



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

RODRIGO ALEXANDRE BRITO FORTES

***O uso da fluorescência 5-ALA como guia na cirurgia de ressecção dos
Gliomas***

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

ÁREA CIENTÍFICA DE NEUROCIRURGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

DR. JOSÉ LUÍS MONTEIRO ALVES

PROF. DOUTOR MARCOS BARBOSA

ABRIL 2021

A maneira de dar sentido à nossa vida é dedica-la a amar os outros,

Dedicarmo-nos à comunidade à nossa volta

E dedicarmo-nos a criar qualquer coisa

Que nos dê um propósito e um significado

Mitch Albom

Índice Geral

1. Lista de abreviaturas	4
2. Índice de ilustrações.....	5
2.1. Tabelas	5
2.2. Gráficos	5
2.3. Figuras	5
3. Resumo	6
4. Abstract.....	8
5. Introdução.....	10
5.1. Perspetiva dos tumores cerebrais	10
5.2. Perspetiva fotodinâmica	11
6. Material e Método	13
7. Resultados.....	14
8. Discussão.....	16
8.1. Metabolismo e mecanismos bioquímicos do 5-ALA.....	16
8.2. Administração e dose do ácido-5-aminolevulinico	18
8.3. Detecção da fluorescência de PpIX	19
8.4. Fluorescência e resseção de acordo com o grau do tumor	20
8.5. Procedimento pré-cirúrgico e cirúrgico	22
8.6. Extensão da resseção tumoral	25
8.7. Limitações da fluorescência 5-ALA e falsos-positivos	28
8.8. Limitações da fluorescência 5-ALA e Falsos-negativos.....	28
8.9. Fluorescência 5-ALA e outras ferramentas de orientação cirúrgica	29
8.10. Morbilidade e Segurança.....	32
8.11. Futuras perspetivas do 5-ALA no tratamento do cancro	34
9. Conclusão.....	38
10. Anexos	40
11. Agradecimentos.....	41
12. Referências Bibliográficas.....	42

1. Lista de abreviaturas

5-ALA	Ácido 5-aminolevulínico
BHE	Barreira Hematoencefálica
DN	Défices neurológicos
DTI	<i>Diffusion Tensor Imaging</i>
GBM	Glioblastoma
HGG	<i>High-Grade Glioma</i> (Glioma de alto grau)
ICG	<i>Indocyanine green</i> (Indocianina verde)
KPS	<i>Karnofsky Performance Scale</i>
NIH-SS	<i>National Institutes of Health Stroke Scale</i>
OMS	Organização Mundial Da Saúde
PET	<i>Positron emission tomography</i> (Tomografia de emissão de positrões)
PpIX	Protoporfirina IX
QV	Qualidade de vida
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMNf	Ressonância magnética nuclear funcional
RMNi	Ressonância magnética nuclear intraoperatória
VPN	Valor preditivo negativo

2. Índice de Ilustrações

2.1. Tabelas

Tabela 1 - Ensaios clínicos incluídos neste artigo.....	14
Tabela 2 - Estudos prospetivos recentes que avaliaram a utilidade da ressecção guiada por 5-ALA de gliomas malignos.	22
Tabela 3 - Estudos da extensão da ressecção após cirurgia guiada por fluorescência de 5-ALA em gliomas malignos.....	28
Tabela 4 - Estudos sobre efeitos adversos causados pelo procedimento cirúrgico com recurso a fluorescência guiada por 5-ALA.....	34
Tabela 5 - Cirurgia guiada por fluorescência baseada em 5-ALA – perspectivas de aprimoramento.....	36

2.2. Gráficos

Gráfico 1 - Sobrevida livre de progressão por grupo cirúrgico.	26
---	----

2.3. Figuras

Figura 1 - Vias do metabolismo do ácido aminolevulínico (ALA) para a molécula fluorescente protoporfirina IX (PpIX).....	17
Figura 2 - Mecanismo de fluorescência do tumor por 5-ALA.	17
Figura 3 - Visualização do tecido tumoral de um glioma maligno (OMS grau IV) usando 5-ALA durante a ressecção tumoral guiada por fluorescência.	20
Figura 4 - Fluorescência heterogénea intratumoral.....	24

3. Resumo

Contextualização: Os tumores da série glial representam 80% de todos os tumores cerebrais malignos primários. Têm um mau prognóstico e são causa de importante morbidade e mortalidade. Nas últimas décadas, o tratamento cirúrgico desses tumores, quando viável, tem recorrido a fluorescência 5-ALA como guia na cirurgia de ressecção dos gliomas. Esta técnica permite o delineamento intraoperatório das margens tumorais, o que maximiza a extensão da ressecção.

Objetivo: Este artigo de revisão tem como propósito oferecer uma visão abrangente sobre o estado atual, o significado clínico, a eficácia, a segurança, as limitações e as perspectivas futuras da cirurgia guiada por fluorescência baseada em 5-ALA.

Material e Métodos: As pesquisas na base de dados online *PubMed*, recorrendo a palavras-chave, permitiram selecionar artigos publicados nos últimos 15 anos assim como outros suplementares de interesse. Os tipos de estudo presentes nas referências bibliográficas englobam sobretudo artigos de revisão e meta-análises.

Resultados: A pesquisa bibliográfica identificou 257 artigos. Foram excluídas 223 publicações com base no título e na avaliação do resumo, tipo de estudo e população do estudo. O texto completo dos 34 artigos restantes foi analisado, levando à exclusão de 13 artigos, tratando-se de publicações com carácter de revisão narrativa demonstrando abordagens idênticas.

Discussão e Conclusão: A acumulação de protoporfirina fluorescente IX apresenta alta seletividade tumoral. O *brainshift* não constitui ocorrência de relevo. Por consequência, verifica-se alta sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo. A utilização do 5-ALA permite aos neurocirurgiões atingir uma taxa sobejamente maior de ressecções completas de gliomas malignos em comparação com as ressecções convencionais sem recurso a fluorescência. A existência de défices transitórios da função neurológica no período pós-cirúrgico a curto prazo é contrabalançada por benefícios a longo prazo, tendo especial utilidade na ressecção de glioma de alto grau. O investimento no incremento da fluorescência e na melhoria dos equipamentos pode conferir melhores resultados futuros. Embora a fluorescência 5-ALA contribua para melhorar a cirurgia de

resseção dos gliomas, ainda existem algumas limitações. Melhorar a sensibilidade dessa técnica deve ser um dos objetivos principais. O uso de 5-ALA na Neurocirurgia é uma nova ferramenta a fim de maximizar ressecções tumorais seguras e melhorar a amostragem de tecido para uma classificação precisa do glioma.

Palavras-Chave: Glioma Maligno; Ácido 5-aminolevulínico (5-ALA); Ressecção guiada por fluorescência; Extensão da ressecção; Resultados; Segurança.

4. Abstract

Background: Gliomas represent 80% of all primary malignant brain tumors. Despite being relatively rare, they have a poor prognosis and are the cause of significant morbidity and mortality. In the last decades, the surgical treatment of these tumors, when feasible, has been done using 5-aminolevulinic acid (5-ALA) to produce guiding fluorescence. This technique allows the intraoperative delineation of the tumor margins, which maximizes the extension of the resection.

Aim: This review article aims to provide a comprehensive overview of the current status, clinical meaning, effectiveness, safety, limitations and perspectives of 5-ALA-based fluorescence-guided surgery.

Material and Methods: Searches in PubMed online database, using keywords, allowed selecting articles published in the last 15 years as well as supplementary ones of interest. The types of studies present in the bibliographic references include review articles and meta-analyzes.

Results: The literature search identified 257 articles. 223 publications were excluded based on the title and evaluation of the abstract, type of study and study population. The complete text of the remaining 34 articles was analyzed, leading to the exclusion of 13 articles, in the case of publications with a narrative review character showing identical approaches.

Discussion and Conclusion: The accumulation of fluorescent protoporphyrin IX has high tumor selectivity. Brainshift is not a relevant occurrence. Consequently, there is high sensitivity, specificity and positive predictive value. It allows neurosurgeons to achieve a significantly higher rate of complete resections of malignant gliomas compared to conventional white light resections. The existence of transient deficits in neurological function in the short-term post-surgical period are counterbalanced by long-term benefits. It has a special virtue in the resection of high-grade glioma compared to low-grade glioma. The investment in increasing fluorescence and improving equipment can provide better future results. Although 5-ALA fluorescence contributes to improving glioma resection surgery, there are still some limitations. Improving the sensitivity of

this technique should be one objective. The use of 5-ALA in Neurosurgery is a new tool to maximize safe tumor resections and improve tissue sampling for accurate glioma classification.

Key words: Malignant Glioma; 5-Aminolevulinic acid (5-ALA); Fluorescence guided resection; Extension of resection; Outcomes; Safety.

5. Introdução

5.1. Perspetiva dos tumores cerebrais

Os tumores cerebrais representam um grupo heterogéneo de neoplasias que surgem no sistema nervoso central. Depois da leucemia, os tumores do sistema nervoso são o segundo tipo mais comum de malignidade pediátrica, responsáveis por aproximadamente 27% de todas as neoplasias em crianças e jovens com menos de 15 anos de idade. Já nos adultos com tumores cerebrais malignos, a incidência é menor. Representam aproximadamente 2% de todas as neoplasias, sendo que a incidência tende a aumentar com a idade do paciente e diminui após os 75 anos.^{1,2}

A Organização Mundial da Saúde (OMS) descreve um total de 120 tumores diferentes do sistema nervoso central (SNC), na mais recente classificação. Entre os tumores primários mais comuns encontramos meningiomas (36%), gliomas (29%), tumores da hipófise (14%), neuromas do acústico (5%) e linfomas (2%). Os tumores cerebrais secundários representam os tumores cerebrais mais comuns nos adultos, com uma incidência estimada de 200.000 pacientes por ano nos Estados Unidos, ocorrendo em 20-40% dos casos de neoplasias diagnosticadas.¹⁻³

Os gliomas são tumores com origem nas células da glia e apresentam um comportamento difusamente infiltrativo que afeta o tecido cerebral circundante.^{4,5} São de especial importância na prática clínica, pois representam aproximadamente 30% de todas as neoplasias cerebrais primárias e 80% de todos os tumores cerebrais malignos primários. Os gliomas de infiltração difusa representam, portanto, o tipo de glioma mais comum.¹⁻³

Com base na histopatologia os gliomas difusos podem ser classificados em diferentes subtipos e graus. Basicamente, os tipos de células que fazem parte da base de constituição dos gliomas são astrócitos, oligodendrócitos, ependimócitos ou mistos (astrócitos e oligodendrócitos). O astrocitoma é o tipo mais comum de glioma (representa 20% dos tumores cerebrais). Eles podem ser encapsulados, preservando fronteiras claras entre as células normais e tumorais, ou infiltrativos, indicando grau avançado. Os tumores de baixo grau são comuns em crianças, enquanto que tumores de alto grau são comuns em adultos jovens e pacientes mais velhos. Já os

oligodendrogliomas são menos infiltrativos e mais comuns em adultos. Em contraponto, os ependimomas são comuns na população de pacientes pediátricos.^{2,5}

De acordo com a OMS, os gliomas são classificados em grau I a IV.² A base dessa classificação é a presença de atipia nuclear (grau II e superior), atividade mitótica (grau III e superior) e necrose ou proliferação microvascular (grau IV) no exame histopatológico.^{4,5} A mais recente classificação da OMS tem em conta marcadores moleculares e genéticos, com repercussão prognóstica e terapêutica.²

Os glioblastomas (grau IV) estão entre os tumores sólidos com as maiores taxas de recorrência, pior prognóstico e menos opções terapêuticas. Constituem um tipo de astrocitoma, representando praticamente metade de todos os tumores cerebrais malignos. O tratamento tipo consiste em cirurgia de remoção completa, se viável, seguida de quimioterapia e radioterapia. O tempo médio de sobrevida global para o glioblastoma é de apenas 15 meses. O sucesso da intervenção cirúrgica, apesar de ser terapêutica de 1ª linha, é limitado devido ao crescimento infiltrativo do tumor e a impossibilidade de ressecção com ampla margem de segurança.⁶

Este tipo de ressecção, recorrendo à cirurgia convencional, é apenas praticável em menos de 30% dos gliomas diagnosticados por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) com uso de contraste.⁷ A resistência a terapia instituída e os esperados efeitos secundários constituem as limitações da quimioterapia e da radioterapia. Desta forma, urge a necessidade de novas modalidades que melhorem o resultado clínico do tratamento do glioma maligno.⁸ O espectro das técnicas abarca a RMN intraoperatória, a ecografia intraoperatória, a Tomografia Computorizada intraoperatória e a cirurgia guiada por fluorescência.⁸⁻¹³

5.2. Perspetiva fotodinâmica

A dificuldade em discernir o tumor do tecido cerebral normal adjacente é uma limitação significativa, o que torna a ressecção completa do tumor com contraste algo limitada a uma minoria dos pacientes. Como forma de suplantar esta dificuldade, a cirurgia guiada por fluorescência usando ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) foi introduzida no tratamento dos gliomas malignos.^{10,14}

A ressecção de gliomas malignos guiada por fluorescência foi primeiramente posta em prática por Stummer et al. em 1998, recorrendo à utilização do pró-fármaco 5-ALA.^{15,16} Após a administração sistêmica de 5-ALA, as células convertem 5-ALA em protoporfirina IX (PpIX). Esta, numa condição fisiológica, ao unir-se ao átomo de ferro (no estado ferroso), irá completar a biossíntese do grupo heme.¹⁷ Nas células tumorais, não se podendo realizar essa conversão, acumula-se PpIX fotossensibilizadora (mais especificamente no sistema mitocondrial). O grau de rutura da barreira hematoencefálica, e uma variedade de outros fatores, como o metabolismo celular aumentado e o microambiente tumoral modificado, oferecem mecanismos para essa acumulação de PpIX.^{8,10,12,18-20}

A cirurgia guiada por fluorescência usando 5-ALA foi aprovada pela Agência Médica Europeia em 2007 e em 2017 foi também aprovada pela *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos da América.^{6,19} Nessa esteira, essa técnica cirúrgica é posta em prática por muitos Departamentos de Neurocirurgia em todo o mundo, com os olhos postos numa maior sobrevida livre de progressão e sobrevida global.^{18,20}

Para provar o benefício das ressecções guiadas por fluorescência 5-ALA de gliomas malignos em comparação com as ressecções convencionais de luz branca, Stummer et al. realizaram um ensaio multicêntrico controlado randomizado de fase III, publicado em 2006.^{1,21,22} Portanto, este artigo servirá de ponto de partida, conjuntamente com outros mais atuais, para uma explanação sobre o tema.

O presente artigo de revisão tem como propósito explicitar os conceitos base desta técnica aplicada a ressecção dos gliomas malignos. Por conseguinte, serão discutidos a eficácia, os benefícios, a segurança e os riscos comportados pela técnica, tirando as ilações de acordo com a melhor evidência.

6. Material e Método

Este trabalho teve por base uma pesquisa bibliográfica utilizando a base de dados online *PubMed*. A partir da análise dos títulos e resumos das publicações, identificados por meio da estratégia de busca, foram selecionados artigos com base nas palavras-chave: *Malignant Glioma; Fluorescence Guide Surgery; 5-ALA; Complete Resection of the Contrast-Enhancing Tumor*. Os textos completos dos artigos elegíveis foram avaliados de forma independente.

Na pesquisa foram selecionados inicialmente apenas artigos publicados nos últimos 15 anos e escritos em inglês, português ou francês. Este artigo de revisão abarca artigos compreendidos entre 1998 e 2020. Alguns artigos publicados entre 1998 e 2006 foram incluídos por serem essenciais para a compreensão de outros artigos referidos. Além disto, foi feita uma pesquisa no website da Organização Mundial de Saúde (OMS) e em publicações online da *Neurosurgery, The Official Journal of the Congress of Neurological Surgeons*.

É de salientar que as referências bibliográficas existentes nos artigos encontrados na pesquisa abriram ainda mais o leque de artigos usados para a realização desta revisão científica.

7. Resultados

Após avaliação dos estudos, ensaios clínicos e artigos de revisão e meta-análises publicados até à data, foram selecionados os trabalhos mais relevantes com o intuito de fornecer uma informação mais completa sobre os temas e aprofundar a metodologia dos estudos publicados.

A pesquisa bibliográfica identificou 257 artigos compreendidos entre 1998 e 2020. Foram excluídas 223 publicações com base no título e na avaliação do resumo, tipo de estudo e população do estudo. O texto completo dos 34 artigos restantes foi analisado, levando à exclusão de 13 artigos, tratando-se de publicações com carácter de revisão narrativa demonstrando abordagens idênticas. As características dos ensaios clínicos incluídos neste artigo de revisão narrativa são elencadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Ensaios clínicos incluídos neste artigo

Autor	Publicação	Tipo de estudo	Nº de pacientes		Duração do follow-up (meses)	
			5-ALA	Controlo	5-ALA	Controlo
Stummer et al.	2006	Ensaio clínico randomizado controlado	161	161	35,4	35,4
	<p>Endpoint: Número de pacientes sem tecido tumoral residual na RMN precoce (72 horas após a cirurgia) e sobrevida livre de progressão de 6 meses conforme avaliação pela RMN.</p> <p>Conclusão: A fluorescência do tumor derivada do 5-ALA permite ressecções mais completas do tumor, levando a uma sobrevida livre de progressão melhorada em pacientes com glioma maligno.</p>					
Stummer et al.	2011	Ensaio clínico randomizado controlado	176	173	6	6
	<p>Endpoint: Determinar como a segurança do procedimento pode ser afetada pela cirurgia citoredutora com 5-ALA.</p> <p>Conclusão: Ressecções usando fluorescência 5-ALA acarretam maior risco de comprometimento temporário da função neurológica. No entanto, os riscos são maiores em pacientes com défices que não respondem aos esteróides.</p>					
Picart et al.	2016	Ensaio clínico randomizado controlado	24	27	12	12
	<p>Endpoint: Avaliar a segurança e a utilidade da cirurgia guiada por fluorescência 5-ALA em áreas eloquentes.</p>					

	Conclusão: Fluorescência de 5-ALA para glioblastoma localizado em áreas eloquentes é eficaz para melhorar a sobrevida livre de progressão. Para preservar os resultados funcionais, é necessário o uso rotineiro de mapeamento funcional intraoperatório para respeitar os limites funcionais.			
Cozzens et al.	2017	Ensaio Clínico não randomizado	19	-----
	Endpoint: Identificar a dose apropriada, a toxicidade e possíveis efeitos secundários com a utilização do 5-ALA na visualização intraoperatória. Conclusão: O uso de 5-ALA para fluorescência de tumor cerebral é seguro e eficaz na dose de 50 mg/kg. Uma toxicidade limitante de dose não foi alcançada neste estudo.			
Díez Valle et al.	2010	Ensaio Clínico não randomizado	36	-----
	Endpoint: Análise volumétrica da extensão da ressecção. Conclusão: A fluorescência produzida pelo 5-ALA é um método altamente eficiente e seguro para alcançar a ressecção segura máxima de GBM.			

8. Discussão

8.1. Metabolismo e mecanismos bioquímicos do 5-ALA

O ALA endógeno é um metabolito natural do corpo humano produzido pela via metabólica da hemoglobina. A última molécula que antecede o heme na sua via de biossíntese é a Protoporfirina IX, o que demonstra a presença natural no corpo humano do ALA e da PpIX. O ALA endógeno é formado nas mitocôndrias pela atividade da enzima ALA sintase 1 em glicina e succinil coenzima A do ciclo de Krebs. Após difundir-se para o citosol, o ALA sofre ação enzimática por meio das porfirinas intermediárias (porfobilinogénio, uroporfirogénio III, coproporfirinogénio III) antes do retorno às mitocôndrias. A partir daqui a coproporfirinogénio oxidase atua dando origem a protoporfirinogénio IX, que por sua vez sofre oxidação pela protoporfirinogénio IX oxidase, criando o precursor final do heme, a molécula fluorescente PpIX, na membrana interna mitocondrial. A ferrolactase, para a efetiva produção do grupo heme, deveria catalisar a incorporação de ferro na molécula caso houvesse continuação dessa via.^{6,8,23,24}

Contudo, as células tumorais apresentam um aumento da expressão de transportadores ABC de membrana que facilitam a entrada nas células de 5-ALA. As células tumorais são capazes de transformar 5-ALA em PpIX, mas são deficientes em ferrolactase.^{25,26} Assim, a administração oral de 5-ALA antes da cirurgia resulta na acumulação de PpIX. Além disso, a administração exógena não faz parte do controlo de feedback negativo exercido pelo heme sobre a enzima que sintetiza 5-ALA, aumentando a geração de PpIX.²⁷

O 5-ALA exógeno, administrado por via oral, é um pró-fármaco com penetração bem conseguida na barreira hematoencefálica (BHE) e na interface dos tumores cerebrais.¹⁸ A densidade celular, a atividade proliferativa das células malignas, a neovascularização e a permeabilidade da BHE também são fatores importantes que influenciam a fluorescência induzida por 5-ALA.^{6,18} O ambiente específico do tumor também afeta a função celular e a formação de PpIX. A acumulação de PpIX é aumentada pela acidose, hipoglicemia e hipertermia e diminui levemente com hipoxia.

A PpIX acumula-se maioritariamente em tumores cerebrais de alto grau numa proporção de 20:1 a 50:1 em comparação com tecido normal.²⁴

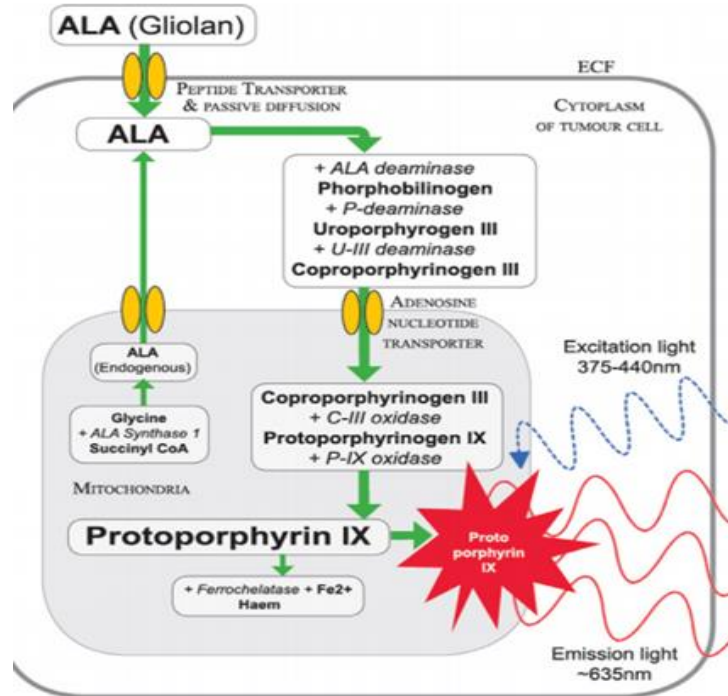


Figura 1 - Vias do metabolismo do ácido aminolevulínico (ALA) para a molécula fluorescente protoporfirina IX (PpIX). Adaptado de Colditz et al.²⁴

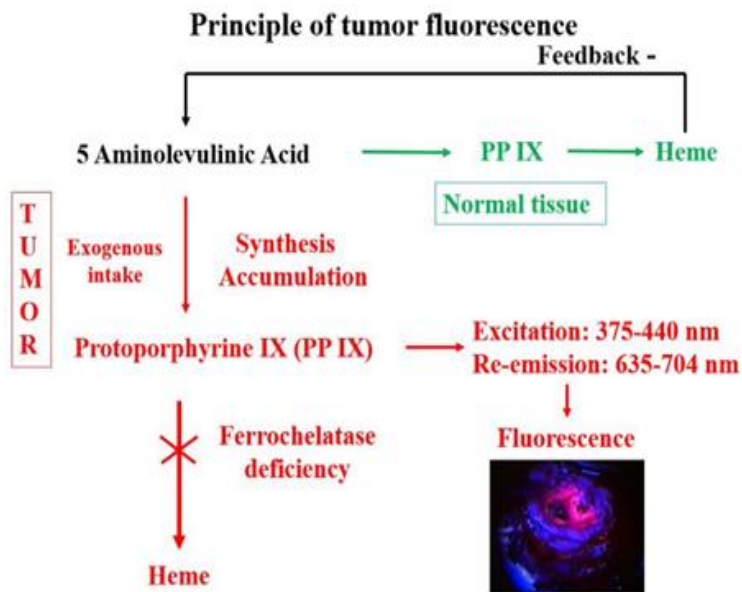


Figura 2 - Mecanismo de fluorescência do tumor por 5-ALA. Retirado de Picart et al.²⁷

8.2. Administração e dose do ácido-5-aminolevulinico

20 mg/kg de peso corporal é a dose de referência normalmente usada na administração do 5-ALA para fluorescência do tumor intracraniano. Essa dose foi estabelecida graças a ensaios de estabelecimento de dose levados a cabo pela Agência Europeia de Medicamentos. Portanto, será a melhor dose para a qualidade da fluorescência do tumor a partir da seleção das três doses testadas num estudo randomizado: 0,2, 2 e 20 mg/kg. Stummer et al. testaram a redução da dose em 21 pacientes (0,2 vs. 2 vs. 20 mg/kg).^{27,28} Com 0,2 mg/kg, nenhuma fluorescência foi induzida. O aumento proporcional no nível de PpIX plasmática ou da fluorescência do tecido não foi verificado apesar do aumento das doses acima de 20 mg/kg. O raciocínio passou por assumir que aumentos adicionais não aumentariam a concentração de PpIX no tecido e, portanto, a intensidade da fluorescência.²⁷⁻²⁹ Conseqüentemente, a dosagem ideal em termos de eficácia, aparenta ser 20 mg/kg.^{27,29,30} Nesse estudo não se conseguiu demonstrar diferenças nos efeitos secundários nas diferentes doses deste fármaco.^{20,24,31} Não se conseguiu estabelecer uma dose ideal de 5-ALA para atingir fluorescência PpIX máxima no tumor sem causar danos ao tecido cerebral são ou causar efeitos colaterais adversos.³¹

Foram realizados mais dois ensaios randomizados e um estudo prospetivo para determinar a dose mais apropriada de 5-ALA. Cozzens et al. testaram em 19 pacientes o aumento da dose em intervalos de 10 mg/kg até um máximo de 50 mg/kg. Uma percentagem de 33,3% dos pacientes apresentaram toxicidade cutânea grau I, ao serem submetidos à dose de 50mg/kg. Doses superiores a 20mg/kg diminuem a especificidade e aumentam o risco de ressecção do tecido não tumoral podendo levar a défices neurológicos e outros efeitos adversos sistémicos.^{27,31}

O tempo de administração mais amplamente proposto é 3 h antes da indução da anestesia; a fluorescência máxima é alcançada 4 h após a indução, garantindo tempo suficiente para a fluorescência ideal aquando da ressecção tumoral. A solução é ligeiramente azeda, mas geralmente bem tolerada pelos pacientes.²⁷ Para esse efeito, o ALA é dissolvido em 50mL de água potável e administrado por via oral. Stummer et al.

no entanto, relataram fluorescência 12 a 16 horas após a administração de 5-ALA com níveis residuais de fluorescência .^{1,20,24}

8.3. Detecção da fluorescência de PpIX

Com um comprimento de onda de 370-440nm, a luz azul excita a molécula de PpIX produzindo fluorescência. A partir daí, a PpIX emite luz vermelha no espectro visível com comprimento de onda entre 635-710nm.²⁴ O que é então observado pelo olho do cirurgião ou por uma câmara sensível é (I) luz azul em cerca de 450 nm emitida pela fonte de luz de excitação; (II) fluorescência verde proveniente de fluoróforos endógenos; (III) fluorescência vermelha do PpIX.^{18,24} Existe proporcionalidade direta entre a concentração de PpIX e a intensidade de fluorescência. A fluorescência de PpIX visível decai para 36% da intensidade de pico em 25 min sob luz azul e 87 min sob luz branca.^{8,24} Este fenómeno, conhecido como *photobleaching*, tem como responsável a degradação do fluoróforo por causa da exposição à luz. Este fenómeno deve ser tido em conta, pois uma exposição excessivamente prolongada à luz pode levar à perda de fluorescência nas margens cirúrgicas, onde as concentrações de PpIX são inferiores. Caso se verifique essa situação, pode-se restabelecer a fluorescência com recurso a sucção e remoção das camadas mais superficiais. A intensidade da luz de excitação diminui com a distância. Por conseguinte, de modo a otimizar os efeitos a fonte de luz deve estar próxima à cavidade. Tumores mais profundos impõem maior dificuldade na visualização, justificada pelo baixo poder de penetração da luz azul e pela interposição do coágulo sanguíneo.^{1,8,18,22,24,32}

A fim de incrementar a sensibilidade, a iluminação ambiente da sala de cirurgia deve ser reduzida desligando as lâmpadas de néon (fonte substancial de luz vermelha) e direcionando as luzes cirúrgicas para fora do campo cirúrgico. Se essas medidas não forem implementadas podem surgir falsos negativos. A intensidade da luz azul é dimensionada de forma a ser normalmente mais óbvia do que a autofluorescência verde ou qualquer luz vermelha inespecífica. O cérebro normal revela-se azul, enquanto que o tecido tumoral aparece vermelho e rosa. Fica então ao critério do neurocirurgião decidir quanto tecido adicional pode ser ressecado com segurança. Deverá ser capaz de

tomar decisões com base na conjugação de informação fornecida pelas diversas técnicas, bem como a clínica e imagiologia pré-operatória, RMN funcional, PET e eletrofisiologia.^{1,18,22,24}

A imagem de fluorescência baseada em 5-ALA difere de todos os outros métodos baseados em fluorescência (recorrendo à indocianina verde e à fluoresceína de sódio) pelo fato de que o que é aplicado ao paciente não é o fluorocromo, mas seu precursor não fluorescente.⁸

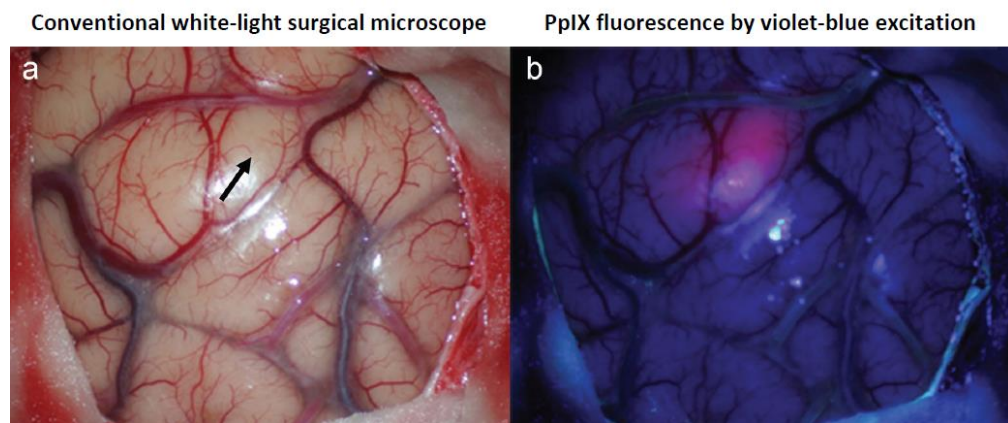


Figura 3 - Visualização do tecido tumoral de um glioma maligno (OMS grau IV) usando 5-ALA durante a ressecção tumoral guiada por fluorescência. Retirado de Submitted MS, Supervisor GW.¹

8.4. Fluorescência e ressecção de acordo com o grau do tumor

É interessante notar que não existe uma homogeneidade em termos da fluorescência observada nos gliomas. Comparativamente aos gliomas de baixo grau, os gliomas de alto grau apresentam uma acumulação muito maior de PpIX. Pela existência de áreas de maior ou menor proliferação e malignidade, observa-se heterogeneidade de fluorescência na estrutura intra-tumoral.^{6,33}

Há fatores que exercem influencia sob o *wash-out* de 5-ALA do líquido cefalorraquidiano. Este processo tem lugar nos plexos coroides por via do transportador de peptídeo 2. Constatou-se que este se encontra manifestamente reduzido nos glioblastomas fluorescentes, com níveis mais elevados nos gliomas de baixo grau face aos de alto grau.⁸

É importante ter em conta que, para produzir fluorescência suficiente, é necessário verificar-se agregação de células fluorescentes individuais de modo a atingirem uma massa crítica capaz de alcançar fluorescência visível. O uso de 5-ALA está de momento mais direccionado para as cirurgias de ressecção dos gliomas de alto grau, pois os gliomas de baixo grau não apresentam fluorescência suficiente. Porém, pesquisas mais recentes mostraram que há fluorescência microscópica visível ao microscópio confocal, o que pode auxiliar na ressecção desses tumores.³³ Assim, a emissão de fluorescência macroscopicamente visível pelo 5-ALA é rara nos gliomas de baixo grau (I e II), pelo que esta técnica é posta em prática como adjuvante de outros exames complementares como RMN ou ecografia intra-operatórias.^{33,34}

Almekkawi et al. publicaram uma revisão sistemática cujo objetivo era estudar o papel do 5-ALA na ressecção de gliomas de baixo grau e avaliar as taxas de fluorescência e o efeito na extensão da ressecção.³⁵ Um total de 12 artigos preencheram os critérios de seleção. Reuniram um total de 244 pacientes com glioma de baixo grau confirmado histologicamente e submetido a ressecção microcirúrgica. Todos os pacientes receberam 20 mg/kg de peso corporal de 5-ALA. Apenas 60 pacientes (n = 60/244; 24,5%) demonstraram fluorescência do 5-ALA intraoperatório visível. De forma sumária, pode-se dizer que o estudo demonstrou uma correlação baixa entre a fluorescência do 5-ALA e o glioma de baixo grau. Assim, avanços na tecnologia de visualização e o uso de métodos de quantificação de fluorescência padronizados poderão no futuro potenciar a visualização e a confiabilidade da fluorescência do 5-ALA na ressecção de glioma de baixo grau.³⁵

Quanto aos gliomas de alto grau (primários e recorrentes), o papel do 5-ALA como uma ferramenta de diagnóstico foi demonstrado e parece ser eficaz, independentemente de tratamentos anteriores como a radioterapia ou a quimioterapia.^{10,36} A utilidade clínica e a segurança desse pró-fármaco estão bem fundamentadas, estando principalmente indicada a sua utilização nas cirurgias de ressecção de gliomas de grau III e IV da OMS.^{6,8,10,19}

Os resultados de estudos prospetivos recentes sobre a utilidade do 5-ALA na ressecção guiada de gliomas de alto grau foram resumidos por Hadjipanayis et al. (tabela 2).¹⁰

Tabela 2 - Estudos prospetivos recentes que avaliaram a utilidade da ressecção guiada por 5-ALA de gliomas malignos. Adaptado de Hadjipanayis et al.¹⁰

Author	Year of publication	Number of patients	Tumor etiology	Sensitivity and specificity	Rate of gross total resection	Notes
Cordova et al	2016	30	GBM	-	30%	
Lau et al	2016	59	HGG	Sensitivity: 82% Specificity: 65%	-	
Teixidor et al	2016	77	HGG	-	54%	
Gessler et al	2015	32	HGG	Sensitivity: 70% Specificity: 100%	97%	5-ALA and iMRI were utilized
Yamada et al	2015			Sensitivity: 95% Specificity: 95%	52%	
Coburger et al	2014	45	HGG	Sensitivity: 85% Specificity: 85%	-	
Schucht et al	2014	72	GBM	-	73%	Tumors located adjacent to eloquent areas
Della Puppa et al	2013	31	HGG		74%	Tumors located in eloquent areas IOM and 5-ALA utilized
Schucht et al	2012	53	GBM	-	96%	Tumors were preoperatively deemed eligible for GTR
Diez Valle et al	2011	36	GBM	-	83%	
Idoate et al	2011	30	GBM	-	83%	
Panciani et al	2011	23	HGG	Sensitivity: 91% Specificity: 89%	-	

5-ALA, 5-aminolevulinic acid; GBM, glioblastoma multiforme; GTR, gross total resection; HGG, high grade glioma; iMRI, intraoperative magnetic resonance imaging; IOM, intraoperative monitoring.

Picart et al. reuniram estudos que avaliam o desempenho e as taxas de ressecção após cirurgia guiada por 5-ALA (população com gliomas de alto grau recorrente e primário), com diagnóstico de glioma de alto grau recente ou recorrente. Em jeito de conclusão, os resultados apontam para benefícios semelhantes em termos de ressecção guiada por 5-ALA em gliomas de alto grau recorrente e primário.²⁷

8.5. Procedimento pré-cirúrgico e cirúrgico

A solução oral de 5-ALA é administrada 3 horas (2-4 horas) antes da indução da anestesia. Uma hora após a ingestão do 5-ALA, ele é rapidamente absorvido pela corrente sanguínea. Contudo, os níveis plasmáticos de PpIX atingem o pico 4 horas após a administração oral, o que confere tempo para preparar a cirurgia.^{1,18}

O pré-tratamento com dexametasona (4mg 3 vezes por dia) por pelo menos 2 dias antes do procedimento neurocirúrgico era obrigatório no estudo multicêntrico de fase III realizado por Stummer et al. No entanto, de acordo com a prática clínica,

considera-se que o pré-tratamento com corticosteroides não é imprescindível para atingir o efeito de fluorescência ideal.^{1,18} O pré-tratamento com esteroides também identifica pacientes em risco de déficit neurológico após cirurgia guiada por 5-ALA. A persistência do déficit pré-operatório, apesar da administração de dexametasona, sugere que o déficit é secundário a infiltração tumoral funcional e não exclusivamente devido ao edema.²⁷ O anticorpo monoclonal anti-VEGF, bevacizumab, com a sua ação contra o fator de crescimento endotelial vascular, pode potencialmente ter um efeito semelhante ao da dexametazona.²⁴

Todos os outros procedimentos intraoperatórios para além da administração do 5-ALA decorrem da mesma forma, de acordo com a rotina da Instituição. É importante frisar que os cuidados com a luz ambiente têm de ser postos em prática. A neuronavegação representa uma vantagem para o planeamento da craniotomia e para a determinação da localização dos tumores mais profundos.^{1,6,8,24} A indução da anestesia, o posicionamento do paciente, o envolvimento e a craniotomia são realizados de acordo com as práticas rotineiras.²⁷

O procedimento cirúrgico pode comportar abordagens distintas consoante o tipo de tumor em causa, a experiência do cirurgião, disponibilidade material e técnica:

- I. Tumor pequeno, cortical e longe de áreas eloquentes – Há utilidade em inicialmente determinar os limites da corticectomia por excitação com luz azul. O objetivo será identificar a interface entre o tecido fluorescente e não fluorescente. A ressecção é realizada de forma centrípeta, da periferia ao centro do tumor, alternando entre luz branca e luz azul durante o procedimento.^{27,37}
- II. Tumor grande e/ou próximo a uma área eloquente – É o achado mais comum de se encontrar. Remove-se o tecido tumoral sólido e necrótico por ser na maioria dos casos facilmente distinguível sob luz branca³⁷. Todavia, tratando-se de um tumor residual infiltrante, não distinguível sob luz branca, a ressecção guiada por fluorescência é essencial. A ressecção progride de forma centrífuga, do centro para a periferia, alternando entre a luz branca e a azul até que todos os sinais de fluorescência tenham desaparecido.^{27,37}

- III. Alternativamente, alguns neurocirurgiões preferem iniciar a ressecção usando referências anatômicas, e de seguida usar a fluorescência na parte mais profunda da ressecção, juntamente com mapeamento cerebral intraoperatório.²⁷

O tecido necrótico geralmente não é fluorescente, enquanto que o tumor sólido apresenta fluorescência vermelha forte, ambas facilmente distinguíveis pela luz branca e não apresentam grande risco. Uma outra circunstância possível de ser encontrada pelo cirurgião é a de infiltração de tecido cerebral por células isoladas do glioma, sendo responsável por uma fluorescência rosa, menos distinta e visualizada apenas por luz azul (Fig. 4). Nas áreas eloquentes, áreas rosa fluorescentes devem ser ressecadas com cuidado e usando monitorização permanente. A fluorescência vermelha corresponde a tumor captante de contraste.^{9,27}

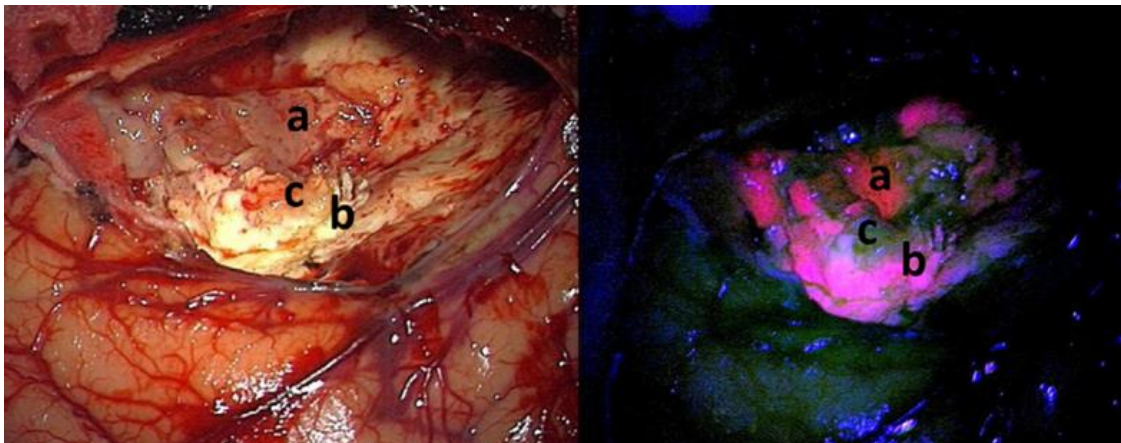


Figura 4 - Fluorescência heterogênea intratumoral. Retirado de Picart et al. Tumor sob luz branca (1) e luz azul (2). Áreas de fluorescência forte (a), áreas de fluorescência vaga (b) e áreas não fluorescentes (c).²⁷

Outras práticas importantes incluem a limpeza da cavidade cirúrgica, evitando que o sangue impeça a visualização de áreas fluorescentes; posicionar o microscópio de modo que a luz fique perpendicular à superfície de ressecção; Proximidade da fonte de luz a cavidade.²⁷

8.6. Extensão da ressecção tumoral

Uma ressecção máxima segura constitui o escopo principal da cirurgia para os gliomas malignos. Entretanto, esta nem sempre é praticável, dependendo de fatores como a localização do tumor (bem como a sua posição relativa a áreas eloquentes e tratos motores), a dimensão do tumor, o uso da monitorização e mapeamento intraoperatório e a experiência do neurocirurgião.^{1,8,9,18}

O padrão de crescimento infiltrativo dos gliomas malignos (OMS grau III e IV) obriga a uma análise mais parcimoniosa em relação a possibilidade de ressecção completa, podendo esta não ser viável. Nos últimos anos, vários estudos mostraram que há evidências crescentes de que a ressecção máxima de tumores malignos prolongam a sobrevida global.^{38,39} A cirurgia não só apresenta um papel benéfico na sobrevida como também pode ter efeito potenciador da eficácia das terapêuticas adjuvantes. Portanto, o melhor prognóstico é oferecido pela ressecção tumoral completa conjuntamente com radioterapia e quimioterapia adjuvante.^{40,41}

A intensidade de fluorescência 5-ALA e a compreensão da relação entre o tumor e a anatomia cerebral compõem a pedra angular da orientação da ressecção. Reconhece-se que a luz de excitação não apresenta capacidade de penetrar o tecido cerebral, devendo assim o tecido tumoral ser superficial.^{1,24}

O estudo inicial de Stummer et al. constitui um ensaio multicêntrico de fase III cujos resultados permitiram a aprovação na Europa do uso da fluorescência 5-ALA nas cirurgias de ressecção dos gliomas.^{21,22} Trata-se da maior série ainda publicada, avaliando a confiabilidade da imagem PpIX para glioma maligno, com a administração do 5-ALA a 139 pacientes do estudo.^{8,21} 322 pacientes com idades entre 23-73 anos com suspeita de glioma maligno passível de ressecção completa do tumor foram aleatoriamente designados para administração de 20 mg/kg de 5-ALA para ressecção guiada por fluorescência (n = 161) ou para microcirurgia convencional com luz branca (n = 161). Pacientes com achados histológicos e radiológicos inelegíveis foram excluídos.²¹

Segundo o estudo, a ressecção completa aumentou de 36% (luz branca) para 65% (5-ALA) e a sobrevida livre de progressão em 6 meses aumentou de 21% (luz branca)

para 41% (5-ALA). Apesar de não ter sido o *end-point* primário, relativamente à sobrevida global, o estudo revelou que o incremento não foi estatisticamente significativo. A diferença na sobrevida só era significativa considerando a comparação entre os pacientes submetido à ressecção completas com pacientes com realce de contraste residual. Os grupos não diferiram na frequência de eventos adversos graves ou eventos adversos em qualquer classe de sistema de órgãos relatados dentro de 7 dias após a cirurgia. Portanto, a fluorescência do tumor derivada do 5-ALA permite ressecções mais completas do tumor, levando a uma melhor sobrevida livre de progressão em pacientes com glioma maligno.^{8,21}

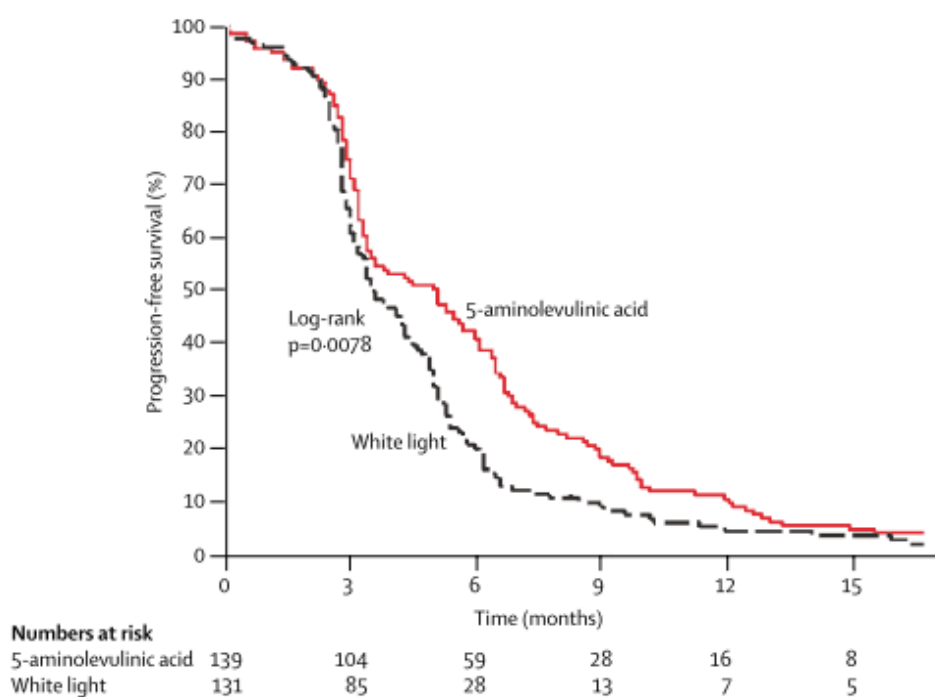


Gráfico 1 - Sobrevida livre de progressão por grupo cirúrgico. Retirado de Stummer et al.²¹

Hoje, com as novas técnicas, taxas mais elevadas de ressecções completas são geralmente relatadas, variando de 73% para tumores localizados em regiões cerebrais eloquentes a 89% em pacientes não selecionados (em Centros de referência). A familiaridade dos neurocirurgiões com as novas técnicas e a combinação com a

monitorização e mapeamento cortical são dois fatores preponderantes para esses resultados.^{18,22,42}

É consensual que informações obtidas através de imagens pré-operatórias, ressonância magnética funcional, PET e eletrofisiologia potenciam a boa prática do uso da fluorescência 5-ALA. O conhecimento neuroanatômico e topográfico das funções neurocognitivas são a base de uma ressecção mais segura. Embora o 5-ALA possa tornar evidente o padrão digitiforme de disseminação do glioma, tal não significa que todos os tumores são passíveis de serem ressecados.^{24,43}

Num outro estudo publicado em 2017, Picart et al., reuniram cinquenta e um pacientes com glioblastoma localizado numa área eloquente, dos quais 24 pacientes operados com 5-ALA (grupo 5-ALA) e 27 pacientes operados sob luz branca (grupo controle).⁹ A extensão da ressecção não variou significativamente entre os grupos ($P = 0,280$). A sobrevida global não variou significativamente entre os grupos ($P = 0,080$), mas a sobrevida livre de progressão foi significativamente maior no grupo 5-ALA do que no grupo controle ($P = 0,020$). A sobrevida livre de progressão em 12 meses foi significativamente maior no grupo 5-ALA (60%) do que no grupo controle (21%; $P = 0,006$). Na análise multivariada, o 5-ALA foi um fator prognóstico independente associado à sobrevida livre de progressão ($P = 0,030$). Portanto, a cirurgia guiada por fluorescência de 5-ALA para glioblastoma localizado em áreas eloquentes mostrou-se eficaz para melhorar a sobrevida livre de progressão.⁹

Diez Valle et al., após uma análise de volumes tumorais removidos cirurgicamente em 36 pacientes com glioblastoma não selecionados usando 5-ALA, relatou remoção de mais de 98% do volume tumoral em todos os casos.^{17,43}

Hadjipanayis et al. reúnem na tabela 3 uma visão global dos estudos na literatura sobre a extensão da ressecção com 5-ALA de gliomas malignos até então.¹⁸

Tabela 3 - Estudos da extensão da ressecção após cirurgia guiada por fluorescência de 5-ALA em gliomas malignos. Retirado em Hadjipanayis et al.¹⁸

Publication	n Patients	Study Population	Included Tumor Entities	Newly Diagnosed/Recurrent Tumors	Complete Resection of Contrast-Enhancing Tumor (%)		Volumetric Analysis
					5-ALA Resection	Control Group	
Schucht et al ⁵² (2014)	67	Eloquent tumors	GBM	Newly + recurrent	73	—	—
Della Puppa et al ⁵⁴ (2013)	31	Eloquent tumors	HGG	Newly + recurrent	74	—	—
Schucht et al ⁵³ (2012)	53	Unselected tumors	GBM	Newly + recurrent	89	—	—
Diez Valle et al ¹⁸ (2011)	36	Unselected tumors	GBM	Newly + recurrent	83	—	Resection of >98% tumor volume in all cases
Stummer et al ⁴ (2006)	5-ALA group: 139 Control group: 131	Unselected tumors	HGG	Newly	65	36	—
Stummer et al ³ (2000)	52	Unselected tumors	GBM	Newly + recurrent	63	—	—

⁵-ALA, 5-aminolevulinic acid; GBM, glioblastoma; HGG, high-grade glioma (WHO grade III + IV).

8.7. Limitações da fluorescência 5-ALA e falsos-positivos

É crucial que uma acumulação de PpIX nas células malignas se traduza em um elevado valor preditivo positivo. Essa acumulação não deve ser encontrada no cérebro normal, a qual iria implicar uma maior taxa de falsos-positivos. De facto, são raros os casos relatados onde a fluorescência induzida por 5-ALA fez-se num tecido são:

- a) Em tecidos são que circundam a cavidade de ressecção imediatamente vizinhas às células tumorais. ^{8,10,18}
- b) Em pacientes com gliomas malignos recorrentes que completaram terapias adjuvantes anteriores. ^{8,10,18}

8.8. Limitações da fluorescência 5-ALA e falsos-negativos

Um elevado valor preditivo negativo é tido como garantia de que todas as células malignas tenham realmente acumulado PpIX. Porém, não são muito bem compreendidos os mecanismos que levam a acumulação preferencial de PpIX em células malignas face às células normais do mesmo tipo. A base multifatorial para este fenómeno faz com que os principais fatores sejam dependentes do tecido cerebral, do tipo de célula e das alterações genéticas encontradas nas células malignas. ^{6,8,18}

A circunstância do tecido tumoral de glioma maligno estar presente e não ser visível pela fluorescência induzida por 5-ALA pode ser explicada pelos seguintes pontos:

- a) Nas regiões com infiltração celular maligna de baixa densidade o valor preditivo negativo da fluorescência é menor. As células tumorais dos gliomas podem ser encontradas em baixa densidade a centímetros de distância da massa tumoral pelo seu padrão de crescimento difusamente infiltrativo (lesões satélites). Apesar do menor valor preditivo negativo apresentado nos estudos, ainda assim, é uma técnica poderosa para identificação do tumor com contraste.^{8,18}
- b) As circunstâncias que interferem na visualização da fluorescência. Sangue ou tecido cerebral saliente podem obstruir a visão da cavidade de ressecção. Como forma de otimizar a inspeção das cavidades de ressecção profunda, pode-se fazer uso de um endoscópio. Tumores de localização mais profunda implicam o mesmo problema, face à incapacidade de penetração da luz de forma a produzir fluorescência detectável.^{6,8,18}
- c) O *timing* de administração do 5-ALA é essencial e, em casos limitados, pode interferir no resultado. Tendo em conta que os níveis plasmáticos atingem o pico 4 horas após administração oral de 5-ALA, a admissão de um paciente para a cirurgia menos de 2 horas após a administração oral pode justificar uma falta de fluorescência. Por outro lado, as evidências mostram que a fluorescência tumoral suficiente pode ser observada mesmo 12 horas após administração oral de 5-ALA.⁸
- d) Foi descrito que áreas necróticas de gliomas malignos apresentam escassez ou ausência de fluorescência tumoral. Coexistem no mesmo tumor áreas de baixo grau de diferenciação, áreas de elevada proliferação celular e áreas de necrose. As áreas de necrose não apresentam a mesma resposta a fluorescência 5-ALA, sendo possível a sua visualização direta com luz normal. Assim, mesmo nesses casos a fluorescência apresenta-se como técnica complementar à visualização direta.^{8,18}

8.9. Fluorescência 5-ALA e outras ferramentas de orientação cirúrgica

A ressecção completa de tumores de baixo grau continua a ser um desafio e a ressecção guiada por fluorescência intraoperatória usando 5-ALA tem sido uma opção apesar das limitações. Para identificação de fluorescência 5-ALA de células tumorais

infiltrantes dentro de uma massa tumoral de baixo grau, tem-se empregado a espectroscopia intraoperatória e sistemas baseados em microscópio. O seu papel prende-se com o refinamento de sistemas de imagem quantitativos de campo amplo (por exemplo, espectroscópico) que são mais sensíveis para a detecção de PpIX e portanto, potencialmente de grande utilidade para complementar as avaliações de campo amplo de baixa resolução convencionais da fluorescência PpIX.^{10,12}

Várias outras ferramentas de orientação intraoperatória foram desenvolvidas, entre as quais a neuronavegação, RMN intra-operatória, ecografia intra-operatória, mapeamento funcional cortical, etc. Uma descrição mais detalhada desses métodos são fornecidas no Anexo 1. Entre eles, há dois que também estão relacionados com imagens de fluorescência de campo amplo. Em contraponto com a cirúrgica guiada por fluorescência 5-ALA, esses métodos têm por base a injeção de um fluorocromo: indocianina verde (ICG) e fluoresceína de sódio, abalizados para uso intraoperatório em humanos.^{8,12} Num artigo de revisão sistemática, Senders et al. realçam que o 5-ALA é o único agente fluorescente que foi testado num ensaio clínico randomizado.⁴⁵

A fluoresceína de sódio é administrada por via endovenosa no momento da indução da anestesia ou no momento da abertura da dura-máter. Como está dentro do espectro da luz visível, a fluoresceína é usada com ou sem um filtro no microscópio cirúrgico.⁴⁵ Porém, é de uso *off-label*, espalha-se com o edema cerebral e a seletividade para tumor é questionável. A administração simultânea de 5-ALA e fluoresceína mostrou que a fluoresceína era visível no tecido cerebral normal e não detetada em algumas áreas destacadas pela fluorescência PpIX. Assim, o benefício da fluoresceína em guiar a ressecção de doenças malignas é questionado abertamente e discutido ativamente.⁴⁶⁻

48

A utilização de ICG está baseada em mecanismos de extravasamento dos vasos quando a BHE é deficiente. Apesar do fluorocromo infravermelho ser próximo e identificável, não apresenta seletividade celular.^{8,12,19} Além disso, não há captação seletiva pelas células tumorais desses fluorocromos.

Assim, esses fluorocromos demonstram um aparente benefício pela sua capacidade de delinear os bordos de uma área com BHE deficiente, apesar de não

apresentarem o mesmo o grau de seletividade que é alcançado com a fluorescência induzida por 5-ALA.^{6,10,12}

A neuronavegação é um método de orientação usada pelos neurocirurgiões na ressecção de gliomas malignos. Requer exames de RMN pré-operatórios, obtidas dias a uma semana antes da cirurgia, de modo a conhecer as relações anatómicas do tumor. Esses registros podem conter imprecisões, maximizadas pelo fenômeno de *brainshift*. Este fenômeno consiste basicamente em um desvio das estruturas cerebrais em termos de posicionamento relativo que ocorre durante a cirurgia devido a inúmeros fatores (posicionamento do doente, craniotomia, edema cerebral). Deste modo, mesmo que a alteração da localização seja de apenas alguns milímetros, há o risco da orientação estar a ser feita por um “mapa” que já está desatualizado.^{8,49}

Além de ter um custo proibitivo, a RMN intra-operatória interrompe o fluxo da cirurgia, adicionando significativo tempo ao ato cirúrgico.

Como possível complemento, a fluorescência 5-ALA fornece ao neurocirurgião informações em tempo real para diferenciar o tumor do tecido normal, independente da neuronavegação e do deslocamento do cérebro.^{11,18}

Coburger et al. publicaram uma revisão sistemática e meta-análise sobre a cirurgia guiada por fluorescência 5-ALA e ressonância magnética intraoperatória em glioma de alto grau.¹¹ Embora sejam atualmente as técnicas de imagem intraoperatórias mais importantes na cirurgia de glioma de alto grau, há poucos estudos comparativos para essas técnicas. Para discutir o impacto potencial do uso combinado de ambas as técnicas, foi levado em conta a precisão da detecção de tumor; extensão da ressecção; défices neurológicos; Qualidade de vida (QV); uso combinado de ambas as técnicas. Num universo de 169 publicações selecionadas, 81 eram elegíveis e 22 foram finalmente incluídas na revisão. Há evidências de que ambas as técnicas de imagem melhoram a taxa de ressecção total em lesões não eloquentes. 5-ALA e RMNi com contraste parecem ter um efeito suplementar na detecção de tumor. No geral, ambas as técnicas de imagem (sozinhas ou combinadas) não parecem aumentar a taxa de défices neurológicos permanente ou diminuir a QV em cirurgia de gliomas de alto grau quando usadas com monitorização/mapeamento intraoperatório.¹¹ Coburger et al. concluíram que o 5-ALA

é mais sensível mas menos específico do que RMNi na detecção de gliomas de alto grau remanescentes.^{11,27} Já Gessler et al. relatam que a RMNi será ligeiramente mais sensível, mas igualmente específica em comparação com 5-ALA^{27,50}. Embora esses achados sejam inconsistentes, parece haver um consenso geral de que a combinação de 5-ALA e RMNi irá aumentar a resseção total.²⁷

8.10. Morbidade e Segurança

Os eventos adversos inerentes a administração do 5-ALA são *per se* mínimos, geralmente transitórios e incomuns desde que sejam aplicadas medidas preventivas e respeitadas as contraindicações.⁵¹ Além da rara elevação transitória das enzimas hepáticas e da conhecida sensibilidade cutânea à luz até 24 horas após a administração, o 5-ALA parece ser seguro.⁸

Após a administração do 5-ALA recomenda-se proteger os olhos e a pele da iluminação cirúrgica, luz solar direta ou luz intensamente focada durante um período 24 a 48 horas. Usando essas medidas preventivas, nenhuma incidência de queimadura solar significativa foi relatada, mas estão descritos vários casos de rubor leve (por 2-3 dias).^{24,39} O 5-ALA não deve ser administrado a pacientes com porfiria hereditária ou adquirida, insuficiência renal ou hepática grave ou durante a gravidez.⁴⁶ Tetraciclina, sulfonamidas, fluoroquinolonas, drogas porfirinogénicas, são alguns exemplos de substâncias fototóxicas a evitar na administração concomitante com o 5-ALA. Na prática, os efeitos colaterais relatados incluem náuseas, vômitos e níveis elevados de transaminases, sem sintomas clínicos associados, 7 a 14 dias após a cirurgia. A concentração das enzimas hepáticas deve ser verificada no período pós-operatório.^{24,51}

O risco de fotossensibilização do tecido cerebral normal é em grande parte teórico, por duas razões. Primeiro, os níveis de PpIX no tecido cerebral normal são muito baixos. Em segundo lugar, o equipamento de microscopia de fluorescência usado atualmente não produz níveis de energia altos o suficiente para causar danos fototóxicos ao tecido cerebral normal.⁵¹

Numa análise suplementar do estudo randomizado de ressecção de glioma com 5-ALA (2011), Stummer et al. tentaram determinar como a segurança pode ser afetada pela cirurgia citoredutora.²² Os pacientes com gliomas malignos foram randomizados para microcirurgia guiada por fluorescência (grupo 5-ALA, n=176) ou luz branca convencional (grupo LB, n=173). As variáveis de eficácia primária foram (1) tumor com contraste na imagem de RM pós-operatória precoce e (2) sobrevida livre de progressão de 6 meses. Como *outcomes* secundários, foram usados o *score* National Institutes of Health Stroke Scale (NIH-SS) e o *score* Karnofsky Performance Scale (KPS) para avaliar a função neurológica e o estado físico geral do doente, respetivamente. A primeira variável foi avaliada ao segundo e sétimo dia pós-operatório, às 6 semanas e aos 3, 6, 9, 12, 15 e 18 meses e a segunda foi avaliada às 6 semanas e aos 3, 6, 9, 12, 15 e 18 meses.²² Os pacientes no grupo 5-ALA tiveram deterioração mais frequente no NIH-SS em 48 horas. Os pacientes com maior risco eram aqueles cujos défices não respondiam aos esteroides. Nenhuma diferença foi encontrada no *score* KPS. Um *end-point* combinado de riscos e défices neurológicos foi testado, o que demonstrou resultados em pacientes no grupo 5-ALA superiores aos dos participantes no grupo WL. Curiosamente, a incidência cumulativa de cirurgia repetida foi significativamente reduzida em pacientes submetidos a 5-ALA. Quando estratificados pela integridade da ressecção, os pacientes com ressecções incompletas apresentaram deterioração neurológica mais rápida ($p = 0,0036$).²²

Concluiu-se que o uso da fluorescência 5-ALA nas ressecções completas dos gliomas está associado a mais frequentes compromissos transitórios da função neurológica, contrabalançados por benefícios a longo prazo para os pacientes. O risco de deterioração neurológica é maior em pacientes com deficiências neurológicas preexistentes que não respondem a corticoides, provavelmente por estes défices estarem mais ligados a real infiltração cerebral por tumor do que ao edema circundante.^{48,51}

Também é importante lembrar que a cirurgia guiada por fluorescência não oferece informações funcionais. Por esse motivo, exames neurorradiológicos pré-operatórios, incluindo imagens de RMN clássicas, bem como sequências de imagens de ressonância magnética funcional (RMNf) e *Diffusion Tensor Imaging* (DTI), para visualizar

áreas funcionais e tratos de fibras são essenciais. Além disso, a cirurgia precisa ser combinada com monitorização intraoperatório para estimulação cortical e subcortical. Ao usar essa abordagem multimodal, a taxa de morbidade é muito baixa.^{42,43,51,52}

Tabela 4 - Estudos sobre efeitos adversos causados pelo procedimento cirúrgico com recurso a fluorescência guiada por 5-ALA.

Autor	Método	Resultados
Schucht et al. ⁴²	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 53 pacientes elegíveis para a ressecção completa ▪ 19 (36%) dos quais localizados em áreas cerebrais eloquentes presumidas. 	Taxa combinada de déficits motores, de fala e visuais: <ul style="list-style-type: none"> ▪ 7,5% - pacientes com ressecção completa; ▪ 12% - pacientes com tumores em áreas cerebrais funcionais.
Della Puppa et al. ⁵²	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 31 pacientes com gliomas de alto grau em áreas eloquentes intervencionados com recurso a 5-ALA 	Na avaliação de 7 dias: <ul style="list-style-type: none"> ▪ 64% dos pacientes apresentavam comprometimento neurológico Na avaliação após 3 meses, <ul style="list-style-type: none"> ▪ 3% de taxa de morbidade grave.
Picart et al. ⁹ ,	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 24 pacientes operados com 5-ALA ▪ 27 pacientes operados sob cirurgia convencional <p>Obs. Os déficits motores e de linguagem pré-operatórios foram semelhantes no grupo 5-ALA (50%, 37,5%) e no grupo controle (59,3%, 55,6%)</p>	Taxas de déficits motores e de linguagem no pós-operatório de três meses foram semelhantes: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Grupo 5-ALA (12,5%, 12,5%) ▪ Grupo controle (29,6%, 14,8%).

8.11. Futuras perspectivas do 5-ALA no tratamento do cancro

A fluorescência PpIX vem ganhando espaço na Neurocirurgia, e reconhece-se o seu valor e potencial, apesar de ainda requerer melhorias adicionais na sensibilidade e praticidade das tecnologias de deteção de fluorescência. Pensa-se que ganhará mais notoriedade assim que seja possível, por exemplo caracterizar com mais detalhes a resposta ao 5-ALA pelas diversas patologias neurocirúrgicas.²⁴

Incrementar a sensibilidade da cirurgia de ressecção dos gliomas usando fluorescência 5-ALA deve ser um objetivo. Cerca de 40% das biópsias tumorais não fluorescentes têm concentrações de PpIX > 0,1ng/mL, podendo ser detetáveis em espectroscopia *ex-vivo*. O desenvolvimento e investigação adicionais desta técnica poderiam posteriormente contribuir para otimizar a ressecção de gliomas de alto grau.^{24,27}.

É expectável um oportuno desenvolvimento nos equipamentos, nomeadamente as modificações técnicas como *charge-coupled cameras* e *multiphoton excitation fluorescence*, e assim melhorar a percepção da fluorescência PpIX intraoperatória.²⁷

Novas formas terapêuticas baseadas nesta técnica estão a ser estudadas, como por exemplo a terapia fotodinâmica, que usa as propriedades fototóxicas da PpIX. Posteriormente à ativação pela luz de um fotossensibilizador, há produção de moléculas citotóxicas, e em última instância é induzida necrose intratumoral e apoptose. Um estudo de fase I em andamento está a avaliar a viabilidade da terapia fotodinâmica intraoperatória em pacientes humanos (⁵³). Essas estratégias são promissoras e podem melhorar ou mesmo transformar o prognóstico do glioma no futuro.²⁷

O 5-ALA também está sob investigação farmacológica para integrar um método de transporte, desempenhando o papel de veículo transportador seletivo para produtos citotóxicos.²⁴

Quanto aos gliomas de baixo grau, foi demonstrado que podem ser visualizados no período intraoperatório pela aplicação de medição quantitativa da PpIX por uma sonda de fibra óptica.⁵⁴ Além disso, a visualização intraoperatória de gliomas de baixo grau com microscopia confocal usando uma sonda manual específica representa outra técnica promissora.¹⁸ A *confocal laser endomicroscopy* intra-operatória com 5-ALA, segundo Sanai et al. e Pavlov et al., poderia ser usada nos gliomas difusos de baixo grau, nos gliomas de alto grau e linfomas, de forma a otimizar a capacidade diagnóstica pela melhoria da rentabilidade das biópsias e o fornecimento de análises mais precisas das margens de ressecção.²⁷

Não obstante o reconhecimento da utilidade da fluorescência 5-ALA na cirurgia de ressecção dos gliomas, promover melhorias na técnica continua a ser uma prioridade.

Tabela 5 - Cirurgia guiada por fluorescência baseada em 5-ALA – perspectivas de aprimoramento.

1. Melhoria do desempenho da fluorescência PpIX	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Modular a síntese do heme <ul style="list-style-type: none"> ✓ Aplicação de quelantes de ferro.^{8,56} ✓ Terapêutica de diferenciação (inclui dexametasona, ácido retinóico e a vitamina D)⁸ ✓ Bloquear a via oncogénica Ras / MEK. Relatório recente de Yoshioka et al. <i>in vitro e in vivo</i> demonstra um aumento de PpIX seletivo para tumor.^{8,57} 	
2. Melhoria no equipamento e técnica	
Aumentar a acessibilidade ótica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Emprego de <i>side-view endoscopes</i> equipados com tecnologia de fluorescência, em grandes tumores profundos de grande volume.⁸
Melhorar a sensibilidade	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Medidas que visam aumentar a sensibilidade da deteção de PpIX com inerente risco de redução da especificidade.⁸ ▪ Possibilidade de incremento da sensibilidade para bloqueio da iluminação da luz azul, remoção do canal azul da imagem digital e / ou usar uma câmara mais sensível.^{8,58} ▪ Registo de espectros de fluorescência.⁸ ▪ Uso de espectroscopia nos gliomas de baixo grau (acumulação específica de PpIX em 6 das 12 lesões investigadas por Valdes et al).^{8,54}
Medição quantitativa de fluorescência	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Discriminação per-operatoria de três níveis de “qualidades” de fluorescência: forte, vaga (ou fraca) e sem fluorescência, indicando tumor sólido, zona de infiltração e cérebro normal, respetivamente.⁸ ▪ Necessidade de uma quantitativa do conteúdo de PpIX no tecido observado.^{1,8,9} ▪ Caracterização das margens tumorais através da quantificação da fluorescência emitida confirmando a potencialidade desta técnica na distinção intraoperatória dos locais de invasão tumoral ressecáveis e permitindo atingir uma maior taxa de ressecção radical.^{1,8,9}

Em relação às metástases cerebrais, a acumulação de PpIX é heterogénea.⁸ O uso de 5-ALA não identifica facilmente o tumor em aproximadamente 50% das amostras de tecido. Atualmente, a maioria das evidências para o uso de 5-ALA em metástases cerebrais é de nível III, e mais estudos em subconjuntos/genótipos específicos de metástases cerebrais deverão ser realizados para determinar a eficácia de 5-ALA neste subgrupo patológico.⁵⁹

9. Conclusão

A gama de artigos analisados no decorrer desta revisão permitiu-me assimilar a significativa importância do 5-ALA no manejo terapêutico de muitos tumores, entre os quais os gliomas. Para todos os efeitos, a técnica de fluorescência 5-ALA aplicada a ressecção dos gliomas já é realidade e projeta-se no futuro mediante novos avanços. Porém, os mecanismos subjacentes a acumulação seletiva de PpIX ainda são relativamente incompreendidos.

Esta técnica ganhou espaço pela sua simplicidade de uso, por ser relativamente económica, por não interromper a cirurgia e por ser segura (não obstante a necessidade de alguns cuidados simples com a fotossensibilização). O neurocirurgião encontra suporte de informação em tempo real para diferenciar o tumor do tecido normal, o que constitui um benefício real para o incremento da extensão da ressecção tumoral – um marcador prognóstico significativo. A ressecção tumoral completa é cada vez mais factual, na esteira de uma deteção intraoperatória de tecido de glioma maligno manifestamente melhorada, e com especial utilidade quando aliada à monitorização e mapeamento intraoperatório. Os estudos que compõem a literatura sobre o tema realçam a sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo muito elevados. Em contraponto, outras técnicas baseadas em agentes fluorescentes (por exemplo a fluoresceína), têm uma especificidade limitada pois o agente encontra-se no plasma e chega ao tumor por via de uma BHE disfuncional. A ausência do efeito de *brainshift* que ocorre na neuronavegação também é uma importante vantagem.

Em relação à segurança, os resultados a longo prazo da cirurgia guiada por 5-ALA compensam e justificam os défices neurológicos transitórios verificados a curto prazo por causa da ressecção. Os pacientes com défices neurológicos de base e que não responderam ao tratamento prévio com corticoides encontram-se sob maior risco.

O tumor fluorescente é detetado graças ao uso de um microscópio para o efeito, ou seja, adaptado com luz azul e filtro espectral. O desenvolvimento de equipamentos e *softwares* de dosimetria será um benefício óbvio, considerando a perspectiva de geração de dados preditores de resultados e capaz de identificar parâmetros novos. Os passos futuros da fluorescência 5-ALA requerem análises estruturadas e planeamento

em termos de investigação clínica, nomeadamente na perspetiva da sua aplicabilidade noutros tipos de tumores.

Em suma, embora a fluorescência 5-ALA contribua para melhorar a cirurgia de resseção dos gliomas, ainda existem algumas limitações. Consequentemente, melhorar a sensibilidade dessa técnica tem sido um dos objetivos principais, devendo ser avaliada a sua utilização caso-a-caso. Esta ferramenta terapêutica deve ser aplicada mediante os objetivos da cirurgia e mediante a decisão do neurocirurgião, sendo este o agente ideal para avaliar o momento oportuno para o seu uso, interpretar as diferentes intercorrências e suplantar eventuais limitações.

10. Anexos

10.1. Anexo 1 – Ferramentas de orientação cirúrgica diferentes da fluorescência 5-ALA. Adaptado de Stepp et al. ⁸

Surgical guidance tool	Principle	Benefit	Comment
Neuronavigation	Correlation of pre-operative imaging with the position of a pointing-pen during surgery	More pronounced resection, but limited information on prognostic impact	Sensitive to brain shift
Intra-operative MRI	Intermittent contrast MRI during surgery	Increased rate of CRET (96% vs. 68%) and longer progression free survival (218 vs. 110 days) in Ref. [101]	Cost and complexity of the procedure are limitations
Intra-operative ultrasound	Use of small ultrasound probes during resection	Economic, good for low grade gliomas, linear array transducers superior	Easily implemented, but still limited specificity, also limited in delineating small amounts of residual tumor; much experience required
Cortical functional mapping	Electrical brain stimulation by electrodes, identification of functional areas	Valuable close to eloquent areas, safety tool, increased rate of CRET possible	Combination with other tools recommended
Na-Fluorescein fluorescence	i.v. injection of fluorochrome some hours before surgery, claims to stain GBM	Easy implementation in surgical microscopes	Off-label use, spreads with edema, tumor selectivity questionable
Photosensitizer fluorescence	mTHPC, Hypericin, NPe6	Easy implementation in surgical microscopes	Off-label use, spreads with edema, tumor selectivity questionable
Optical coherence tomography	Ultrasound-like images generated by backscattered light	Adaptation to surgical endoscopes available	Experimental, high resolution but small field of view (submillimeter)
Confocal laser endomicroscopy	Confocal imaging with small flexible probes	High resolution structural information, fluorescent staining of specific targets possible	Only very superficial information, small field of view, background staining required
ICG fluorescence	Leaks from vessels in deficient BBB	Near infrared fluorochrome,	No cellular selectivity
Mass spectrometry analysis	Extracting biomolecules from tissue and extract mass fingerprint, statistical classifiers may recognize malignancy	Automated recognition of molecular markers	Experimental, direct contact required
Photoacoustics	Absorption of a light pulse generates an ultrasound signal	Can be label-free, can sense oxygenation	Tissue contact required, small field of view
Raman spectroscopy, CARS	Probing of chemical bonds, e.g., lipid and protein content	Label-free, CARS for microscopic imaging	No clinical intra-operative experience yet

11. Agradecimentos

Ao Dr. José Luís Alves pela disponibilidade, dedicação, paciência, compreensão e espírito crítico na conceptualização e realização deste trabalho.

Ao Prof. Doutor Marcos Barbosa, pelo apoio e disponibilidade concedida.

Aos meus pais, pelo dom da vida, pela educação e pelo amor incondicional.

Aos meus: Samuel, Nuno, Erivaldo, José Carlos, Ireny e Shanaya, pelas dicas, opiniões e incentivos.

Aos meus familiares, amigos, colegas e mestres, essenciais para que eu chegasse até aqui.

A Deus, pela missão de ser médico.

12. Referências Bibliográficas

1. Submitted MS, Supervisor GW. 5-Aminolevulinic Acid (5-ALA) in Brain Tumor Surgery. Published online 2013.
2. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016;131(6):803-820. doi:10.1007/s00401-016-1545-1
3. Suh JH, Kotecha R, Chao ST, Ahluwalia MS, Sahgal A, Chang EL. Current approaches to the management of brain metastases. *Nat Rev Clin Oncol.* 2020;17(5):279-299. doi:10.1038/s41571-019-0320-3
4. Liu CA, Chang CY, Hsueh KW, et al. Migration/invasion of malignant gliomas and implications for therapeutic treatment. *Int J Mol Sci.* 2018;19(4):1-24. doi:10.3390/ijms19041115
5. Wen PY, Black PM, Loeffler JS. Malignant Gliomas. *Off Pract Neurol Second Ed.* Published online 2003:1038-1048. doi:10.1016/B0-44-306557-8/50162-3
6. Yamamoto J, Kitagawa T, Miyaoka R, et al. 5-Aminolevulinic acid: Pitfalls of Fluorescence-guided resection for Malignant Gliomas and application for Malignant Glioma therapy. *J UOEH.* 2020;42(1):27-34. doi:10.7888/JUOEH.42.27
7. Eljamel S, Petersen M, Valentine R, et al. Comparison of intraoperative fluorescence and MRI image guided neuronavigation in malignant brain tumours, a prospective controlled study. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2013;10(4):356-361. doi:10.1016/j.pdpdt.2013.03.006
8. Stepp H, Stummer W. 5-ALA in the management of malignant glioma. *Lasers Surg Med.* 2018;50(5):399-419. doi:10.1002/lsm.22933
9. Picart T, Armoiry X, Berthiller J, et al. Is fluorescence-guided surgery with 5-ala in eloquent areas for malignant gliomas a reasonable and useful technique? *Neurochirurgie.* 2017;63(3):189-196. doi:10.1016/j.neuchi.2016.12.005
10. Lakomkin N, Hadjipanayis CG. Fluorescence-guided surgery for high-grade gliomas. *J Surg Oncol.* 2018;118(2):356-361. doi:10.1002/jso.25154
11. Coburger J, Wirtz CR. Fluorescence guided surgery by 5-ALA and intraoperative MRI in high grade glioma: a systematic review. *J Neurooncol.* 2019;141(3):533-546. doi:10.1007/s11060-018-03052-4
12. Wei L, Roberts DW, Sanai N, Liu JTC. Visualization technologies for 5-ALA-based fluorescence-guided surgeries. *J Neurooncol.* 2019;141(3):495-505. doi:10.1007/s11060-018-03077-9
13. Bush NAO, Chang SM, Berger MS. Current and future strategies for treatment of glioma. *Neurosurg Rev.* 2017;40(1). doi:10.1007/s10143-016-0709-8
14. Sampetean O, Saya H. Modeling phenotypes of malignant gliomas. *Cancer Sci.* 2018;109(1):6-14. doi:10.1111/cas.13351

15. Stummer W, Stocker S, Wagner S, et al. Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid- induced porphyrin fluorescence. *Neurosurgery*. 1998;42(3):518-526. doi:10.1097/00006123-199803000-00017
16. Stummer W, Novotny A, Stepp H, Goetz C, Bise K, Reulen HJ. Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins: A prospective study in 52 consecutive patients. *J Neurosurg*. 2000;93(6):1003-1013. doi:10.3171/jns.2000.93.6.1003
17. Hederstedt L. Heme A biosynthesis. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg*. 2012;1817(6):920-927. doi:10.1016/j.bbabi.2012.03.025
18. Hadjipanayis CG, Widhalm G, Stummer W. What is the surgical benefit of utilizing 5-aminolevulinic acid for fluorescence-guided surgery of malignant gliomas? *Neurosurgery*. 2015;77(5):663-673. doi:10.1227/NEU.0000000000000929
19. Hadjipanayis CG, Stummer W. 5-ALA and FDA approval for glioma surgery. *J Neurooncol*. 2019;141(3):479-486. doi:10.1007/s11060-019-03098-y
20. Michael AP, Watson VL, Ryan D, Delfino KR, Bekker S V., Cozzens JW. Effects of 5-ALA dose on resection of glioblastoma. *J Neurooncol*. 2019;141(3):523-531. doi:10.1007/s11060-019-03100-7
21. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol*. 2006;7(5):392-401. doi:10.1016/S1470-2045(06)70665-9
22. Stummer W, Tonn JC, Mehdorn HM, et al. Counterbalancing risks and gains from extended resections in malignant glioma surgery: A supplemental analysis from the randomized 5-aminolevulinic acid glioma resection study: Clinical article. *J Neurosurg*. 2011;114(3):613-623. doi:10.3171/2010.3.JNS097
23. Ishizuka M, Abe F, Sano Y, et al. Novel development of 5-aminolevulinic acid (ALA) in cancer diagnoses and therapy. *Int Immunopharmacol*. 2011;11(3):358-365. doi:10.1016/j.intimp.2010.11.029
24. Colditz MJ, Leyen K Van, Jeffree RL. Aminolevulinic acid (ALA)-protoporphyrin IX fluorescence guided tumour resection. Part 2: Theoretical, biochemical and practical aspects. *J Clin Neurosci*. 2012;19(12):1611-1616. doi:10.1016/j.jocn.2012.03.013
25. Zhao SG, Chen XF, Wang LG, et al. Increased expression of ABCB6 enhances protoporphyrin ix accumulation and photodynamic effect in human glioma. *Ann Surg Oncol*. 2013;20(13):4379-4388. doi:10.1245/s10434-011-2201-6
26. Collaud S, Juzeniene A, Moan J, Lange N. On the selectivity of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX formation. *Curr Med Chem - Anti-Cancer Agents*. 2004;4(3):301-316. doi:10.2174/1568011043352984
27. Picart T, Berhouma M, Dumot C, Pallud J, Metellus P, Armoiry X. Optimization of high-grade glioma resection using 5-ALA fluorescence-guided surgery : A literature review and practical recommendations from the neuro-oncology club

- of the French society of neurosurgery. *Neurochirurgie*. 2019;65(4):164-177. doi:10.1016/j.neuchi.2019.04.005
28. Stummer W, Stepp H, Wiestler OD, Pichlmeier U. Randomized, Prospective Double-Blinded Study Comparing 3 Different Doses of 5-Aminolevulinic Acid for Fluorescence-Guided Resections of Malignant Gliomas. *Neurosurgery*. 2017;81(2):230-239. doi:10.1093/neuros/nyx074
 29. Stummer W, Reulen HJ, Novotny A, Stepp H, Tonn JC. Fluorescence-guided resections of malignant gliomas - An overview. *Acta Neurochir Suppl*. 2003;(88):9-12. doi:10.1007/978-3-7091-6090-9_3
 30. Haj-Hosseini N, Richter JCO, Hallbeck M, Wårdell K. Low dose 5-aminolevulinic acid: Implications in spectroscopic measurements during brain tumor surgery. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2015;12(2):209-214. doi:10.1016/j.pdpdt.2015.03.004
 31. Cozzens JW, Lokaitis BC, Moore BE, et al. A Phase 1 Dose-Escalation Study of Oral 5-Aminolevulinic Acid in Adult Patients Undergoing Resection of a Newly Diagnosed or Recurrent High-Grade Glioma. *Neurosurgery*. 2017;81(1):46-55. doi:10.1093/neuros/nyw182
 32. D'Amico RS, Englander ZK, Canoll P, Bruce JN. Extent of Resection in Glioma—A Review of the Cutting Edge. *World Neurosurg*. 2017;103:538-549. doi:10.1016/j.wneu.2017.04.041
 33. Ma R, Watts C. Selective 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence in Gliomas. *Acta Neurochir (Wien)*. 2016;158(10):1935-1941. doi:10.1007/s00701-016-2897-y
 34. Sanai N, Snyder LA, Honea NJ, et al. Intraoperative confocal microscopy in the visualization of 5-aminolevulinic acid fluorescence in low-grade gliomas: Clinical article. *J Neurosurg*. 2011;115(4):740-748. doi:10.3171/2011.6.JNS11252
 35. Almekkawi AK, Wu EM, Patel T. The Use of 5-Aminolevulinic Acid in Low-Grade Glioma Resection : A Systematic Review. 2019;0(0):1-8. doi:10.1093/ons/opz336
 36. Nabavi A, Thurm H, Zountsas B, et al. Five-aminolevulinic acid for fluorescence-guided resection of recurrent malignant gliomas: A phase II study. *Neurosurgery*. 2009;65(6):1070-1076. doi:10.1227/01.NEU.0000360128.03597.C7
 37. Pavlov V, Meyronet D, Meyer-Bisch V, et al. Intraoperative Probe-Based Confocal Laser Endomicroscopy in Surgery and Stereotactic Biopsy of Low-Grade and High-Grade Gliomas: A Feasibility Study in Humans. *Neurosurgery*. 2016;79(4):604-611. doi:10.1227/NEU.0000000000001365
 38. Cherqui A. R Esection and N Erve G Rafting of a. 2009;65(4):229-235. doi:10.1227/01.NEU.0000310769.20996.BD
 39. Stummer W. E Xtent of R Esection and S Urvival in of and a Djustment for B las. *Clin Res*. 2008;62(3):564-576. doi:10.1227/01.NEU.0000297118.47076.5E
 40. Stummer W, Kamp MA. The importance of surgical resection in malignant glioma.

- Curr Opin Neurol.* 2009;22(6):645-649. doi:10.1097/WCO.0b013e3283320165
41. Brown TJ, Brennan MC, Li M, et al. Association of the extent of resection with survival in glioblastoma a systematic review and meta-Analysis. *JAMA Oncol.* 2016;2(11):1460-1469. doi:10.1001/jamaoncol.2016.1373
 42. Schucht P, Beck J, Abu-Isa J, et al. Gross total resection rates in contemporary glioblastoma surgery: Results of an institutional protocol combining 5-aminolevulinic acid intraoperative fluorescence imaging and brain mapping. *Neurosurgery.* 2012;71(5):927-935. doi:10.1227/NEU.0b013e31826d1e6b
 43. Feigl GC, Ritz R, Moraes M, et al. Resection of malignant brain tumors in eloquent cortical areas: A new multimodal approach combining 5-aminolevulinic acid and intraoperative monitoring. *J Neurosurg.* 2010;113(2):352-357. doi:10.3171/2009.10.JNS09447
 44. Díez Valle R, Tejada Solis S, Idoate Gastearena MA, García De Eulate R, Domínguez Echávarri P, Aristu Mendiroz J. Surgery guided by 5-aminolevulinic fluorescence in glioblastoma: Volumetric analysis of extent of resection in single-center experience. *J Neurooncol.* 2011;102(1):105-113. doi:10.1007/s11060-010-0296-4
 45. Senders JT, Muskens IS, Schnoor R, et al. Agents for fluorescence-guided glioma surgery: a systematic review of preclinical and clinical results. *Acta Neurochir (Wien).* 2017;159(1):151-167. doi:10.1007/s00701-016-3028-5
 46. Schwake M, Stummer W, Suero Molina EJ, Wölfer J. Simultaneous fluorescein sodium and 5-ALA in fluorescence-guided glioma surgery. *Acta Neurochir (Wien).* 2015;157(5):877-879. doi:10.1007/s00701-015-2401-0
 47. Belykh E, Martirosyan NL, Yagmurlu K, et al. Intraoperative Fluorescence Imaging for Personalized Brain Tumor Resection: Current State and Future Directions. *Front Surg.* 2016;3(October). doi:10.3389/fsurg.2016.00055
 48. Ewelt C, Nemes A, Senner V, et al. Fluorescence in neurosurgery: Its diagnostic and therapeutic use. Review of the literature. *J Photochem Photobiol B Biol.* 2015;148:302-309. doi:10.1016/j.jphotobiol.2015.05.002
 49. Gerard IJ, Kersten-Oertel M, Petrecca K, Sirhan D, Hall JA, Collins DL. Brain shift in neuronavigation of brain tumors: A review. *Med Image Anal.* 2017;35:403-420. doi:10.1016/j.media.2016.08.007
 50. Gessler F, Forster MT, Duetzmann S, et al. Combination of Intraoperative Magnetic Resonance Imaging and Intraoperative Fluorescence to Enhance the Resection of Contrast Enhancing Gliomas. *Neurosurgery.* 2015;77(1):16-22. doi:10.1227/NEU.0000000000000729
 51. Guyotat J, Pallud J, Armoiry X, Pavlov V, Metellus P. 5-Aminolevulinic Acid-Protoporphyrin IX Fluorescence-Guided Surgery of High-Grade Gliomas: A Systematic Review. *Adv Tech Stand Neurosurg.* 2016;43(43):61-90. doi:10.1007/978-3-319-21359-0_3
 52. Della Puppa A, De Pellegrin S, D'Avella E, et al. 5-aminolevulinic acid (5-ALA) fluorescence guided surgery of high-grade gliomas in eloquent areas assisted by

- functional mapping. Our experience and review of the literature. *Acta Neurochir (Wien)*. 2013;155(6):965-972. doi:10.1007/s00701-013-1660-x
53. Dupont C, Vermandel M, Leroy HA, et al. INtraoperative photoDYNAMIC Therapy for GliOblastomas (INDYGO): Study Protocol for a Phase I Clinical Trial. *Clin Neurosurg*. 2019;84(6):E414-E419. doi:10.1093/neuros/nyy324
 54. Valdés PA, Leblond F, Anthony K, et al. Quantitative fluorescence in intracranial tumor: Implications for ALA-induced PpIX as an intraoperative biomarker - Clinical article. *J Neurosurg*. 2011;115(1):11-17. doi:10.3171/2011.2.JNS101451
 55. Sanai N, Eschbacher J, Hattendorf G, et al. Intraoperative confocal microscopy for brain tumors: A feasibility analysis in humans. *Neurosurgery*. 2011;68(SUPPL. 2):282-289. doi:10.1227/NEU.0b013e318212464e
 56. Fukuhara H, Inoue K, Kurabayashi A, et al. The inhibition of ferrochelatase enhances 5-aminolevulinic acid-based photodynamic action for prostate cancer. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2013;10(4):399-409. doi:10.1016/j.pdpdt.2013.03.003
 57. Yoshioka E, Chelakkot VS, Licursi M, et al. Enhancement of cancer-specific protoporphyrin IX fluorescence by targeting oncogenic ras/MEK pathway. *Theranostics*. 2018;8(8):2134-2146. doi:10.7150/thno.22641
 58. Jermyn M, Gosselin Y, Valdes PA, et al. Improved sensitivity to fluorescence for cancer detection in wide-field image-guided neurosurgery. *Biomed Opt Express*. 2015;6(12):5063. doi:10.1364/boe.6.005063
 59. Ferraro N, Barbarite E, Albert TR, et al. The role of 5-aminolevulinic acid in brain tumor surgery: a systematic review. *Neurosurg Rev*. 2016;39(4):545-555. doi:10.1007/s10143-015-0695-2