universitario de Alicante. Avda. Pintor Baeza, 12. 03010, Alicante. CIF: G98073760

Generalitat Valenciana – Conselleria de Sanidad Universal y Salud Pública  
Hospital General Universitario de Alicante  
Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL) – Fundación FISABIO


---

**REVOCAION DEL CONSENTIMIENTO**

Yo, D/Dña XXX revoco el consentimiento prestado en fecha y no deseo continuar participando en el estudio "XXX".

<b>FIRMA DEL PACIENTE:</b>	<b>FIRMA DEL INVESTIGADOR:</b>
<b>NOMBRE:</b>	<b>NOMBRE:</b>
<b>FECHA:</b>	<b>FECHA:</b>

## Documento informativo al paciente y consentimiento informado donación



GENERALITAT VALENCIANA  
CONSELLERIA DE SANITAT

AGÈNCIA VALENCIANA DE SALUT

### Consentimiento informado para la donación voluntaria de muestras biológicas a investigación

RED VALENCIANA DE BIOBANCOS

#### 1. Identificación y descripción del procedimiento

El procedimiento que se le propone consiste en donar voluntariamente muestra/s biológica/s de **SANGRE**. Estas muestras biológicas se almacenarán en un biobanco y sólo podrán ser utilizadas en proyectos de investigación biomédica que previamente sean aprobados por los comités externos, ético y científico, a los que está adscrito el biobanco.

Estas muestras serán anonimizadas, esto es, que no podrán vincularse a su persona por quedar irreversiblemente disociados de sus datos personales.

#### 2. Objetivo

La finalidad del estudio es recoger sangre con la finalidad de poder realizar proyectos de investigación biomédica o diagnósticos. Los resultados de dichos estudios de investigación pueden derivar en el descubrimiento de nuevos métodos para el mejor diagnóstico de las enfermedades y de nuevas medicinas para tratarlas.

#### 3. Condiciones de la donación

Usted no recibirá ninguna compensación económica ni otros beneficios materiales por donar sus muestras. Sin embargo, si las investigaciones que se realicen tuvieran éxito, podrán ayudar en el futuro a pacientes que tienen su misma enfermedad o padecen otras enfermedades similares.

Las muestras de los tejidos y/o sangre que usted dona no serán vendidas o distribuidas a terceros con fines comerciales, pero los costes de obtención, conservación y envío de las muestras se repercutirán, sin ánimo de lucro, a quienes las utilicen.

Se solicita su autorización para emplear sangre procedente de su organismo que no puede ser retornada a su cuerpo y que se desecha al contenedor de residuos biológicos para su destrucción.

#### 4. Consecuencias previsibles de su no realización

La decisión de donar sus muestras es totalmente voluntaria, pudiendo negarse a donarlas sin tener que dar ninguna explicación y sin que ello tenga ninguna repercusión en la atención médica que recibe en el centro.

#### 5. Riesgos

La donación de sangre carece de efectos secundarios; porque se emplea sangre que tras la cirugía cardíaca a la que va ser sometida con asistencia de bomba extracorpórea, no puede ser retornada a su organismo y que habitualmente es desechada.

Consentimiento informado para la donación voluntaria de muestras biológicas anonimizada



Consentimiento informado para la donación voluntaria de muestras biológicas anonimizadas para investigación

**DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO** EJEMPLAR PARA EL INVESTIGADOR

D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad, con domicilio en \_\_\_\_\_  
 DNI \_\_\_\_\_ y nº de SIP \_\_\_\_\_  
 D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad, con domicilio en \_\_\_\_\_  
 DNI \_\_\_\_\_ en calidad de representante (en caso de minoría legal o incapacidad) del paciente con DNI \_\_\_\_\_ y nº de SIP \_\_\_\_\_.

**DECLARO**  
 He leído la hoja de información que se me ha entregado.  
 He sido informado por el profesional de salud abajo mencionado sobre la donación de muestras a un biobanco.  
 He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo.  
 He podido realizar observaciones y me han sido aclaradas todas las dudas que he planteado.  
 He comprendido que la donación de muestras a un biobanco es voluntaria y puedo revocar mi consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.  
 Que libre y voluntariamente acepto la realización de la donación voluntaria de:  
 Una/s muestra/s de \_\_\_\_\_  
 Que puedo incluir restricciones sobre el uso de las mismas: \_\_\_\_\_

**CONSIENTO**  
 Que el Hospital u otros centros de investigación, públicos o privados, utilicen mis datos y las muestras donadas en las condiciones establecidas en la hoja de información.  
 Que el ente coordinador de la Red Valenciana de Biobancos pueda acceder a mis datos, en la medida que sea necesario y manteniendo siempre su confidencialidad.  
 A completar por el donante:  
 Fdo.: D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_  
 DNI: \_\_\_\_\_  
 A completar por el profesional de salud  
 Fdo.: D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_  
 DNI: \_\_\_\_\_  
 Colegiado N.º: \_\_\_\_\_  
 En condición de: \_\_\_\_\_  
 En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_



**DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO** EJEMPLAR PARA EL DONANTE

D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad, con domicilio en \_\_\_\_\_  
 DNI \_\_\_\_\_ y nº de SIP \_\_\_\_\_  
 D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad, con domicilio en \_\_\_\_\_  
 DNI \_\_\_\_\_ en calidad de representante (en caso de minoría legal o incapacidad) del paciente con DNI \_\_\_\_\_ y nº de SIP \_\_\_\_\_.

**DECLARO**  
 He leído la hoja de información que se me ha entregado.  
 He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo.  
 He podido realizar observaciones y me han sido aclaradas todas las dudas que he planteado.  
 He comprendido que la donación de muestras \_\_\_\_\_ es voluntaria y puedo revocar mi consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.  
 Que libre y voluntariamente acepto la realización de la donación voluntaria de:  
 Una/s muestra/s de \_\_\_\_\_  
 Que puedo incluir restricciones sobre el uso de las mismas: \_\_\_\_\_

**CONSIENTO**  
 Que el Hospital u otros centros de investigación, públicos o privados, utilicen mis datos y las muestras donadas en las condiciones establecidas en la hoja de información.  
 A completar por el donante:  
 Fdo.: D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_  
 DNI: \_\_\_\_\_  
 A completar por el profesional de salud  
 Fdo.: D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_  
 DNI: \_\_\_\_\_  
 Colegiado N.º: \_\_\_\_\_  
 En condición de: \_\_\_\_\_  
 En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_



Consentimiento informado para la donación voluntaria de muestras biológicas anonimizadas

Consentimiento informado para la donación voluntaria de muestras biológicas anonimizadas

**DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO** EJEMPLAR PARA EL CENTRO

D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad, con domicilio en \_\_\_\_\_  
 DNI \_\_\_\_\_ y nº de SIP \_\_\_\_\_  
 D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad, con domicilio en \_\_\_\_\_  
 DNI \_\_\_\_\_ en calidad de representante (en caso de minoría legal o incapacidad) del paciente con DNI \_\_\_\_\_ y nº de SIP \_\_\_\_\_.

**DECLARO**  
 He leído la hoja de información que se me ha entregado.  
 He sido informado por el profesional de salud abajo mencionado sobre la donación de muestras a un biobanco.  
 He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo.  
 Que libre y voluntariamente acepto la realización de la donación voluntaria de:  
 Una/s muestra/s de \_\_\_\_\_  
 Que puedo incluir restricciones sobre el uso de las mismas: \_\_\_\_\_

**CONSIENTO**  
 Que el Hospital u otros centros de investigación, públicos o privados, utilicen mis datos y las muestras donadas en las condiciones establecidas en la hoja de información.  
 Que el ente coordinador de la Red Valenciana de Biobancos pueda acceder a mis datos, en la medida que sea necesario y manteniendo siempre su confidencialidad.  
 A completar por el donante:  
 Fdo.: D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_  
 DNI: \_\_\_\_\_  
 A completar por el profesional de salud  
 Fdo.: D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_  
 DNI: \_\_\_\_\_  
 Colegiado N.º: \_\_\_\_\_  
 En condición de: \_\_\_\_\_  
 En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_



**Revocación del consentimiento**  
 Revoco el consentimiento prestado en fecha \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_, y no deseo proseguir la donación voluntaria que doy con esta fecha por finalizada.  
 A completar por el donante:  
 Fdo.: D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_  
 DNI: \_\_\_\_\_  
 A completar por el profesional de salud  
 Fdo.: D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_  
 DNI: \_\_\_\_\_  
 Colegiado N.º: \_\_\_\_\_  
 En condición de: \_\_\_\_\_  
 En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_



## ANEXO B

## Memoria actividad Servicio de Cirugía Vascular y Cardíaca. HGUA. Año 2017

<b>SERVICIO DE CIRUGÍA VASCULAR</b>			
<b>ACTIVIDAD HOSPITALARIA</b>			
<b>HOSPITALIZACIÓN CIRUGÍA VASCULAR</b>	<b>2017</b>	<b>2016</b>	<b>DIF17-16</b>
Camas	33	31	1
<b>Ingresos totales</b>	<b>813</b>	<b>772</b>	<b>41</b>
<i>Urgentes</i>	<i>524</i>	<i>492</i>	<i>32</i>
<i>Programados</i>	<i>169</i>	<i>175</i>	<i>-6</i>
<i>Ing.Internos</i>	<i>120</i>	<i>105</i>	<i>15</i>
Estancias	9.617	9.349	268
Altas totales	813	772	41
Interconsultas	221	161	60
<b>Estancia media</b>	<b>11,83</b>	<b>12,11</b>	<b>-0,28</b>
Índice ocupación	81,07	81,74	-0,67
Mortalidad gral.	4,55	5,31	-0,76
Estancias/día	26,35	25,54	0,80
<b>ACTIVIDAD QUIRÚRGICA</b>			
<b>TOTAL INTERVENCIONES QUIRÚRGICAS</b>	<b>2017</b>	<b>2016</b>	<b>DIF17-16</b>
Urgentes	82	68	14
Programadas	779	633	146
<b>INTERVENCIONES TOTALES</b>	<b>861</b>	<b>701</b>	<b>160</b>
Anestesia general	774	619	155
Anestesia local	87	82	5



**SERVICIO DE CIRUGÍA CARDIACA**
**ACTIVIDAD HOSPITALARIA**

HOSPITALIZACIÓN CIRUGÍA CARDIACA	2017	2016	DIF17-16
Camas	14	14	0
<b>Ingresos totales</b>	<b>550</b>	<b>552</b>	<b>-2</b>
<i>Urgentes</i>	10	20	-10
<i>Programados</i>	217	221	-4
<i>Ing.Internos</i>	323	311	12
Estancias	2.452	2.412	40
Altas totales	551	552	-1
Interconsultas	16	9	7
<b>Estancia media</b>	<b>4,46</b>	<b>4,37</b>	<b>0,09</b>
Índice ocupación	47,98	47,07	0,91
Mortalidad gral.	0,54	0,54	0,00
Estancias/día	6,72	6,59	0,13

**ACTIVIDAD QUIRÚRGICA**

TOTAL INTERVENCIONES QUIRÚRGICAS	2017	2016	DIF17-16
Urgentes	43	52	-9
Programadas	259	256	3
<b>INTERVENCIONES TOTALES</b>	<b>302</b>	<b>308</b>	<b>-6</b>
Anestesia general	297	305	-8
Anestesia local	5	3	2