

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Explorando fronteras de la microscopía en la práctica clínica

Torres Paz Eddy Santiago^{1,2}, Bailón-Moscoso Natalia Catalina¹

1. **Biomedicina y Ambiente, Departamento de Ciencias de la Salud, Medicina, Universidad Técnica Particular de Loja, San Cayetano Alto s/n, Loja, Ecuador.**
2. **Titulación de Medicina, Universidad Técnica Particular de Loja, San Cayetano Alto s/n, Loja, Ecuador. Laboratorio de Biología Celular y Genotoxicología, Departamento de Ciencias de la Salud, San Cayetano Alto s/n, Loja, Ecuador.**

Correspondencia:

Dra. Natalia Catalina Bailón Moscoso

Correo electrónico:

ncbailon@utpl.edu.ec

ORCID ID:

<http://orcid.org/0000-0003-2754-1328>

Dirección: San Cayetano alto s/n .

Código postal: EC 1101608

Teléfono:

Fecha de recepción: 20-04-2024

Fecha de aprobación: 20-05-2024

Fecha de publicación: 30-06-2024

Membrete Bibliográfico

Explorando fronteras de la microscopía en la práctica clínica. Rev Médica Ateneo, Vol 26. (1), pag. 76-97

Artículo acceso abierto.

RESUMEN

En el siglo XVII, Zacharias Janssen y Hans Martens inventaron el primer microscopio compuesto lo que catalizó el desarrollo de técnicas microscópicas en el tiempo. En este artículo, se ha hecho una revisión de tipo narrativa donde nos enfocamos distintos tópicos sobre la microscopía. Dentro del análisis del mismo se aborda los distintos tipos de microscopía (campo oscuro, confocal, invertido, de barrido, de transmisión y de fluorescencia); las diferentes aplicaciones y el desarrollo que han tenido impacto en varias especialidades médicas. Así mismo, se enfoca en los avances que se han realizado en los últimos años viendo la transición de lo diagnóstico a lo terapéutico in

vivo. Finalmente se genera una integración de la microscopía actual y la inteligencia artificial, una herramienta que ha incentivado optimizaciones en técnicas diagnósticas y que efectivamente han permitido innovaciones en estos campos y que tendrán un impacto en la medicina futura.

Palabras Clave: inteligencia artificial, medicina, diagnóstico, oncología, microscopia multifotónica.

ABSTRACT

In the 17th century, Zacharias Janssen and Hans Martens invented the first compound microscope, catalyzing the development of microscopic techniques over time. In this article, a narrative review has been conducted where various topics related to microscopy are addressed. Within the analysis, different types of microscopy are explored (dark-field, confocal, inverted, scanning, transmission, and fluorescence), along with their diverse applications and the developments that have impacted various medical specialties. The focus also extends to the advances made in recent years, observing the transition from diagnostic to in vivo therapeutic applications. Finally, an integration of current microscopy and artificial intelligence is discussed—a tool that has incentivized optimizations in diagnostic techniques and has effectively allowed innovations in these fields, with a potential impact on future medicine.

Keywords: artificial intelligence, medicine, oncology, diagnosis, Multiphoton microscopy.

INTRODUCCIÓN

Si bien el microscopio ha tenido un gran impacto en la medicina, sirviendo como una herramienta fundamental, su utilidad va más allá de la detección de microorganismos causantes de enfermedades. Este instrumento nos permite adentrarnos en el microcosmos celular, revelando los intrincados detalles de cómo funcionan individualmente cada tipo de célula que conforma nuestro organismo. Asimismo, su papel ha evolucionado de ser exclusivamente diagnóstico a desempeñar funciones terapéuticas en tiempo real ya que si bien dentro de la medicina uno de los objetivos principales de la microscopía es

observar los cambios que se dan en las células cuando cursan por lesiones que se pueden documentar y caracterizar, siendo la razón diagnóstica para diferentes enfermedades que ha incentivado la mejora de las técnicas, lo que ha llevado a cambios que se adapten a las estructuras como tal, buscando tinciones e incluso dejando de lado en algunas técnicas que usan la fluorescencia propia de las células excitadas por fotones (1).

Este artículo se propone trazar técnicamente la evolución histórica de la microscopía, desde sus primeras etapas hasta las actuales técnicas avanzadas, resaltando su condición esencial como herramienta en la medicina, ya que, aunque mejora la precisión diagnóstica gracias a sus nuevas técnicas que nos ofrecen imágenes de mayor calidad, llegando a un nivel similar de la técnica con Hematoxilina y Eosina (2), su mejora permite realizar secciones más finas a nivel quirúrgico que delimitan mejor las masas tumorales (2) y reducen la resección de tejido sano.

Exploramos las contribuciones y aplicaciones específicas de estas tecnologías, haciendo hincapié en su impacto crucial en campos como la investigación médica. Paralelamente, analizaremos detenidamente la creciente integración de la inteligencia artificial en el ámbito microscópico, evaluando cómo esta convergencia ha ampliado sustancialmente las capacidades de observación y análisis. La simbiosis entre microscopía e inteligencia artificial ha modificado no solo la metodología de estudio celular, sino que también ha catalizado avances significativos en diagnósticos más precisos y terapias más eficientes, elevando las perspectivas beneficiosas para la práctica médica.

MÉTODO

Se realizó una revisión narrativa para lo cual se hizo una búsqueda en bases de datos especializadas como PubMed, ScienceDirect, Scopus y Google Scholar. Se utilizaron los siguientes términos de búsqueda: “microscopio”, “técnicas”, “medicina”, “aplicaciones”, “inteligencia artificial”. Se seleccionaron artículos de revisión. El periodo de búsqueda se limitó a estudios publicados en inglés y español entre los años 2018 y 2022 exceptuando estudios clásicos de historia publicados en años pasados.

Se realizó una investigación iniciando con una breve historia del microscopio desde sus inicios hasta hoy, revisando sus crecientes avances en la medicina como tal. Después se analizó los artículos según los avances desarrollados dentro de cada técnica microscópica.

HISTORIA DE LA MICROSCOPIA

La historia del microscopio es un cautivador viaje a través de hitos fundamentales que han marcado su evolución. En el siglo XVII, los inventores holandeses Zacharias Janssen y Hans Martens inauguraron la exploración microscópica con la creación del primer microscopio compuesto en 1600. Posteriormente, en 1609, Galileo Galilei perfeccionó la tecnología con el desarrollo del microscopio-telescopio, expandiendo las posibilidades de observación (4,5). El siglo XVII se destacó como la "Era de las Células y Microorganismos". En 1665, Robert Hooke acuñó el término "células" tras ilustrar estructuras microscópicas, sentando así las bases de la biología celular. En 1674, Anton van Leeuwenhoek, pionero de la microbiología, revolucionó el campo al observar microorganismos mediante lentes que aumentaban las imágenes 200 veces su tamaño original (4,5). El perfeccionamiento del microscopio de luz en el siglo XIX, específicamente en 1830, mejoró la visualización de muestras y facilitó la investigación científica. El siglo XX presenció avances electrónicos y atómicos significativos: en 1930, Ernst Ruska y Max Knoll introdujeron el microscopio electrónico, abriendo nuevas dimensiones en la observación microscópica. Luego, en 1981, Gerd Binnig y Heinrich Rohrer desarrollaron el Microscopio de Efecto Túnel, permitiendo la visualización de estructuras atómicas (4,5). Desde el inicio del siglo XXI, la microscopía ha experimentado notables avances, destacando la microscopía multifotónica que, a partir de 2001, con el trabajo de Winfried Denk y Watt W. Webb en la microscopía de dos fotones, ha revolucionado la observación en tiempo real de eventos celulares y ha encontrado aplicaciones expansivas en la investigación biomédica, especialmente en neurociencia (6,7). En paralelo, la microscopía de Brillouin, con sus raíces en el trabajo inicial de Léon Brillouin en scattering, ha evolucionado en la comprensión de propiedades mecánicas y viscoelásticas de tejidos y materiales (8). En esta misma línea temporal, la microscopía de fluorescencia, potenciada por científicos como Roger Y. Tsien, premio Nobel en 2008, ha avanzado con el desarrollo de sondas fluorescentes y

técnicas de superresolución, transformando la capacidad de observación a nivel molecular (9). Estos logros han redefinido la investigación en biología celular, neurociencia y otros campos científicos, proporcionando herramientas cruciales para la exploración en escalas microscópicas. En la Figura 1, se ha desarrollado una línea del tiempo que destaca los logros fundamentales en la evolución del microscopio, rindiendo homenaje a los visionarios que han impulsado nuestra capacidad de explorar lo invisible.

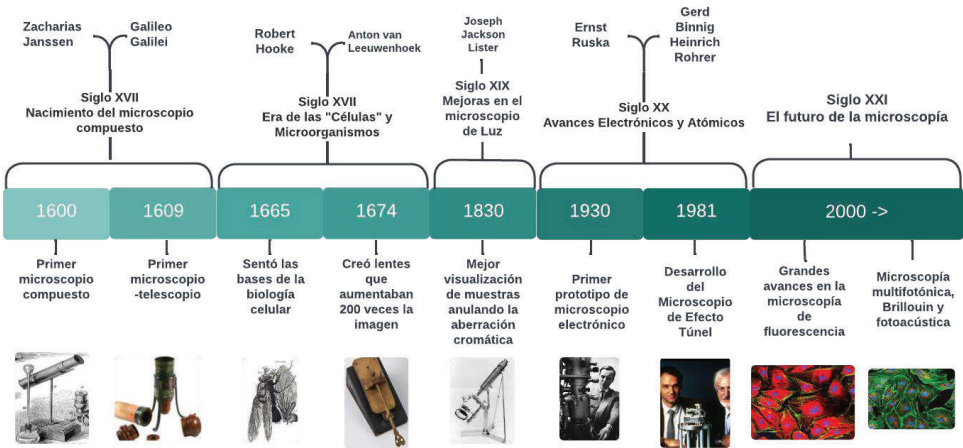


Figura 1. Evolución del microscopio: De los inicios en el Siglo XVII al Siglo XXI

TÉCNICAS DE MICROSCOPIA

A lo largo de los años, las técnicas de microscopía han evolucionado significativamente para adaptarse a diversas necesidades, generando una variedad de soluciones especializadas. En la Tabla 1, se presenta información concisa sobre las técnicas de microscopía más utilizadas, detallando su principio de funcionamiento y aplicaciones, proporcionando una visión esencial del mundo microscópico en diversos campos científicos.

Tabla 1. Técnicas de microscopía. Fundamentos, procesamiento de muestras y aplicaciones.

TIPOS DE MICROSCOPIO	FUNDAMENTO	PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA	APLICACIONES
Microscopia óptica	Se fundamenta en la capacidad de redirigir la luz a través de lentes que son elementos que manipulan la luz que atraviesa la muestra y generan una imagen ampliada que se puede observar con el ojo o una cámara (10,11)	Para poder observar la muestra en estos casos se aplica algún tipo de técnica de contraste que son sustancias químicas que se unen selectivamente a ciertas partes de la muestra y cambian su color, como el azul de metileno (10)	Permite estudiar las estructuras y función de las células y los tejidos, además de analizar materiales como metales, cerámicas y fibras, así como su origen y evolución.
Microscopio de campo oscuro	Este tipo de microscopio usa el condensador para iluminar la muestra de forma oblicua y generar contraste. Este mecanismo bloquea la luz central permitiendo el paso solo de la periféricas, creando un efecto de iluminación lateral que resalta los bordes y las siluetas de la muestra (12)	A diferencia del microscopio de luz óptico, la microscopía de campo oscuro no requiere un procesamiento especial de la muestra ya que esta no requiere algún tipo de contraste. Por lo general para observar muestras transparentes o con poco contraste natural, como los microorganismos o las partículas (12)	Actualmente tiene más aplicaciones con otros métodos para realizar análisis precisos, cuantitativos, seguimientos dinámicos. Siendo un ejemplo la cuantificación de <i>Cryptosporidium parvum</i> cuantificado a través de sondas de nanopartículas magnéticas (13)
Microscopio invertido	A diferencia del microscopio de luz convencional, en el invertido, la luz y el condensador están arriba de la platina y apuntan hacia abajo. Los objetivos se encuentran debajo de la muestra y apuntan hacia arriba, recogiendo la luz del condensador (14)	La preparación de la muestra depende de la técnica de observación. Ya que permite la observación tanto de muestras metalúrgicas como muestras o tejidos vivos que vienen contenidas en diferentes presentaciones (14)	En este microscopio se ven sobre todo células y tejidos vivos. Además, se puede registrar procesos celulares dinámicos en tiempo real (14)
Microscopia de fluorescencia	En este caso se usa una fuente de luz especial que excita moléculas fluorescentes presentes en la muestra. Estas moléculas absorben la energía de la luz excitatoria	La muestra se tiñe con colorantes fluorescentes, también conocidos como fluoróforos o fluorocromos, aunque también los tejidos tienen moléculas que se pueden excitar y emitir fluorescencia propia (12,15)	Permite el estudio del comportamiento dinámico exhibido en las imágenes de células vivas. Actualmente diferentes moléculas ahora se pueden teñir con diferentes colores, lo que permite observar varias

	y emiten una longitud de onda más larga y detectable (12)		moléculas simultáneamente (12,15)
Microscopia confocal	Se basa en el uso de laser como haz y luz y un anillo que concentra el mismo, teniendo la capacidad de concentrar el haz y rechazar la luz desenfocada (16)	En estos casos las mejores imágenes se pueden obtener de muestras libres de colorantes indicadores de pH como el rojo fenol. Además, hay que considerar espaciadores entre el cubreobjetos y portaobjetos para evitar dañar el tejido (16).	Se puede usar para obtener imágenes en vivo, así como con muestras fijadas. Actualmente, la capacidad de profundidad permite hacer cortes y una posterior reconstrucción 3D de la muestra (16)
Microscopio electrónico de barrido	Usa un haz enfocado de electrones que se mueve con alta energía lo que penetra la muestra y produce la imagen capturando los electrones emitidos de la misma (17).	La muestra debe estar seca y ser cubierta con un material metálico o de carbono, para mejorar la conductividad, como una pulverización catódica con una aleación de oro/paladio. Finalmente se guarda los trozos en un desecador (17).	En contexto de informaciones cristalográfica en si el cómo están ordenados los átomos en el objeto y como esto influye en sus propiedades. También nos permite observar la morfología a nivel de las partículas y como estas determinan las propiedades de los materiales (17).
Microscopio electrónico de transmisión	Se emplea una técnica de escaneo de trama de la superficie y captura los electrones dispersados para crear una imagen que reproduzca la morfología de la muestra (17).	Una vez aislado el tejido, se fija con glutaraldehído, OsO_4 y ocasionalmente $KMnO_4$, se procede con la ultramicrotomía y por último la tinción de secciones delgadas (17).	Las imágenes permiten a los investigadores ver muestras a nivel molecular, lo que permite analizar la estructura y la textura. Además, proporciona información topográfica, morfológica, compositiva e información cristalina (17).
Microscopia multifotónica	Utiliza una láser pulsado que emite una onda infrarroja o láser de femtosegundos de infrarrojo cercano para generar señales no lineales que se pueden observar (1).	El contraste de las muestras se obtiene por moléculas fluorescentes excitadas por dos fotones o más (1).	La ventaja de su baja fototoxicidad y dispersión de luz permite observar tejidos vivos a mayor profundidad por periodos prolongados de tiempo, incluso a nivel intraoperatorio (1).

UTILIDAD DE LA MICROSCOPIA EN EL SIGLO XXI

Actualmente, el microscopio se erige como herramienta indispensable en el estudio, diagnóstico, prevención, investigación y tratamiento de enfermedades surgidas con los años. Este invento, siempre en evolución, desempeña un papel

crucial en el diagnóstico e identificación de posibles causas de enfermedades. Su función principal de ampliar imágenes de objetos diminutos ha propiciado su aplicación en diversas especialidades, destacándose en cirugía por su capacidad para observar con detalle y realizar acciones precisas. Actualmente, estos dispositivos no se limitan al uso de haces de luz convencionales, adaptándose para usar técnicas como ondas de sonido, radiación y electrones, lo que amplía su versatilidad y potencial en el ámbito médico. Esto incluye beneficios a nivel cuantitativo histopatológico, quirúrgico y observación microscópica in vivo, además del desarrollo de aplicaciones de inteligencia artificial y modelos asociados que, aunque en desarrollo, podrían agilizar procesos y reducir costos y materiales. El impacto del microscopio se ha manifestado en distintas especialidades, a continuación de estas utilidades sintetizadas en la Figura 2.

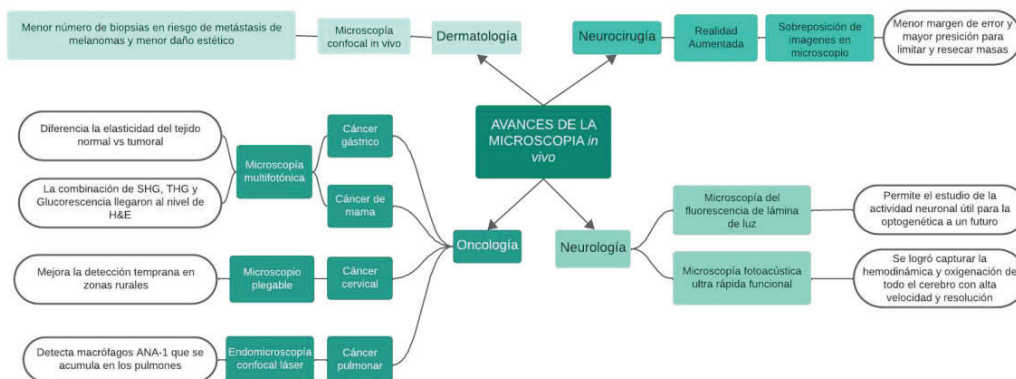


Figura 2. Avances en el campo de la microscopía in vivo en medicina. SHG: Generación de segundos armónicos, THG: Generación de terceros armónicos. H&E: Hematoxilina y Eosina.

Dermatología

Dentro del ámbito dermatológico, la microscopía confocal emerge como una herramienta invaluable, permitiendo la observación de tejido vivo sin la necesidad de recurrir a procedimientos invasivos como las biopsias. Su importancia radica en la mitigación de riesgos asociados a la toma de biopsias, tales como la irrigación metastásica y potenciales cicatrices, especialmente en áreas estéticamente sensibles como el rostro (3).

Un enfoque particularmente destacado es la microscopía de barrido láser confocal *in vivo*, una técnica de baja invasión que posibilita la visualización de diversas capas cutáneas, incluyendo la dermis, la unión dermoepidérmica y la dermis superior. Aunque presenta limitaciones en cuanto a la profundidad de penetración, se han identificado patrones relevantes para la identificación de diversas afecciones cutáneas (3).

Para poder llevar a cabo una observación *in vivo* se puede usar la microscopía de barrido láser confocal que implica la microscopía confocal de reflectancia ya que ha demostrado mejorar la identificación temprana de cánceres de piel y la diferenciación precisa entre lesiones melanocíticas y no melanocíticas, aunque es crucial reconocer que el estándar de oro para el diagnóstico del cáncer de piel persiste. Esta identificación temprana ha contribuido a la reducción del número de biopsias en casos de sospecha de melanoma, disminuyendo así el riesgo de metástasis asociado a dichos procedimientos invasivos (3).

En el ámbito clínico, se han delineado indicaciones específicas para la utilización de esta técnica, destacando su eficacia en lesiones pigmentadas planas en áreas fotoexpuestas y lesiones no pigmentadas en el rostro. Por otro lado, se aconseja precaución al analizar lesiones nodulares y/o hiperqueratósicas (3,18).

Además de su contribución al diagnóstico precoz, la microscopía confocal posibilita una planificación quirúrgica más precisa, permitiendo la delimitación precisa de los márgenes. Dada la implicación estética de estas lesiones cutáneas, esta capacidad de preservar una mayor cantidad de tejido sano representa un beneficio significativo en el manejo prequirúrgico, enfatizando la importancia integral de la microscopía confocal en el ámbito dermatológico (3).

Neurología

Dentro de la neurología, cabe destacar el surgimiento de la microscopía de fluorescencia de lámina de luz como una estrategia prometedora para la obtención de imágenes tridimensionales con mínima fototoxicidad y fotoblanqueo. Este enfoque innovador implica el empleo de una lámina de luz delgada para iluminar selectivamente el plano focal de la muestra, mientras que un sistema de detección recoge la fluorescencia emitida. Los resultados

obtenidos con esta técnica incluyen una exposición reducida de la muestra a la luz y una mayor velocidad de adquisición (19).

Aunque la microscopía de fluorescencia de lámina de luz se encuentra en fase de desarrollo, ha sido aplicada con éxito en el ámbito de la neurociencia. Se ha utilizado

para investigar el desarrollo del sistema nervioso, la actividad neuronal, la morfología cerebral y las sinapsis en diversos modelos animales, tales como el pez cebra (*Danio rerio*) la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*), gusano del suelo (*Caenorhabditis elegans*) y algunas especies de ratón (*Mus sp.*). No obstante, es importante reconocer algunas limitaciones inherentes a esta técnica, como la penetración limitada en tejidos turbios, lo que dificulta la obtención de imágenes de órganos internos o tejidos profundos (19).

Se anticipa que en el futuro se intensificará la investigación en enfermedades neurodegenerativas gracias a la capacidad de la microscopía de fluorescencia de lámina de luz para visualizar conexiones neuronales, rastrear la actividad neuronal y estudiar el desarrollo del cerebro en tiempo real (20). Este avance promete contribuir de manera significativa a la comprensión de los mecanismos moleculares y celulares involucrados en dichas enfermedades. Además, se vislumbra el potencial desarrollo de nuevas terapias, como la mejora de la plasticidad luego de un ataque isquémico cerebral mediante la optogenética, que implica la expresión de canales iónicos sensibles a la luz (21).

Por otro lado, nueva técnica de imagen se ha desarrollado, la microscopía fotoacústica ultra rápida funcional, que puede capturar la hemodinámica y oxigenación de todo el cerebro con alta velocidad y resolución. La microscopía fotoacústica ultra rápida funcional utiliza un escáner de polígonos inmersible en agua, una excitación láser de doble longitud de onda basada en la dispersión Raman estimulada, el transductor de ultrasonido de alta sensibilidad y un enfoque de muestreo ascendente basado en el aprendizaje profundo para mejorar la calidad y velocidad de la imagen. La microscopía fotoacústica ultra rápida funcional también puede medir las concentraciones relativas de oxihemoglobina y desoxihemoglobina, y por lo tanto la saturación de oxígeno de la hemoglobina (sO₂) en los vasos cerebrales. La microscopía fotoacústica ultra

rápida funcional puede diferenciar arterias y venas, y capturar los cambios rápidos en la morfología y función de los vasos en respuesta a desafíos fisiológicos y fisiopatológicos. Esta técnica de imagen aplicó tres experimentos para demostrar el rendimiento de La microscopía fotoacústica ultra rápida funcional en la imagen de la hemodinámica cerebral en diferentes condiciones: (1) hipoxia sistémica, (2) vasodilatación y vasoconstricción sistémicas inducidas por nitroprusiato de sodio, y (3) isquemia cortical inducida por accidente cerebrovascular. Una demostración de la microscopía ultra rápida permitió observar los cambios globales y locales en el diámetro del vaso y sO₂ en el cerebro del ratón, y revelando las interacciones complejas y dinámicas entre el suministro y la demanda de oxígeno en el tejido cerebral (22).

Neurocirugía

En el ámbito de la cirugía, la realidad aumentada ha experimentado avances significativos al integrarse en microscopios, mejorando la eficiencia del flujo de trabajo y aumentando la precisión durante las intervenciones. Este enfoque se basa en la superposición de imágenes provenientes de tomografías computarizadas, resonancias magnéticas y angiografías en el entorno quirúrgico real (23). Estas imágenes pueden ser visualizadas en monitores, ópticas, dispositivos montados en la cabeza como gafas inteligentes, superficies semitransparentes y directamente en el campo visual del paciente. La aplicación destacada de esta modalidad se ha observado especialmente en neurocirugía, donde facilita la resección tumoral. La integración de imágenes segmentadas de tomografías computarizadas o resonancias magnéticas en tiempo real ayuda a definir con precisión los márgenes durante la cirugía, optimizando notablemente sin aumentar los tiempos quirúrgicos y reduciendo la duración de la estancia hospitalaria (23). Además, se ha implementado la fluorescencia de angiografía con verde de indocianina intraoperatoria, permitiendo la fijación y visualización mejorada de la vasculatura objetivo, optimizando la colocación de la craneotomía, la apertura dura y la incisión en la piel.

En el contexto de la fluorescencia, la neurocirugía se enfrenta al desafío de distinguir diferentes tipos de tejido, dado que extirpar todo el tumor solo se logra en menos del 30% de los casos (23). La aplicación de fluoróforos específicos, absorbidos de manera diferencial por diversos tipos de tejido cuando se exponen

a la luz de excitación, proporciona un contraste valioso que facilita la diferenciación de los tipos de tejido durante la intervención quirúrgica (24).

Oncología

En el marco de la microscopía fonónica, se ha consolidado la aceptación general de que las células cancerosas exhiben una menor elasticidad en comparación con las células normales. Esta distinción se manifiesta a través de la velocidad del sonido, mientras que su resolución lateral se determina mediante la óptica, presentando una resolución axial notablemente superior. La evaluación de las células cancerosas se basa en la medición de la velocidad y la atenuación del sonido que estas presentan. La capacidad de llevar a cabo mediciones de fonones a través de una fibra monomodo con un diámetro de 125 μm es compatible con la mayoría de los calibres de aguja de biopsia estándar. Esto permite obtener señales en términos de velocidad y atenuación del sonido que diferencian los tejidos en relación con el agua, posibilitando la clasificación de datos como base para diagnósticos precisos (25).

Por otro lado, junto con la fluorescencia, la microscopia multifotónica permite obtener imágenes utilizando pulsos de luz láser de alta intensidad para excitar las moléculas fluorescentes en la muestra. Esta microscopía es útil al utilizar procesos ópticos como la generación de segundos armónicos y la generación de terceros armónicos, los cuales dependen de la asimetría de las moléculas para poder ser observadas. En el caso de cáncer de mama, aplicado para el estudio del colágeno fibrilar, que es una estructura asimétrica o no centrosimétrica (que no es idéntica así si misma cuando se invierte) que puede generar una señal de segundos armónicos fuerte a diferencia de otras proteínas de la matriz extracelular como la elastina, misma que es simétrica y por tanto no produce segundos armónicos (26).

La generación de segundos armónicos estudia la alineación de las fibras de colágeno, teniendo en cuenta que varios órganos tienen concentraciones altas de este material, como la mama, y es que en el cáncer de mama el aumento de la densidad del colágeno aumenta el riesgo de carcinoma. Estudios cuantificaron la alineación del colágeno para clasificar las etapas de remodelación durante la progresión de la enfermedad (24,26). Además, al integrarse con otras técnicas

como la generación de segundos armónicos, generación de terceros armónicos, microscopía de fluorescencia de emisión paramétrica para dos fotones y glucorecencia excitada por tres fotones nos permite observar la alineación del colágeno, la infiltración de células tumorales, vasos sanguíneos, los conductos mamarios y los lípidos en resolución similares a las del estándar de oro, la histología teñida con hematoxilina y eosina (2).

Asimismo, se ha utilizado en otros tipos de cáncer, como el de páncreas, pero también ha tenido acogida en cáncer de ovario, próstata y pulmón. La microendoscopia SHG es una herramienta de gran utilidad para examinar y sondear la matriz extracelular y la organización celular en el microambiente tisular en una serie de trastornos (26).

Xiaoying Wang et.a. 2022, abordó la evaluación de las etapas del cáncer gástrico, incluyendo las lesiones precancerosas, el cáncer en fases tempranas y avanzadas. Además, se centró en el empleo de imágenes para el tratamiento quirúrgico. Se analizaron diversas características, como la medición cuantitativa del perímetro nuclear celular, la relación nucleoplasmática, el área nuclear, la resistencia del colágeno y la orientación de las fibras de colágeno. Estos parámetros permitieron la diferenciación entre tejidos normales, tejidos enfermos y lesiones tumorales (27).

Con estos enfoques, se obtuvieron resultados que proporcionan una caracterización integral de la mucosa gástrica, involucrando aspectos como el epitelio superficial, las fibras de colágeno y las células inflamatorias. La utilización de imágenes de microscopía multifotónica permitió diferenciar de manera efectiva entre el estado normal de la mucosa, las lesiones premalignas y los carcinomas gástricos (27).

En las fases de cáncer temprano y avanzado, se identificaron glándulas epiteliales anormales y desordenadas en los tejidos mucosos, caracterizadas por variaciones en el tamaño de los núcleos, llegando a ser casi el doble del tamaño normal. Asimismo, mediante la densidad de las fibras de colágeno, se pueden diferenciar áreas tumorales debido a que se presenta una mayor compactación con respecto al tejido normal (28). Además, mediante esta técnica de microscopía se implementó el sistema de clasificación de la Unión Internacional

para el Control del Cáncer para realizar una estadificación específica de la infiltración tumoral en el cáncer gástrico. Esto proporciona una comprensión detallada de las alteraciones morfológicas asociadas con diferentes etapas de la enfermedad y facilita la clasificación clínica de la extensión del tumor (27,28).

Dentro del ámbito del cáncer de pulmón, se han llevado a cabo diversas pruebas para la detección, pero no todas han arrojado resultados satisfactorios. En las primeras fases, la detección, cuando se lograba, dependía en gran medida de la pericia del observador para realizar un diagnóstico preciso. Un progreso significativo se alcanzó mediante la integración de imágenes de infrarrojo cercano con la endomicroscopia confocal láser, utilizando un agente de contraste específico dirigido al cáncer (pafolacianina). El propósito de esta combinación es la identificación del tinte pafolacianina conjugado con un análogo de folato, el cual se orienta selectivamente hacia las células malignas que presentan una sobreexpresión del receptor alfa de folato (29). Este método permitió identificar hallazgos incluso por observadores no experimentados. En el estudio de ganglios linfáticos agrandados, se empleó la endomicroscopia confocal láser, lo que facilitó la discriminación entre neoplasias malignas y células pleomórficas oscuras (30).

Además, se demostró el potencial de la endomicroscopia confocal láser en el pulmón mediante trazadores marcados con fluorescencia, utilizando puntos de polímero para llevar a cabo un seguimiento en tiempo real de alta resolución de las células de macrófagos ANA-1 en los alvéolos de los pulmones y ganglios linfáticos. Ya que los macrófagos pueden identificar y acumularse en sitios patológicos, son cruciales en la progresión tumoral. La endomicroscopia láser confocal basada en sonda permitió demostrar la distribución de células ANA-1 marcadas en ratones in vivo en tiempo real, evidenciando su mayor acumulación en los alvéolos (31).

Dada la crucial importancia de la detección temprana del cáncer cervical, se han implementado diversos tipos de microscopios adaptados a diferentes situaciones. Entre estos, destaca el microscopio plegable, especialmente útil en áreas rurales donde la detección temprana es fundamental para confirmar el diagnóstico en centros de mayor complejidad. El microscopio plegable, como se le conoce, es un dispositivo fabricado con una hoja de papel recubierta de

plástico, una lente y un acoplador magnético. Su sencillo ensamblaje permite observar objetos diminutos que no son visibles a simple vista, con un aumento de 140× a 2000×, y se puede conectar a un teléfono inteligente para capturar imágenes y videos (32).

Una aplicación prometedora del microscopio plegable en entornos rurales es su potencial reemplazo de la colposcopia, un procedimiento que utiliza un microscopio especial para examinar el cuello uterino y detectar lesiones precancerosas o cancerosas. La colposcopia, al requerir un equipo costoso, una fuente de energía, personal capacitado y un entorno estéril, se enfrenta a desafíos en su implementación en zonas rurales. En cambio, el microscopio plegable podría ofrecer una alternativa de bajo costo, portátil y fácil de utilizar para realizar colposcopias con un teléfono inteligente (33).

El microscopio plegable puede detectar el cáncer de cuello uterino con sensibilidad y especificidad similares a las de la colposcopia convencional. Este avance podría mejorar significativamente el acceso y la cobertura de la detección y tratamiento del cáncer de cuello uterino en áreas rurales (32,33).

Perspectivas futuras de la microscopía: integración y avances con la inteligencia artificial

En el contexto del cáncer cervical, se ha observado que el diagnóstico preciso depende en gran medida de la experiencia visual del observador, lo que constituye una limitación en términos de eficacia y precisión. De nuevo, los modelos de aprendizaje profundo han demostrado su capacidad para analizar conjuntos de datos y detectar alteraciones que podrían pasar desapercibidas para los humanos.

En un estudio liderado por Hua Chen, Juan Liu, Qing-Man Wen y otros, que incluyó la evaluación de 25 modelos de inteligencia artificial, como posibles herramientas para lograr una detección temprana y automatizada confiable. Se llegó a la conclusión de que la inteligencia artificial puede reducir los costos hasta en un 30% y mejorar la comodidad de la paciente femenina en las cuales se sospecha cáncer de cuello uterino y que se someten a citología cervical (34). Además, se han desarrollado microscopios de inteligencia artificial con pantallas de realidad aumentada que han avanzado significativamente, como es el caso

de AIATBS (Sistema de imágenes ThinPrep asistido por inteligencia artificial) (35).

El aprendizaje automático es una modalidad de aprendizaje profundo que se enfoca en el entrenamiento de redes neuronales artificiales. Se diferencia de otros en que mejora su rendimiento al acceder a un mayor número de datos, lo que significa un avance significativo.

La obtención de imágenes de portaobjetos completos constituye la base esencial para la aplicación de la inteligencia artificial en la patología digital. La información contenida en estas imágenes es de alta calidad, tanto por su tamaño (100l x 100k) como por la presencia de información de color (Hematoxilina y eosina e inmunohistoquímica), junto con datos a múltiples escalas (4x, 20x) y diversos niveles de pila z (cada corte con un grosor finito y generando distintas imágenes según el plano de enfoque). Debido a la abrumadora cantidad de información, la inteligencia artificial posibilita a los patólogos identificar marcadores de imagen únicos asociados a enfermedades, logrando diagnósticos más precisos y tratamientos efectivos (36). La inteligencia artificial (IA) se posiciona como una herramienta valiosa para mejorar la calidad de los diagnósticos realizados por los patólogos y prevenir errores, contribuyendo a optimizar el flujo de trabajo (36). Además, la IA puede aplicarse en el diagnóstico clínico, considerando que la calidad de las imágenes producidas por los escáneres de imágenes de portaobjetos completos influye directamente en el rendimiento de los lectores y la fiabilidad de los diagnósticos. Estos escáneres cuentan con un sistema de enfoque automático para seleccionar planos focales y observar con precisión la morfología tridimensional. Sin embargo, las regiones desenfocadas presentan un desafío o un aumento en el trabajo de enfoque, lo que ha impulsado el desarrollo de una IA capaz de identificar y corregir áreas desenfocadas o borrosas.

La integración de la inteligencia artificial con datos clínicos del paciente, como historial clínico, antecedentes y resultados de laboratorio, permite relacionar esta información con los hallazgos de las imágenes. Esto capacita a los patólogos para tomar decisiones más informadas, utilizando no solo las imágenes analizadas por la IA, sino también considerándola como parte integral de los datos para el diagnóstico (37).

A pesar de las ventajas evidentes de la IA, se han identificado ciertos vacíos que deben abordarse, como el porcentaje de error y las ocasiones en las que el diagnóstico de la IA no puede explicarse. Esto conduce a la conclusión de que, aunque la IA es sumamente útil, no reemplazará a los patólogos. En lugar de eso, se percibe como una herramienta complementaria que proporciona resultados mejorados en comparación con el trabajo individual de un patólogo (37).

CONCLUSIONES

Observamos que el anhelo de explorar lo invisible para el ojo humano implica una continua búsqueda de mejora y la aplicación de diversas metodologías. La microscopía en el ámbito de la salud ha experimentado un notable progreso, desplegando una variedad de técnicas especializadas que revelan limitaciones, ventajas y nuevos desafíos. Este avance en la medicina ha transformado la observación celular, desde la simple visualización hasta la identificación de las estructuras más diminutas y la capacidad de distinguirlas mediante tinciones y también se ha sumado al uso de la inteligencia artificial como una herramienta integral que ha optimizado tanto el diagnóstico como la observación y procesamiento de imágenes en pacientes en tiempo real. Este enfoque ha demostrado mejorar los procesos de análisis, reduciendo los tiempos de procedimientos quirúrgicos, minimizando el consumo de materiales y, en consecuencia, disminuyendo los costos de producción. Aunque algunos de estos procesos aún están en desarrollo pronto no tardarán en extenderse en otros campos de la medicina y estar al servicio de los pacientes.

Financiamiento: Este proyecto fue realizado con el financiamiento de la UTPL mediante el proyecto número PY3584.

Contribución del autor (s)

Eddy Santiago Torres Paz: realizó la búsqueda exhaustiva de información y la interpretación.

Natalia Catalina Bailón Moscoso: diseño el estudio y aportó en la redacción científica del documento. Ambos autores hicieron la revisión final de documento.

Información del autor (s):

Eddy Santiago Torres Paz: estudiante de la carrera de medicina de la Universidad Técnica Particular de Loja. Loja – Ecuador.

Natalia Catalina Bailón Moscoso: Bioquímica y Farmaceútica por la Universidad de Cuenca, Doctorada en Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de México. Investigadora de la Universidad Técnica Particular de Loja de la Facultad de Ciencias de la Salud. Líneas de investigación Cáncer, Genotoxicidad y Metabolitos Secundarios.

Disponibilidad de datos

Los datos fueron recolectados

Declaración de intereses

El autor no reporta conflicto de intereses.

Agradecimiento

Agradecemos a nuestras respectivas familias por su apoyo y guía incondicional, a nuestra directora y asesor metodológico por su soporte y tiempo brindado, sin ellos este trabajo no habría sido posible.

Autorización de publicación

El autor autoriza su publicación en la revista Ateneo. El autor enviará firmado un formulario que será entregado por el Editor.

Consentimiento informado

Esta fue una revisión narrativa, no se realizó experimentos en humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Larson AM. Multiphoton microscopy. Nat Photonics. el 22 de enero de 2011;5(1):1–1.
2. Sun Y, You S, Tu H, Spillman DR, Chaney EJ, Marjanovic M, et al. Intraoperative visualization of the tumor microenvironment and quantification of extracellular vesicles by label-free nonlinear imaging. Sci Adv [Internet]. 2018;4(12):eaau5603. Disponible en: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/sciadv.aau5603>
3. Guida S, Arginelli F, Farnetani F, Ciardo S, Bertoni L, Manfredini M, et al. Clinical Applications of In Vivo and Ex Vivo Confocal Microscopy. Applied Sciences. el 24 de febrero de 2021;11(5):1979.
4. Luis Eduardo Traviezo Valles. Historia breve del microscopio. En Prospectiva [Internet]. 2020 [citado el 29 de noviembre de 2023];103–9. Disponible en: <https://www.uny.edu.ve/wp-content/uploads/2021/01/Revista-En-Prospectiva-definitiva.pdf#page=103>
5. Rita María Sánchez Lera, Ninfa Rosa Oliva García. Historia del microscopio y su repercusión en la Microbiología. Humanidades Médicas [Internet].

- 2015 [citado el 29 de noviembre de 2023];355–72. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hmc/v15n2/hmc10215.pdf>
6. Piston D. Imaging living cells and tissues by two-photon excitation microscopy. *Trends Cell Biol.* el 1 de febrero de 1999;9(2):66–9.
7. Winfried Denk. Microscopía multifotónica en neurociencia. *Microscopia y Microanálisis.* 2003;1138–9.
8. Merklein M, Kabakova I V., Zarifi A, Eggleton BJ. 100 years of Brillouin scattering: Historical and future perspectives. *Appl Phys Rev.* el 1 de diciembre de 2022;9(4).
9. Tsien RY. Constructing and Exploiting the Fluorescent Protein Paintbox (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition.* el 20 de julio de 2009;48(31):5612–26.
10. Reynoso MM, Magnoli CE, Barros GG, Demo MS. Manual de Microbiología [Internet]. 2022. Disponible en: <https://LibreTexts.org>
11. Falomir Lockhart LJ, Fuentes F. Microscopía óptica. Libros de Cátedra [Internet]. 2013 [citado el 9 de noviembre de 2023]; Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/153907>
12. Ortega E, Hosseini H, Rosales López MJ, Rodríguez Vera A, Hosseini S. Characterization Techniques for Morphology Analysis. En: ResearchGate [Internet]. 2022 [citado el 19 de noviembre de 2023]. p. 1–45. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/358565140_Characterization_Techniques_for_Morphology_Analysis
13. Gao PF, Lei G, Huang CZ. Dark-Field Microscopy: Recent Advances in Accurate Analysis and Emerging Applications. Vol. 93, *Analytical Chemistry.* American Chemical Society; 2021. p. 4707–26.
14. Faith Mokobi. Microscopio invertido: definición, principio, piezas, diagrama etiquetado, usos, hoja de trabajo [Internet]. 2022 [citado el 1 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://microbenotes.com/inverted-microscope/>
15. Sagar Aryal. Fluorescence Microscopy- Definition, Principle, Parts, Uses [Internet]. 2022 [citado el 1 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://microbenotes.com/fluorescence-microscope-principle-instrumentation-applications-advantages-limitations/>

16. Elliott AD. Confocal Microscopy: Principles and Modern Practices. *Curr Protoc Cytom.* el 1 de marzo de 2020;92(1).
17. Kannan M. Scanning Electron Microscopy: Principle, Components and Applications. En 2018 [citado el 9 de noviembre de 2023]. p. 81–92. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/341553212_Scanning_Electron_Microscopy_Principle_Components_and_Applications
18. Manfredini M, Mazzaglia G, Ciardo S, Farnetani F, Mandel VD, Longo C, et al. Acne: *in vivo* morphologic study of lesions and surrounding skin by means of reflectance confocal microscopy. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* el 26 de mayo de 2015;29(5):933–9.
19. Corsetti S, Gunn-Moore F, Dholakia K. Light sheet fluorescence microscopy for neuroscience. *J Neurosci Methods.* mayo de 2019; 319:16–27.
20. Ortiz-Vilchis CM. Modelos experimentales en optogenética y su aplicación en enfermedades neurodegenerativas motoras. *Medicina e Investigación.* julio de 2015;3(2):162–8.
21. Lu C, Wu X, Ma H, Wang Q, Wang Y, Luo Y, et al. Optogenetic Stimulation Enhanced Neuronal Plasticities in Motor Recovery after Ischemic Stroke. *Neural Plast.* el 14 de marzo de 2019; 2019:1–9.
22. Zhu X, Huang Q, DiSpirito A, Vu T, Rong Q, Peng X, et al. Real-time whole-brain imaging of hemodynamics and oxygenation at micro-vessel resolution with ultrafast wide-field photoacoustic microscopy. *Light Sci Appl.* el 17 de mayo de 2022;11(1):138.
23. Ma L, Fei B. Comprehensive review of surgical microscopes: technology development and medical applications. *J Biomed Opt [Internet].* el 1 de enero de 2021;26(1):010901. Disponible en: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.26.1.010901>
24. Pattarone G, Acion L, Simian M, Mertelsmann R, Follo M, Iarussi E. Learning deep features for dead and living breast cancer cell classification without staining. *Sci Rep [Internet].* 2021;11(1):10304. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89895-w>

25. Pérez-Cota F, Martínez-Arellano G, La Cavera S, Hardiman W, Thornton L, Fuentes-Domínguez R, et al. Classification of cancer cells at the sub-cellular level by phonon microscopy using deep learning. *Sci Rep* [Internet]. el 27 de septiembre de 2023;13(1):16228. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-42793-9>
26. James DS, Campagnola PJ. Recent Advancements in Optical Harmonic Generation Microscopy: Applications and Perspectives. *BME Front.* enero de 2021;2021.
27. Wang X, Zhang D, Zhang X, Xing Y, Wu J, Sui X, et al. Application of Multiphoton Microscopic Imaging in Study of Gastric Cancer. *Technol Cancer Res Treat.* el 15 de enero de 2022; 21:153303382211332.
28. He K, Zhao L, Huang X, Ding Y, Liu L, Wang X, et al. Label-free imaging for T staging of gastric carcinoma by multiphoton microscopy. *Lasers Med Sci.* el 6 de mayo de 2018;33(4):871–82.
29. Kennedy GT, Azari FS, Bernstein E, Nadeem B, Chang A, Segil A, et al. Targeted detection of cancer cells during biopsy allows real-time diagnosis of pulmonary nodules. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* el 5 de octubre de 2022;49(12):4194–204.
30. Tian S, Huang H, Zhang Y, Shi H, Dong Y, Zhang W, et al. The role of confocal laser endomicroscopy in pulmonary medicine. *European Respiratory Review.* el 31 de marzo de 2023;32(167):220185.
31. Tang S, Guo Y, Yang Y, Li Y, Gao Y, Zhang C, et al. High resolution tracking of macrophage cells in deep organs and lymphatics using fluorescent polymer dots. *RSC Adv.* 2019; 9 (19): 10966–75.
32. Ganesan M, Selvan Christyraj JRS, Venkatachalam S, Yesudhason BV, Chelladurai KS, Mohan M, et al. Foldscope microscope, an inexpensive alternative tool to conventional microscopy—Applications in research and education: A review. *Microsc Res Tech.* el 25 de noviembre de 2022;85(11):3484–94.
33. Jeel Moya-Salazar, Marcos Bruno, Víctor Rojas-Zumaran, Saad Bhamla, Manu Prakash. Implementación del Foldscope como dispositivo de diagnóstico de cáncer cervical: un estudio de verificación y evaluación. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica* [Internet]. 2016 [citado el 27

- de noviembre de 2023];63(3):141–7. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2016/pt163e.pdf>
34. Chen H, Liu J, Wen QM, Zuo ZQ, Liu JS, Feng J, et al. CytoBrain: Cervical Cancer Screening System Based on Deep Learning Technology. J Comput Sci Technol [Internet]. 2021;36(2):347–60. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11390-021-0849-3>
 35. Lee YM, Lee B, Cho NH, Park JH. Beyond the Microscope: A Technological Overture for Cervical Cancer Detection. Diagnostics. el 28 de septiembre de 2023;13(19):3079.
 36. Farahani N, Parwani A V, Pantanowitz L. Whole slide imaging in pathology: advantages, limitations, and emerging perspectives. Pathol Lab Med Int. 2015;23–33.
 37. Niazi MKK, Parwani A V, Gurcan MN. Digital pathology and artificial intelligence. Lancet Oncol. mayo de 2019;20(5): e253–61.