



UNIVERSIDAD DE ALCALÁ
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**DIAGNÓSTICO POR FLUORESCENCIA
EN EL CARCINOMA BASOCELULAR
PREVIO A LA CIRUGÍA
MICROGRÁFICA DE MOHS**

Director: Pedro Jaén Olasolo

Codirector: Luís Ríos Buceta

TESIS DOCTORAL
SÒNIA BEÀ ARDÉBOL
MADRID 2010

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer al Dr. Jaén, director de esta tesis, y al Dr. Ríos, codirector, su apoyo, confianza y dedicación, no solo en este proyecto, sino también por haber despertado en mi el interés por la cirugía dermatológica y haberme animado, enseñado y dirigido a lo largo de este camino.

Al Dr. Harto, por haberme introducido en el mundo de la Terapia Fotodinámica y del diagnóstico por fluorescencia.

A todo el personal del Servicio de Dermatología del Hospital Ramón y Cajal de Madrid, y en especial a mis compañeros de residencia, con los que he compartido momentos inolvidables a lo largo de estos años.

Y finalmente a mi familia, por su esfuerzo y sacrificio para que haya podido llegar hasta aquí.

ABREVIATURAS

CMM: Cirugía Micrográfica de Mohs

TDF: Terapia Fotodinámica

ALA: Ácido 5-aminolevulínico

PpIX: Protoporfirina IX

MAL: Metil aminolevulinato

FDA: Food and Drugs Administration

ÍNDICE

| | Pág. |
|--|------|
| 1. INTRODUCCIÓN | 5 |
| a. Introducción a la Cirugía de Mohs | 6 |
| b. Antecedentes históricos | 8 |
| c. Descripción de la técnica | 10 |
| d. Indicaciones | 18 |
| e. Limitaciones | 35 |
| f. Técnicas diagnósticas | 36 |
| i. Confocal | 36 |
| ii. Ecografía | 37 |
| iii. Fluorescencia | 39 |
| 2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVO | 52 |
| 3. MATERIAL Y MÉTODOS | 55 |
| a. Selección de pacientes | 56 |
| b. Descripción de la técnica | 58 |
| c. Comparación de ambas técnicas | 60 |
| d. Análisis estadístico | 61 |
| 4. RESULTADOS | 65 |
| 5. DISCUSIÓN | 78 |
| a. Elección de pacientes | 79 |
| b. Técnica de fluorescencia | 80 |
| c. Determinación del área tumoral mediante CMM | 81 |
| d. Comparación de resultados | 83 |
| e. Resultados | 84 |
| f. Interpretación de resultados | 89 |
| 6. CONCLUSIONES | 109 |
| 7. RESUMEN | 111 |
| 8. ABSTRACT | 114 |
| 9. BIBLIOGRAFÍA | 117 |

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN A LA CIRUGÍA DE MOHS

Existen múltiples variedades de tratamiento para el cáncer cutáneo no melanoma. Entre ellas, las más comúnmente empleadas por los dermatólogos son la extirpación quirúrgica, crioterapia, imiquimod tópico y curetaje y electrocoagulación¹. Otras técnicas menos utilizadas en la práctica habitual también han mostrado su eficacia como son la aplicación de 5-fluorouracilo tópico² o intralesional³, interferón intralesional⁴, quimioterapia sistémica⁵ o el láser. Todas estas técnicas pueden darnos excelentes resultados en determinadas situaciones, sin embargo al emplearlas carecemos de la seguridad de haber eliminado completamente la lesión, ya que ninguna de ellas puede darnos información sobre los límites exactos del tumor y de su total curación.

Por esta razón, existen ciertos tipos de neoplasias cutáneas localmente invasivas, o tumores localizados en áreas anatómicas específicas que poseen un alto índice de recidivas locales. La recurrencia suele deberse por una estructura tridimensional asimétrica del tumor, con prolongaciones imposibles de predecir macroscópicamente y que infiltran lateralmente y en profundidad en los tejidos donde asientan. Además, los tumores pueden seguir e infiltrar trayectos nerviosos, extenderse hasta cartílago y hueso, o penetrar en profundidad a través de los planos de fusión embriológicos, que si bien no han podido ser confirmados histológicamente, la alta frecuencia de invasión en profundidad a través de estos teóricos planos en tumores que afectan la región centrofacial o retroauricular apoyan esta teoría⁷.

A pesar de extirpar la lesión con unos márgenes adecuados o usar técnicas diagnósticas de imagen para intentar predecir el patrón de crecimiento y

extensión tumoral, solo el análisis minucioso del 100% de los bordes de la pieza quirúrgica puede garantizar la completa extirpación de la lesión y por tanto su curación.

En una extirpación quirúrgica convencional, la pieza es analizada por el patólogo siguiendo una técnica estándar, que suele consistir en realizar cortes verticales seriados separados entre si por 2-4 mm¹. Para un tumor simétrico y bien delimitado este tipo de análisis suele ser suficiente, sin embargo este método supone que el tejido situado entre corte y corte quede sin analizar, pudiéndose encontrar entre este grosor proyecciones digitiformes que infiltren el tejido adyacente.

En la práctica clínica, un porcentaje no despreciable de tumores informados como completamente extirpados recidivan al cabo de un tiempo. Excluyendo la posibilidad de micrometástasis o de crecimiento tumoral multifocal –infrecuente en la mayoría de tumores cutáneos primarios- la causa de estas recidivas es debida al incompleto análisis de los márgenes tumorales. La Cirugía Micrográfica de Mohs (CMM) supone una ventaja respecto al resto de técnicas debido a que se analiza el 100% de los bordes de la pieza extirpada, pudiendo detectar las proyecciones digitiformes de tumores asimétricos o con un patrón de crecimiento irregular.

Por esta razón, la CMM es la técnica que posee un mayor índice de curación de los tumores cutáneos localmente invasivos, minimizando a su vez la extirpación de tejido sano peritumoral. El tumor es extirpado en sucesivos estadios, y guiado por el análisis histológico tridimensional de los bordes, el cirujano puede ir dibujando toda el área tumoral y localizar nidos tumorales que se escaparían usando un método convencional.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La idea de la extirpación secuencial de un tumor la debemos a Frederic E. Mohs cuando era alumno interno de medicina en el departamento de "cancer research" en el año 1930.^{8,9}

Estudiando el efecto irritativo de una solución de cloruro de zinc al 20% inyectada en tumores, se dio cuenta de que el tejido tratado quedaba perfectamente fijado y sin alterar la arquitectura histológica normal. Este hallazgo le hizo plantearse la idea de poder extirpar un tumor bajo control microscópico. Este procedimiento fue bautizado como quimiocirugía y consistía en aplicar pasta de cloruro de zinc en un tumor y su posterior extirpación con el análisis de los bordes tumorales. Si quedaba tumor residual en alguno de los márgenes estudiados el procedimiento se iba repitiendo hasta que todos los bordes quedaban libres de afectación tumoral. Con este procedimiento se obtenían unos índices de curación superiores al resto de técnicas, pero este nuevo método también presentaba serios inconvenientes. Primero, la aplicación de la pasta de cloruro de zinc era muy incómoda para los pacientes, y el procedimiento era muy costoso en el tiempo, realizándose un estadio por día¹⁰. Además, casi nunca se podía cerrar el defecto creado dejando curar las heridas por segunda intención.

En 1953, Mohs prescindió del cloruro de zinc para fijar los tejidos y describió la fijación "en fresco". Esta modificación no cambiaba la efectividad de la técnica y la hacía más simple y rápida. Se empezó a usar para la extirpación de pequeños tumores de párpados, evitando así la irritación ocular producida por el cloruro de zinc¹¹.

En los congresos del colegio americano de Quimiocirugía (1969, 1970) se empezaron a presentar series de tumores tratados con la técnica en fresco con tasas de curación a los 5 años del 100%^{9,12}. Las ventajas de la técnica en fresco permitían extirpar la lesión en un solo día, y por tanto reparar el defecto quirúrgico sin que tuvieran que dejarlo cerrar por segunda intención.

No es hasta el año 1986 cuando el Colegio americano de Quimiocirugía cambia el nombre para conocerse como Colegio Americano de Cirugía Micrográfica de Mohs⁹. En el 1987 vuelven a cambiar para denominarse Colegio Americano de Cirugía Micrográfica de Mohs y de Oncología Cutánea, nombre que refleja mejor la práctica diaria de sus miembros.

TÉCNICA

Hoy en día la técnica comúnmente empleada es la cirugía de Mohs en fresco, siendo esta la única modalidad usada por la mayoría de cirujanos. Sin embargo, algunos cirujanos eligen la técnica en fijación en algunos casos como tumores vasculares o en áreas anatómicas muy vascularizadas¹³. Otra indicación para la fijación de los tejidos es en el tratamiento de tumores que invaden el hueso, en cuyo caso la técnica en fresco no es útil¹⁴.

Cirugía de Mohs en Fresco.

Descripción de la técnica^{1,13,15-24}:

1. Asepsia.

Este tipo de cirugía se realiza en quirófano. El tiempo empleado puede ser largo si se requieren varios pases para la completa extirpación del tumor y en algunos casos puede ser necesario el uso de antibióticos como profilaxis ante una infección. En general, son necesarias las medidas estándar de asepsia de una intervención quirúrgica, pintando la superficie cutánea expuesta con soluciones antisépticas y cubriendo el resto de superficie con paños estériles. En definitiva, se usan las medidas de asepsia comúnmente empleadas para cualquier cirugía cutánea.

2. Anestesia.

Esta técnica se realiza bajo anestesia local, preferentemente con vasoconstrictor. Muchos cirujanos, para que la infiltración del anestésico local no distorsione la anatomía ni los márgenes clínicos del tumor, marcan con un rotulador dermatográfico o solución de violeta de genciana los márgenes clínicos

del tumor antes de infiltrar el anestésico local. En algunos casos, valorando la edad del paciente y/o comorbilidad se puede usar sedación bajo control de anestesista.

3. Decorticación.

Consiste en extirpar el tumor sin márgenes (Fig. 1 y 2). Puede usarse el bisturí o una cureta para sentir hasta donde llega el tumor. Esta maniobra funciona peor en tumores poco friables como por ejemplo los subtipos esclerodermiformes de un carcinoma basocelular. Esta pieza quirúrgica será analizada en el laboratorio de anatomía patológica para determinar el tipo de tumor y su subtipo histológico (en caso de haberse realizado biopsia previa, y tener ya el diagnóstico histológico, este paso no sería imprescindible)

4 Primer estadio.

Dejando un margen de 2-3 mm. desde el defecto creado (que corresponde a la zona previamente decorticada o cureteada), se extirpa una capa. Es necesario intentar mantener el mismo grosor en toda la pieza para poder facilitar el estudio histológico posterior.

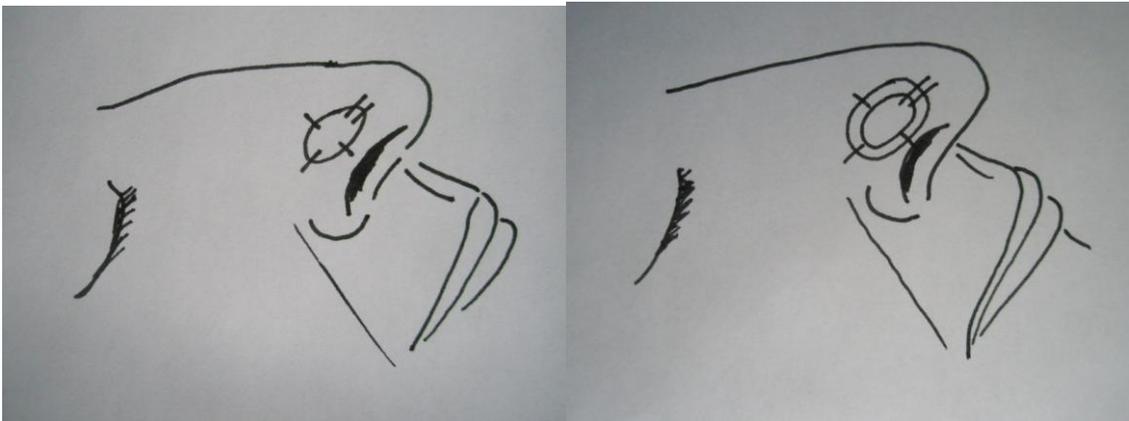
La incisión debe realizarse con el bisturí a un ángulo de 45° con la piel en la zona lateral y seguir paralelos a la superficie cutánea en la zona profunda.

La pieza se marca de forma horaria -con cortes de bisturí, hilos de sutura o con grapas- dejando marcada tanto la pieza como los bordes de incisión. Tras la extirpación, es preciso dibujar un mapa de la zona extirpada marcando las referencias que hemos dejado para poder orientar mejor el estudio histológico.

(Fig. 3-5)



Figuras 1 y 2: De izquierda a derecha, se observa tumor póbrememente delimitado en nariz que será extirpado mediante cirugía de Mohs. En la segunda imagen vemos el defecto obtenido tras el primer estadio quirúrgico.



Figuras 3 y 4: Esquema sobre papel del tumor extirpado. Es importante marcar las referencias horarias para no perder nunca la orientación espacial, clave en esta cirugía.



Figura 5: Fragmentos obtenidos. En la izquierda la pieza de decorticación, a la derecha el fragmento correspondiente al primer estadio quirúrgico. La pieza conserva las mismas marcas que las que hemos trazado sobre el paciente y en el esquema.

5. Procesamiento de la pieza.

Respetando siempre la orientación espacial, la pieza se divide en varios fragmentos para facilitar su análisis histológico -en tumores pequeños puede no ser necesario dividir la pieza y se puede procesar entera- (Fig 6). Todos los fragmentos deben ir perfectamente numerados y ordenados para no perder nunca la orientación, clave en el éxito de esta intervención. Para facilitar la orientación pueden usarse diferentes tintes/pinturas en algún borde, haciéndolo coincidir con una marca horaria²⁵. Estos fragmentos se congelan parcialmente con nitrógeno líquido y posteriormente se fijan en un criostato para su completa congelación. Es importante durante el congelamiento de la pieza intentar aplanar el borde lateral para situarlo en el mismo plano que el borde profundo (Fig 7); de este modo, al realizar un corte horizontal veremos a la vez el borde lateral y profundo²⁶⁻³⁰.

Una vez congelada la pieza, esta se corta en secciones horizontales de 5-7 micras de grosor. Este es el procedimiento estándar, aunque existen múltiples variantes de la técnica.

Los cortes obtenidos se tiñen habitualmente con hematoxilina-eosina y son analizados por un patólogo³¹ (Fig 8-11).

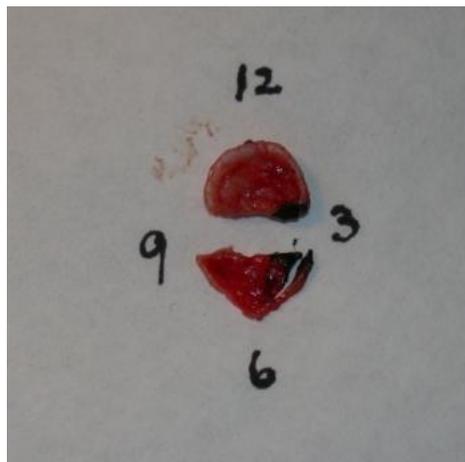


Figura 6: respetando las marcas horarias, la pieza puede dividirse para facilitar su estudio histológico. Puede teñirse un borde para conseguir una mejor orientación.

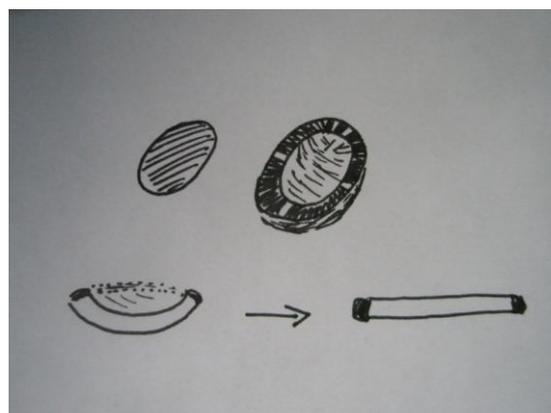


Figura 7: las piezas obtenidas son irregulares y cóncavas, es importante intentar aplanarlas para conseguir ver en un solo corte los márgenes laterales y profundos a la vez.



Figuras 8,9,10,11: *Procesamiento de la pieza. Congelación, cortes y tinción con hematoxilina-eosina.*

6. Interpretación.

Los focos tumorales microscópicos observados se localizan en el mapa y suelen pintarse en rojo. Al verlos, el cirujano puede trasladar los focos de afectación del mapeo histológico al paciente, sobre el defecto quirúrgico, y puede conocer con exactitud las zonas con remanentes tumorales.

Es importante remarcar que la imagen histológica obtenida mediante tejido en congelación no es tan clara como la que se obtiene cuando se prepara una muestra estándar y se fija el tejido en parafina, y en algunas ocasiones, los anejos cutáneos pueden asemejarse a focos de infiltración tumoral y llevar a

confusión; estos pequeños inconvenientes se salvan con la experiencia y el entrenamiento del patólogo en este tipo de muestras.

En algunos casos, donde diferenciar células tumorales de las normales puede ser complicado mediante el estudio en fresco, pueden aplicarse técnicas de inmunohistoquímica. Esta técnica suele usarse en tumores tipo: Enfermedad de Paget extramamaria, Léntigo maligno melanoma o en el Dermatofibrosarcoma protúberans³²⁻³⁵.

7. Tumor residual.

Si tras el estudio del primer estadio persiste afectación tumoral, el cirujano va extirpando -siempre siguiendo la misma técnica- aquellas áreas afectadas. Debe realizarse el dibujo y mapeo de la nueva zona extirpada para una correcta correlación entre el patólogo y el cirujano.(Fig. 12,13)

Este paso se repite las veces necesarias hasta conseguir la completa extirpación del tumor.



Figura 12: con rotulador rojo se pinta sobre el esquema el área con remanentes tumorales.

Figura 13: se extirpa el área afecta siguiendo la misma técnica, respetando y guardando las referencias horarias y pintándolo de nuevo sobre el esquema. La pieza obtenida se procesa de la misma forma que la anterior.

8. cierre del defecto quirúrgico.

Al usar una técnica en fresco, el cierre del defecto quirúrgico puede realizarse inmediatamente tras finalizar la completa extirpación. El tipo de cierre empleado dependerán del tamaño del defecto quirúrgico final y de la localización anatómica implicada.

En algunas circunstancias el cierre puede diferirse si van a verse implicados diferentes especialistas para la reconstrucción (oftalmólogos, cirujanos plásticos...). No obstante, en la mayoría de pacientes el cierre suele ser inmediato tras finalizar la extirpación.

Cirugía Micrográfica de Mohs en Parafina.

Existe una variante de la técnica de Cirugía de Mohs en fresco, y consiste en procesar la muestra de forma diferente y en lugar de congelarla se fija en parafina. Tiene la ventaja sobre el Mohs en fresco en que facilita el estudio histológico puesto que la imagen obtenida con este tipo de fijación es más fácil de interpretar para el patólogo³⁶. Además, pueden emplear técnicas de inmunohistoquímica en aquellos tumores de difícil diagnóstico.

El principal inconveniente de la técnica es que consume mayor tiempo. Cada tiempo o pase quirúrgico se realiza en diferentes días, lo que implica que se retrase la completa extirpación del tumor y su posterior reconstrucción.

La técnica quirúrgica es la misma que la que usamos para la Cirugía de Mohs en fresco.

INDICACIONES

Normalmente, la cirugía de Mohs se indica en tumores localmente invasivos difíciles de erradicar mediante cirugía convencional u otras modalidades terapéuticas anteriormente mencionadas. Pero además, hay que tener en cuenta otros parámetros igualmente importantes (tabla I). Estas otras características del tumor y/o paciente a considerar serán el aspecto clínico de la lesión, la histología obtenida mediante biopsia -previa a la cirugía-, el tamaño del tumor, el nivel de invasión, la localización cutánea o área anatómica involucrada, el estado inmune del paciente, es decir, si el paciente está inmunodeprimido, y por último si es un tumor primario o por el contrario se trata de una recurrencia.^{1,37-41} Debe considerarse usar Cirugía de Mohs en los tumores recurrentes.^{42,43} Normalmente, el cáncer de piel suele crecer e invadir a través de los planos con menor resistencia. En una recurrencia estos patrones de crecimiento se alteran y pueden cambiar, y podemos tener tumores que van creciendo e invadiendo a través de la zona cicatricial de una cirugía o radioterapia previa.^{1,44-46}

Además, extirpaciones incompletas de tumores cuyo defecto quirúrgico haya sido reconstruido mediante un injerto y sobretodo colgajos, proporcionan al remanente tumoral nuevas vías de crecimiento e infiltración a través de planos laterales, nunca esperables ante un tumor sin tratamientos previos. Esto hará que las recidivas de tumores reconstruidos mediante colgajos complejos sean particularmente complicadas⁴⁷. En estos casos la cirugía de Mohs es muy útil, puesto que nos da una visión tridimensional del tumor, pudiendo perseguir estos planos atípicos de infiltración tumoral.

Los tumores localizados en algunas áreas anatómicas se asocian a una infiltración o propagación mucho mayor a la esperada, y por lo tanto tienen un riesgo de recurrencia mayor ya que muchas de las extirpaciones convencionales son incompletas. Por ejemplo en aquellas áreas corporales donde la piel se sitúa sobre el cartílago como en el pabellón auricular, el tumor puede penetrar en el cartílago y extenderse lateralmente a través del plano de menor resistencia, involucrando una extensa área. Cuando esto ocurre, se produce el fenómeno denominado "punta del iceberg", para describir estos casos donde el tumor es mucho mayor de lo clínicamente esperado. Al usar Cirugía de Mohs en estos casos, el defecto final es mucho mayor que lo que podíamos prever en un principio.

Otras áreas anatómicas complicadas para una completa extirpación son aquellas en que la piel se sitúa sobre hueso como ocurre en cuero cabelludo, sienes, raíz nasal y frente. Estos tumores pueden penetrar e invadir el periostio y encontrarnos ante una situación parecida a la que podemos encontrarnos en el pabellón auricular.

En la punta nasal, el tumor puede infiltrar en profundidad entre los cartílagos.

Los planos de fusión embrionarios: región preauricular, surco retroauricular, surco nasogeniano, canto interno del ojo y filtrum, son áreas donde los tumores pueden infiltrar en profundidad. Debido a este tipo de infiltración, los tumores que asientan en dichas localizaciones presentan índices de recurrencias muy altos.⁴⁸

La infiltración perineural de un tumor es otra característica que proporciona un plano de invasión en profundidad con una mínima resistencia. Los tumores que más se asocian a este tipo de infiltración son los carcinomas espinocelulares,

sobre todo aquellos de mayor tamaño (64% de invasión perineural en carcinomas espinocelulares con un tamaño superior a 2,5 cm, frente a solo un 11% de invasión perineural en tumores de inferior tamaño)⁴⁹. Además, otro estudio muestra una diferencia estadísticamente significativa en la incidencia de recurrencias en carcinomas espinocelulares cuando se demuestra invasión perineural frente aquellos que no la poseen.^{50,51} Al igual que en otros casos complejos comentados, el índice de recurrencias tras Cirugía de Mohs es menor que la que se obtiene con otras modalidades terapéuticas en aquellos tumores en los que hay invasión perineural.⁵²

Tumores cutáneos de gran tamaño, sea cual sea su localización, también son subsidiarios a ser tratados mediante Cirugía de Mohs, ya que se ha visto que estas neoplasias presentan un índice de recurrencias mayor cuando son tratados con otros métodos, debido probablemente a extensión subclínica considerable.⁴²

Otra indicación clara para la cirugía micrográfica son los tumores clínicamente mal delimitado.⁴² Estos presentan invasión subclínica más allá de lo que podemos observar a simple vista. Para solventar esta situación, se suelen dejar unos márgenes generosos de seguridad en las extirpaciones convencionales, sin embargo, a pesar de esto, el índice de recurrencias es mayor que en el que observamos tras cirugía de Mohs. Esta, además, al poder estudiar el 100% de la pieza nos permite extirpar exclusivamente el tumor, preservando al máximo el tejido sano perilesional, lo que origina un defecto quirúrgico final de menor tamaño que la cirugía convencional y una mayor preservación de la funcionalidad y cosmética del área anatómica implicada.

Gracias al ahorro de tejido por el control de los márgenes tumorales, la cirugía micrográfica de Mohs será la técnica de primera elección en localizaciones vitales o en áreas con un riesgo elevado de recurrencias o metástasis. Además, muchas áreas donde la preservación de tejido sano es vital como el pabellón auricular o los labios, son áreas donde se ha demostrado un mayor índice de metástasis.

La denominada zona H de la cara que incluye nariz, cantos interno y externo de ojos, áreas preauricular y postauricular, filtrum y borde del bermellón de los labios, así como dedos y región anogenital^{1,42,47}, son regiones anatómicas con compromiso cosmético y funcional importantes, por lo que los tumores que asienten sobre cualquiera de estas localizaciones debería extirparse mediante cirugía de Mohs.

Por último hay que tener en cuenta aquellos tipos de tumores que por su subtipo histológico presenten altos índices de recurrencias. Esto suele ocurrir en algunos subtipos de carcinomas basocelulares, por ejemplo en las variantes esclerodermiformes o morfeiformes, micronodulares... La cirugía de Mohs también estará indicada en aquellos tumores con un alto índice de metástasis, bien sea por la naturaleza del tumor como ocurre en el caso del léntigo maligno melanoma, bien por la localización anatómica como por ejemplo un carcinoma espinocelular situado en el labio, por tratarse de una neoplasia con un gran tamaño, o por circunstancias del paciente como en el caso de inmunosupresión⁵³.

TABLA I. CRITERIOS DE INCLUSIÓN PARA EL TRATAMIENTO DE UN TUMOR MEDIANTE CMM.

| CRITERIOS DE INCLUSIÓN PARA CIRUGÍA DE MOHS | |
|--|---|
| Criterios dependientes del tumor: | Tamaño |
| | Agresividad (subtipo histológico o alto riesgo de metástasis) |
| | Invasión perineural |
| | Tumores clínicamente mal delimitados |
| | Recidivas |
| | Extirpaciones incompletas |
| Criterios según localización anatómica | Zona H de la cara |
| | Dedos |
| | Genitales |
| | Planos de fusión embrionarios |
| | Localizaciones con alto riesgo de metástasis |
| Áreas irradiadas | |
| Características del paciente | Inmunosupresión |

CARCINOMA BASOCELULAR

Este tipo de tumor comprende la inmensa mayoría de casos de cirugía de Mohs. Presenta unas tasas de curación del 99% en tumores primarios y del 96% en recidivas. Estas cifras, son superiores al resto de modalidades terapéuticas (extirpación convencional 89,9% en primarios y 82,6% en recidivas; curetaje y electrocoagulación 92,3% y 60% respectivamente; radioterapia 91,3% y 90,2%)^{25,53}. Técnicas más recientes como la aplicación de crema de Imiquimod 5%^{54,55} y Terapia Fotodinámica^{56,57} presentan buenas tasas de curación con excelentes resultados cosméticos, aunque no hay series de pacientes con tumores recidivados. Estas técnicas suelen emplearse en tumores superficiales o nodulares. La combinación de diferentes técnicas como curetaje y electrocoagulación y la posterior aplicación de Imiquimod llega a tasas de curación del 96%⁵⁸ (Tabla II)

TABLA II. COMPARATIVA DE TASAS DE CURACIÓN DEL CARCINOMA BASOCELULAR SEGÚN MODALIDAD TERAPÉUTICA

| TÉCNICA | TASA DE CURACIÓN EN TUMORES PRIMARIOS | TASA DE CURACIÓN DE TUMORES RECIDIVADOS |
|--|--|--|
| Cirugía de Mohs | 99% | 96% |
| Cirugía convencional | 89,9% | 82,6% |
| Curetaje electrocoagulación | + 92,3% | 60% |
| Radioterapia | 91,3% | 90,2% |
| Imiquimod 5% crema | 80-85% | - |
| Terapia Fotodinámica | 52'2-89,4% | - |
| Curetaje+ electrocoagulación Imiquimod 5% crema | 96% + | - |

Pero estas cifras son en general, sin tener en cuenta las localizaciones del tumor, tamaño, ni el subtipo histológico, ni el resto de parámetros mencionados anteriormente a tener en cuenta en un tumor a la hora de valorar su agresividad. Por ejemplo, tumores de localización perioral y/o periocular, presentan menores tasas de curación, aún así, siguen siendo muy buenas, superiores al 98%.²⁵

Analizando el subtipo histológico de basocelulares nos encontramos con que en variantes esclerodermiformes, el tumor se entremezcla con el estroma, dibujando trayectos tortuosos y asimétricos difíciles de detectar en ocasiones con el análisis anatomopatológico convencional, pudiendo dar como bordes quirúrgicos libres tumores incompletamente extirpados.

En este tipo de basocelulares existe una parte de tumor subclínica difícil de detectar a simple vista. En una serie de 51 basocelulares esclerodermiformes, se comparó el tamaño clínicamente aparente respecto el tamaño real. El promedio de la extensión subclínica del tumor fue de 7,2 mm respecto el tamaño del tumor clínicamente aparente⁵⁹.

Los carcinomas basocelulares infiltrativos normalmente presentan prolongaciones alargadas que infiltran en profundidad. Estas proyecciones pueden estar formadas por finas líneas tumorales, de unas pocas células de grosor, lo que hace que a veces sean muy difíciles de detectar. La diferencia entre este tipo de infiltración y la que nos encontramos en tumores morfeiformes, es que en los infiltrativos no existe la fibrosis del estroma peritumoral que típicamente nos diferencia a un tumor esclerodermiforme. Estas características hacen que los basocelulares infiltrativos sean agresivos, ya que suelen estar mal delimitados y la invasión en profundidad es muy frecuente. Además, no es infrecuente encontrarnos con invasión perineural.

En diferentes estudios realizados sobre recidivas de basocelulares, se ha buscado las características histológicas del tumor primario. En muchos de estos casos se han encontrado basocelulares infiltrativos o micronodulares. Dada la naturaleza agresiva de este tipo de tumor la cirugía de Mohs se presenta como la mejor opción terapéutica⁶⁰. Los carcinomas basocelulares

micronodulares pueden presentarse como tumores mal delimitados, asemejando mas una placa que un nódulo (como se presentarían los nodulares típicos). En el estudio histológico se observa un patrón de crecimiento más disperso que la variedad o subtipo nodular. Esto hace que en extirpaciones simples, mediante cirugía convencional, el margen quirúrgico quede afecto en el 18,6% de los micronodulares versus el 6,4% de los nodulares. En otro estudio comparativo entre los tamaños de los carcinomas basocelulares micronodulares y el de los nodulares se observó una extensión mayor de los micronodulares.⁶¹

El subtipo basoescamoso es una variedad de basocelular con características de carcinoma basocelular y características de carcinoma espinocelular. Pero su comportamiento biológico los hace más parecidos a los espinocelulares, ya que son mucho más agresivos que los carcinomas basocelulares y su índice de recurrencias tras la cirugía convencional es mucho mayor. Al igual que con los espinocelulares, los subtipos basoescamosos pueden metastatizar, llegando a presentar una incidencia de metástasis en un 9,7% de los casos.⁶²

Es lógico pensar que los subtipos agresivos de basocelular -morfeiformes, infiltrativos, micronodulares, basoescamosos- son los que recidivan por presentar bordes mal delimitados o proyecciones asimétricas que infiltran en profundidad, sin embargo, tumores típicamente poco agresivos como serían los basocelulares superficiales recurren a veces tras una extirpación convencional. En esta variedad tumoral podemos encontrarnos con lóbulos horizontales de células basales atípicas localizadas entre dermis y epidermis. Estos lóbulos o pequeños focos pueden extenderse más allá de los bordes tumorales clínicamente aparentes.

Por último tenemos los basocelulares multicéntricos (múltiples focos de basocelular en un área concreta). No es un subtipo de tumor, más bien se trata de casos en los que ha habido una recurrencia de un tumor incompletamente extirpado, o a la aparición de diferentes carcinomas basocelulares sobre un área irradiada o sometida a cualquier carcinógeno.⁶³ Al encontrarnos con múltiples focos tumorales es muy difícil realizar una extirpación completa, sea cual sea la técnica utilizada, ya que para realizar CMM necesitamos que el tumor sea continuo.

CARCINOMA ESPINOCELULAR

El carcinoma espinocelular o escamoso es el segundo tumor más frecuentemente tratado mediante cirugía de Mohs⁶⁴.

El tratamiento del carcinoma espinocelular supone un mayor reto que el del basocelular, ya que se trata de un tumor más agresivo. Esto se debe principalmente a la posibilidad que existan metástasis locales, es decir, nidos tumorales no contiguos a la masa tumoral principal, lo que dificultan la extirpación completa. No obstante, esta situación suele ocurrir al igual que en el carcinoma basocelular, tras recidivas de tratamientos incompletos²⁵.

En general, la incidencia de metástasis en un carcinoma espinocelular primario cutáneo se estima que es entre el 2-3%^{65,66}. En la mayoría de los casos, las metástasis afectan los ganglios linfáticos regionales, aunque también se han descrito metástasis a distancia a través de la diseminación hematológica del tumor (5-10% de los casos).⁶⁵

La incidencia de metástasis varía dependiendo de la localización del tumor, de las condiciones basales del paciente y su situación inmune, el subtipo o variedad histológica y del tamaño tumoral.⁶⁷

Sin embargo, los espinocelulares mucocutáneos presentan una tendencia superior a las metástasis. En algunas series de casos la tasa de metástasis que presentan los carcinomas espinocelulares en mucosas asciende hasta el 11%⁶⁶.

Los tumores que asientan en áreas de inflamación crónica presentan también mayor riesgo de metastatizar. Por ejemplo, se han encontrado 18% de metástasis en espinocelulares primarios localizados sobre cicatriz de quemadura; 31% en osteomielitis crónica; 20% sobre áreas de radiodermatitis; y 30% en cicatrices de lupus discoide⁶⁵.

La invasión perineural es más frecuente en los carcinomas espinocelulares que en los basocelulares, encontrándose dicha invasión en más del 36% de los casos^{50,68}. Para estos tumores, la invasión perineural supone vías por donde pueden llegar a avanzar varios centímetros. Además, es más frecuente encontrarla en los tumores de mayor tamaño (64% de invasión perineural en tumores con un tamaño igual o superior a 2,5 cm de diámetro, frente a solo un 11% en tumores con un diámetro inferior). También es más frecuente encontrarla en carcinomas espinocelulares pobremente diferenciados⁵⁰. Como la Cirugía de Mohs ha demostrado ser la técnica que mejor tasas de curación tiene en tumores con invasión perineural, se establece como tratamiento de elección.⁶⁹ En general, las tasas de curación que ofrece la cirugía de Mohs para los carcinomas espinocelulares es muy buena. En una serie de 3299 carcinomas espinocelulares tratados con Mohs, y donde también se incluyeron

tumores con metástasis, la tasa de curación a los 5 años para tumores de menos de 2 cm de diámetro fue del 99%, para tumores de tamaño entre 2 y 3 cm se obtuvo un 82% de curación a los 5 años, y para lesiones con un tamaño superior a 3 cm la tasa de curación obtenida fue del 59%.

La variedad histológica del tumor también influye en las tasas de curación. En los carcinomas espinocelulares utilizamos la clasificación de Broders⁷⁰ basada en los grados de diferenciación-maduración celular, donde los tumores más diferenciados (grados 1 y 2) poseen una curación a los 5 años del 99% y 94% respectivamente. Los tumores peor diferenciados (grados 3 y 4) tienen unas tasas de curación a los 5 años menor, siendo del 74% y del 45% respectivamente²⁵. Las tasas más bajas de curación se deben principalmente a la aparición de metástasis y a la invasión de estructuras vitales en su crecimiento.

El carcinoma verrucoso es un tipo de espinocelular de bajo grado y bien diferenciado, aunque suelen penetrar en profundidad. Este tipo de tumor suele localizarse en áreas anatómicas comprometidas, donde la preservación de tejido sano peritumoral es importante, como son el pie, la boca y los genitales, condiciones que harán que la cirugía de Mohs sea una buena opción terapéutica para intentar evitar grandes amputaciones⁷¹⁻⁷³.

La variante in situ del carcinoma espinoso (enfermedad de Bowen o eritroplasia de Queirat) suele responder bien a múltiples tratamientos y no siempre precisa de la cirugía para su curación, sin embargo, aquellos localizados en genitales o los que tengan un margen pobremente definido podrían beneficiarse de la cirugía de Mohs^{74,75}.

CARCINOMA ANEXIAL MICROQUÍSTICO

El carcinoma anexial microquístico es un tumor anexial poco frecuente. Si bien la aparición de metástasis en este tumor son raras, su agresividad local es elevada por su tendencia a la infiltración de tejidos profundos y a la presencia de invasión perineural. Estas características hacen que sea un tumor con un alto índice de recurrencias tras la cirugía convencional, por lo que la cirugía de Mohs se establece como tratamiento de elección⁷⁶.

DERMATOFIBROSARCOMA PROTUBERANS

El Dermatofibrosarcoma Protuberans es un tumor dérmico de lento crecimiento y que suele localizarse en tronco y extremidades superiores. Solo metastatiza en un 3% de los pacientes, pero su agresividad local es muy elevada, presentando prolongaciones subclínicas que hacen que sea muy complicado de extirpar con métodos tradicionales. Además, histológicamente también es complicado de diagnosticar, ya que las células tumorales se parecen mucho a las del tejido sano peritumoral.

Todo esto hace que las recidivas de este tumor lleguen hasta el 49% de los casos tras una extirpación convencional y el estudio negativo de los bordes de la pieza quirúrgica. Incluso dejando márgenes de seguridad amplios, de hasta 3 cm peritumorales el índice de recurrencias es de hasta un 11%.

Las series de dermatofibrosarcomas protuberans tratados con Mohs son menos extensas que las que hay publicadas para tumores más frecuentes como los basocelulares o espinocelulares, pero llegan a curaciones del 100%.^{1,14,62,77-79}

La principal dificultad en este tumor es distinguir las células neoplásicas de las normales, por lo que en este tumor se suele usar la técnica de Mohs en parafina con ayuda de técnicas de inmunohistquímica⁸⁰.

ENFERMEDAD DE PAGET EXTRAMAMARIA

La enfermedad de Paget extramamaria se trata de un carcinoma apocrino, por lo que sus localizaciones serán zonas anatómicas donde haya este tipo de glándulas. Sus principales localizaciones son los genitales y área del periné, y más raramente en la axila.

Este carcinoma suele crecer lentamente, pero se han documentado invasión y metástasis. El tratamiento de elección es la cirugía, e incluso con vaciamiento ganglionar si hay invasión dérmica.

En ocasiones, este tumor puede ser secundario a un adenocarcinoma oculto, por lo que ante una enfermedad de Paget extramamaria es obligatorio descartar la presencia de una neoplasia interna. En este caso, el tratamiento del adenocarcinoma es la prioridad terapéutica.

Cuando tratamos este tumor mediante cirugía convencional las recidivas son muy altas, variando entre el 31% al 61%. Con Cirugía de Mohs los resultados son mejores, aunque también se han documentado recidivas. No obstante, la ventaja de usar la cirugía de Mohs en estos casos reside en que la zona afectada suele ser la región anogenital, y la preservación de tejido sano es importante para preservar la funcionalidad posterior⁸¹⁻⁸³.

MELANOMA

El uso de la cirugía de Mohs para el melanoma es controvertido, principalmente por dos razones: la primera es que se trata de un tumor agresivo localmente y a distancia, y por tanto, la cirugía de Mohs no puede garantizar la curación; segundo porque es difícil distinguir las células neoplásicas en una preparación en fresco -en congelación-, por lo que suelen ser necesarias aplicar modificaciones en el procesamiento anatomopatológico³⁶. Dicha controversia viene desde sus orígenes ya que se pensaba que al realizar múltiples pases sobre este tumor se podía facilitar su diseminación, por lo que se prefería usar la técnica con fijación⁸⁴. Más tarde, en una serie de 193 pacientes con melanoma, se comparó si había diferencias en la supervivencia en aquellos en los que primero se biopsiaba el tumor respecto a los que eran extirpados completamente desde el principio. Al ver que no había diferencia en los resultados se pensó que la teoría de la diseminación tumoral en la cirugía no era cierta. Otros estudios avalan estos resultados^{85,86}.

Pero uno de los mayores inconvenientes para tratar los melanomas con cirugía de Mohs es que esta técnica está diseñada para tumores con un crecimiento e invasión contiguos. Cuando el patrón de crecimiento puede ser multicéntrico y la aparición de satelitosis o metástasis a distancia es frecuente, esta técnica no es tan fiable³⁶.

Con la publicación de las primeras series de pacientes con melanoma tratados con cirugía de Mohs ya se observó que los índices de curación (paciente libre de enfermedad a los 5 años) para el melanoma dependen del grosor del tumor y por tanto del estadio tumoral, siendo de hasta el 100% en tumores con Clark

inferior o igual a II, y reduciéndose la curación hasta el 33% en tumores de Clark V²⁵.

Existen otras series más recientes. Zitelli et al⁸⁷ describen 553 melanomas con un seguimiento de 15 años, pero la supervivencia a los 5 años era equivalente a los publicados con cirugía convencional. Sin embargo, las recurrencias locales eran menores que las publicadas en controles históricos, cuando se clasificaban los tumores según su grosor o Breslow^{88,89}. Otros estudios con seguimientos de hasta 10 años no tienen recurrencias locales⁹⁰.

Además, para una correcta interpretación es necesario poder diferenciar en una preparación en fresco entre tejido sano y tumoral, y en el caso del melanoma resulta complicado. Por esta razón se han ido incorporando modificaciones a la cirugía de Mohs en fresco como es la tinción con técnicas de inmunohistoquímica.⁹¹⁻⁹⁹

En el momento actual y a pesar de las controversias que despierta esta técnica para el melanoma, la cirugía de Mohs sería la técnica de elección para las lesiones mal delimitadas o las que afectan áreas anatómicas comprometidas. Sin embargo no ofrece ventajas respecto otras técnicas en enfermedad metastásica.¹⁰⁰⁻¹⁰²

OTRAS INDICACIONES

Si bien la cirugía de Mohs suele utilizarse con mayor frecuencia en carcinomas basocelulares, espinocelulares, dermatofibrosarcoma protúberans, carcinoma aneural microquístico, enfermedad de Paget y melanoma, hay muchos otros tumores cutáneos que también han sido tratados con esta técnica, pero que por su menor incidencia en la población no hay series largas publicadas, solo descripción de casos o series cortas.

Se han descrito casos tratados con cirugía de Mohs de: angioendotelioma, angiosarcoma, carcinoma apocrino, fibroxantoma atípico, papulosis bowenoide, cilindroma, adenocarcinoma ecino, eritroplasia de Queyrat, carcinoma glandular, hemangioendotelioma, hemangiosarcoma, queratoacantoma, leiomiomasarcoma, carcinoma laríngeo, schwannoma, carcinoma de Merkel, osteomielitis, carcinoma sebáceo²⁴.

LIMITACIONES DE LA CIRUGÍA DE MOHS

Las dos grandes ventajas de la cirugía micrográfica de Mohs son las altas tasas de curación y la preservación al máximo del tejido sano peritumoral, pero también presenta sus inconvenientes o limitaciones.

Para realizar esta técnica se necesita de personal entrenado, no solo el cirujano, sino también los anatomopatólogos, técnicos del laboratorio, enfermería... y la colaboración del paciente.

Hay algunas localizaciones donde realizar esta técnica es complicado, con el cartílago o el hueso, y mantener la orientación en heridas profundas que afecten músculo no siempre es fácil.

La interpretación histológica en fresco es más complicada que la que los patólogos suelen realizar normalmente en parafina, lo que puede llevar en ocasiones a errores de interpretación, pudiendo confundir infiltrado inflamatorio con células tumorales.

Todo esto hace que los errores técnicos sean la causa más común de recurrencias tras la Cirugía de Mohs²⁴.

Además es una técnica que consume tiempo, resultando un proceso quirúrgico más largo que el convencional. Por eso se está buscando alguna técnica diagnóstica que ayude al cirujano a dibujar los bordes del tumor y poder reducir el tiempo quirúrgico y el coste de la cirugía en general.

Estas limitaciones hacen que no deba usarse este tipo de cirugía para cualquier tumor, reservándola solamente en aquellos casos indicados.

TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS

El gold estándar en diagnóstico sigue siendo el estudio histológico, por lo que cualquier técnica se comparará con la anatomía patológica¹⁰³. Sin embargo, esta es una técnica agresiva, y se está buscando algún método que nos lleve a un diagnóstico fiable de forma no invasiva, y no solo del tipo de tumor, sino también de sus bordes para poder diferenciarlo del tejido sano que lo rodea.

Disponemos fundamentalmente de tres técnicas diagnósticas no invasivas para el cáncer cutáneo: la microscopía confocal, la ecografía y la fluorescencia.

MICROSCOPIA CONFOCAL

El microscopio confocal es una técnica no invasiva que permite ver in vivo las estructuras de la piel. La imagen que nos da son planos horizontales, similar a las imágenes obtenidas en la dermatoscopia¹⁰⁴.

Estas imágenes son superponibles a cortes histológicos, llegando a una muy buena correlación, lo que nos permite diferenciar el tipo de tumor, estudiar márgenes afectos o recidivas locales en tumores cutáneos. Su principal limitación es la profundidad a la que puede llegar. Esta técnica puede estudiar con una altísima precisión la epidermis y dermis superficial, pero no permite obtener imágenes de estructuras más profundas. Esto significa que podría diferenciarnos el tipo de tumor pero no sería útil para delimitar el borde profundo de un tumor que infiltre o que afecte estructuras dérmicas medias o profundas. Estas limitaciones de la técnica la descartan para el estudio preoperatorio de los márgenes tumorales.

Sin embargo, aprovechando la alta correlación que existe entre la microscopía confocal y la histología real, se ha intentado buscar otra aplicación de esta técnica para la cirugía de Mohs: la aplicación "ex vivo".

Se ha utilizado la microscopía confocal en sustitución al análisis anatomopatológico para estudiar presencia de células tumorales en las piezas quirúrgicas obtenidas tras los diferentes pases o estadíos del Mohs. Como su principal limitación es la profundidad no puede usarse la técnica "in vivo", pero como las piezas obtenidas tras la cirugía son finas, el microscopio confocal es perfectamente útil para buscar remanencias tumorales.

Comparándolo siempre con el estudio anatomopatológico, la sensibilidad y especificidad encontradas son del 96,6% y del 89,2% respectivamente. El valor predictivo positivo es del 93% y el valor predictivo negativo es del 94,7%. La ventaja que ofrece el confocal respecto el estudio histológico es que es una técnica más rápida, no necesitando todo el proceso de congelación, tinción... y procesamiento de la pieza para su análisis¹⁰⁵⁻¹⁰⁷.

ECOGRAFÍA

La ecografía de alta resolución y la tomografía también se han usado para intentar definir los márgenes tumorales y predecir el tamaño e infiltración tumoral antes de la cirugía, tanto para el cáncer cutáneo no melanoma, como para estudiar el grosor y presencia de adenopatías metastásicas antes de la cirugía del melanoma¹⁰⁸⁻¹¹¹ y para delimitar lesiones cutáneas benignas.¹¹²

La ventaja que nos ofrece la ecografía es que no tiene limitada la profundidad a la que puede llegar, a diferencia de la microscopía confocal, por lo que a priori podría dibujar mucho mejor los márgenes tumorales. Sin embargo, la ecografía es mucho menos fina y no nos puede dar el diagnóstico histológico del tipo tumoral, solo el tamaño y la infiltración.

Se han realizado estudios comparando el tamaño observado mediante la imagen por ecografía y el tamaño tumoral real obtenido mediante cirugía y el correspondiente estudio histológico (gold estándar).

Jambusaria-Pahlajani et al.¹¹³ estudian 100 pacientes con basocelulares y espinocelulares agresivos. Tras decorticación del tumor, un radiólogo entrenado buscaba remanencias tumorales. Los datos encontrados se comparaban con cirugía de Mohs y su posterior estudio histológico. Los resultados obtenidos fueron pobres, encontrando una sensibilidad del 32%, especificidad del 88%, valor predictivo positivo de 47% y valor predictivo negativo del 79%. En el análisis de subgrupos se observó que la ecografía detectaba mejor los tumores mayores de 1,74 cm.

En otro estudio realizado por Desai et al.¹¹⁴ estudian 50 basocelulares superficiales y nodulares. Tras la realización de la ecografía se extirpan con un margen de 4mm, buscando en cuantos de ellos quedan bordes quirúrgicos afectados. De los 50 tumores, 45 son completamente extirpados, obteniendo una buena correlación entre la imagen ecográfica y el tamaño tumoral, sin embargo en este estudio se excluyeron tumores morfeiformes, formas recurrentes y áreas que por su localización anatómica eran difíciles de escanear.

Moensen et al.¹¹⁵ comparan la ecografía con la tomografía para delimitar el tamaño en basocelulares y queratosis actínicas. Observan que la tomografía es algo más precisa, pero que tanto una como la otra tienden a sobreestimar el tamaño real de las lesiones.

La gran ventaja de la ecografía respecto la microscopía confocal es que puede estudiar lesiones que afectan dermis y estructuras profundas, sin embargo es poco sensible, detectando bien tumores grandes y nodulares, pero con mala

resolución para detectar tumores micronodulares, esclerodermiformes, recidivas...

En general podemos concluir que sería necesario mejorar la sensibilidad de la técnica para poder ser utilizada de forma sistemática previo a la cirugía cutánea.

FLUORESCENCIA

El diagnóstico por fluorescencia o fotodinámico es un procedimiento de diagnóstico por la imagen que nos permite delimitar los tejidos neoplásicos y diferenciarlos de los tejidos sanos peritumorales.

Esta técnica se basa en la capacidad que tienen ciertas sustancias de emitir fluorescencia, la cual puede ser captada fácilmente mediante sistemas adaptados de fotografía digital¹¹⁶.

Para entender bien todo el proceso vamos a explicar los pasos y conceptos básicos de la técnica.

Concepto de Fluorescencia

La luz ultravioleta tiene una longitud de onda menor que la luz visible. Si la aplicamos sobre una sustancia, esta cambia y emite longitudes de onda más largas, dentro del espectro visible (400-700nm, pudiendo ser amarillo, verde o rosa)¹¹⁶. Cuando esta respuesta se produce únicamente en presencia del estímulo energético (luz ultravioleta) recibe el nombre de fluorescencia; pero cuando la respuesta se produce tras haber retirado el estímulo se denomina fosforescencia.

Tanto la fluorescencia como la fosforescencia poseen luminiscencia, término general utilizado para la emisión de radiación.

En la naturaleza existen muchas sustancias que poseen la capacidad per se de fluorescencia, como algunas rocas, minerales, plantas, hongos, bacterias y muchas secreciones y tejidos corporales. A este tipo de fluorescencia la denominamos fluorescencia primaria o autofluorescencia.

Por otro lado existen otros productos, los fluorocromos, que al ser introducidos o aplicados en un sujeto provocan fluorescencia secundaria. Este tipo de marcadores son utilizados frecuentemente en el campo de la investigación, en laboratorios, en la medicina forense, o también en múltiples productos de la vida cotidiana, como son los detergentes y polvos de lavado, o en pinturas y sustancias plásticas para aumentar su visibilidad¹¹⁷.

Descripción de la técnica

FOTOSENSIBILIZANTES EMPLEADOS

El diagnóstico por fluorescencia también se denomina diagnóstico fotodinámico puesto que suele realizarse de forma rutinaria en la técnica de la Terapia Fotodinámica (TFD), por lo que explicaremos brevemente en qué consiste la técnica y los pasos a realizar.

La terapia Fotodinámica es una técnica que se basa en la administración de un fotosensibilizante, el cual se acumula selectivamente en determinadas células o tejidos de forma que al ser iluminados en presencia de oxígeno con luz de una adecuada longitud de onda y en dosis suficiente, produce como resultado la fotooxidación de materiales biológicos y la subsiguiente muerte celular¹¹⁸.

Además, las mismas sustancias fotosensibilizantes producirán fluorescencia al ser iluminadas con luz ultravioleta, clave del diagnóstico por fluorescencia.

Se han utilizado diversos fotosensibilizantes, tanto in vivo como in vitro. (tabla III)

TABLA III. FOTOSENSIBILIZANTES EMPLEADOS EN TFD

| FOTOSENSIBILIZANTES |
|---|
| Porfirinas ^{119,120} |
| Porfinas ¹²¹ |
| Porficonos ¹²² |
| Phtalocianinas ^{123,124} |
| Clorinas <ul style="list-style-type: none"> • Derivado benzoporfirínico anillo A monoácido¹²⁵ • N-aspartil-clorina e¹²⁶ • ATX-S10¹²⁷ • Tin etiopurpurin¹²⁸ • Meso-tetra(hidroxifenil)-clorina¹²⁹ |
| Lutetium texapirina ¹³⁰ |
| Porfirinas endógenas (ácido-delta-aminolevulínico (ALA)) |

Las cualidades del fotosensibilizante son importantes para la efectividad del tratamiento fotodinámico. Por ello, debe reunir las siguientes características¹³¹:

1. Capacidad de localizarse específicamente en el tejido o en las células a tratar.
2. Distribución homogénea en el tejido diana.

3. Alta lipofilia para difundir a través de las membranas biológicas.
4. Un periodo de tiempo lo más breve posible entre su administración y la acumulación máxima en dichos tejidos.
5. Tener una vida media corta y una rápida eliminación de los tejidos normales.
6. Activación a longitudes de onda con penetración óptima tisular.
7. Poseer un alto rendimiento en la producción de oxígeno singlete, o en general de especies reactivas de oxígeno.
8. Ausencia de toxicidad en la oscuridad.

En dermatología, la sustancia más comunmente empleada para la TFD es el ALA tópico.

Los primeros en aportar la idea de la "fotosensibilización endógena" del tejido tumoral fueron Kennedy y col.¹³² En este caso, en lugar de administrar el fotosensibilizante se aplica un precursor del mismo, el ALA, el cual se convierte en el fotosensibilizante activo, la protoporfirina IX (PpIX), y como todo buen fotosensibilizante es acumulado en determinadas células o tejidos¹³³.

A diferencia de los fotosensibilizantes administrados por vía intravenosa, el ALA tiene las ventajas de que es efectivo tanto por vía oral como por vía tópica. Además, otra de las cualidades que posee es que a las 24-48 horas de su administración el fotosensibilizante ya ha sido totalmente eliminado de los tejidos, no provocando una fotosensibilidad prolongada en el tiempo¹³⁴.

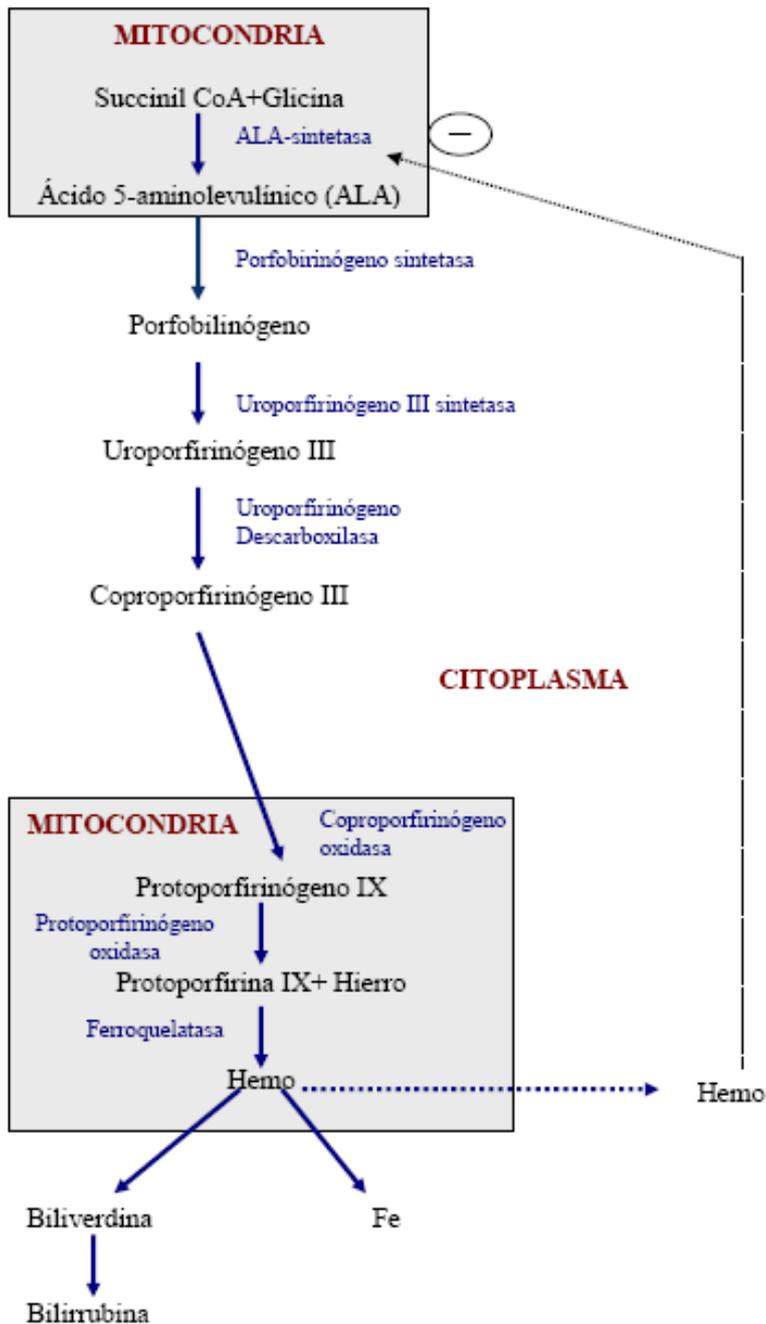
In vivo, la PpIX tiene picos de absorción a 408 nm, 510 nm, 543 nm, 583 nm, 633 nm¹³⁵.

Para poder entender como el ALA se transforma en PpIX hay que seguir la vía de la síntesis del grupo hemo, presente en las células de bacterias fotosintéticas y en las de los mamíferos¹³⁶.

El ALA es el primer compuesto intermedio en la síntesis de las porfirinas y se forma dentro de la mitocondria a partir de glicina y succinil CoA mediante una reacción catalizada por la enzima ALA-sintetasa, localizada en la membrana mitocondrial interna y es el principal regulador de la vía¹³⁷.

Luego el ALA difunde al citosol para transformarse, tras varios pasos enzimáticos, en coproporfirinógeno III, el cual entra de nuevo en la mitocondria donde es oxidado para formar el protoporfirinógeno IX, el cual se transformará en PpIX al perder seis hidrógenos. (Figura 14)

FIGURA 14. VÍA DE LA SÍNTESIS DEL GRUPO HEMO¹³⁴



NOTA. Los pasos de síntesis se representan con flechas continuas y los procesos reguladores de inhibición con discontinuas.

La PpIX posee una estructura tetrapirrólica lista para la incorporación de un ión ferroso, reacción catalizada por la ferroquelatasa, completándose así la síntesis del grupo hemo.

La vía del grupo hemo está regulada por la disponibilidad del sustrato y por un sistema de retroalimentación negativo, el cual inhibe a la enzima ALA-sintetasa directamente e inhibe también la transcripción, translación y el transporte de esta proteína dentro de la mitocondria, regulando así su propia síntesis¹³⁸.

Si se administra ALA de forma exógena este control es rebasado, dando lugar a una sobreproducción de porfirinas, particularmente de PpIX, ya que ninguna de las enzimas de la vía de síntesis del hemo está limitada salvo la ferroquelatasa.

De esta forma, las células desarrollarán fluorescencia debida al acúmulo de PpIX convirtiéndose así en células fotosensibilizadas. Además, la enzima porfobilinógeno deaminasa posee también un papel regulador, pues la administración exógena de ALA aumenta su actividad¹³⁹. Este acúmulo intracelular de PpIX se produce en la mitocondria, la membrana citoplasmática, la envoltura nuclear y los lisosomas.

En cuanto al mecanismo de captación intracelular del ALA es principalmente por transporte activo a través de las membranas, aunque no se pueden excluir otros mecanismos adicionales según cada tipo de célula¹⁴⁰. Por otro lado, el aumento de permeabilidad en aquellas áreas con sustrato córneo alterado también parece contribuir a la selectividad de la TFD con ALA tópico en las lesiones cutáneas.

Sin embargo, el ALA es una molécula hidrofílica, es decir que presenta baja lipofilia por lo que atraviesa pobremente las barreras biológicas, como es el

estrato córneo cutáneo y, por tanto, para alcanzar niveles clínicamente relevantes de PpIX es preciso aplicar dosis relativamente altas (ALA 20%) y mantener un tiempo largo de aplicación antes de iluminar (4-8 horas), suficiente para la completa transformación y máximo acúmulo de PpIX en tejidos a tratar¹⁴¹.

Estas limitaciones fueron las que llevaron a desarrollar un derivado, en concreto un éster metílico, el 5-metil-aminolevulinato (MAL) que es mucho más lipofílico que el anterior. Esta propiedad le confiere una elevada especificidad por las células neoplásicas.

En concreto MAL presenta una alta especificidad por las células del carcinoma basocelular en comparación con las células sanas, con un ratio de 9:1, frente al ALA que posee un ratio de solo 2:1.¹⁴²

Entre las ventajas del MAL sobre ALA están la mayor penetración tisular, aumentando la producción de PpIX intracelular, lo que permite una localización más selectiva en el tejido tumoral junto a un mayor rendimiento fotodinámico¹⁴³.

En cuanto al mecanismo de acción parece que parte se hidroliza a ALA, pero también existe evidencia de incorporación directa de MAL a la ruta sintética de las porfirinas, e incluso de efectos estimulantes del MAL en la ruta porfirínica¹⁴⁴.

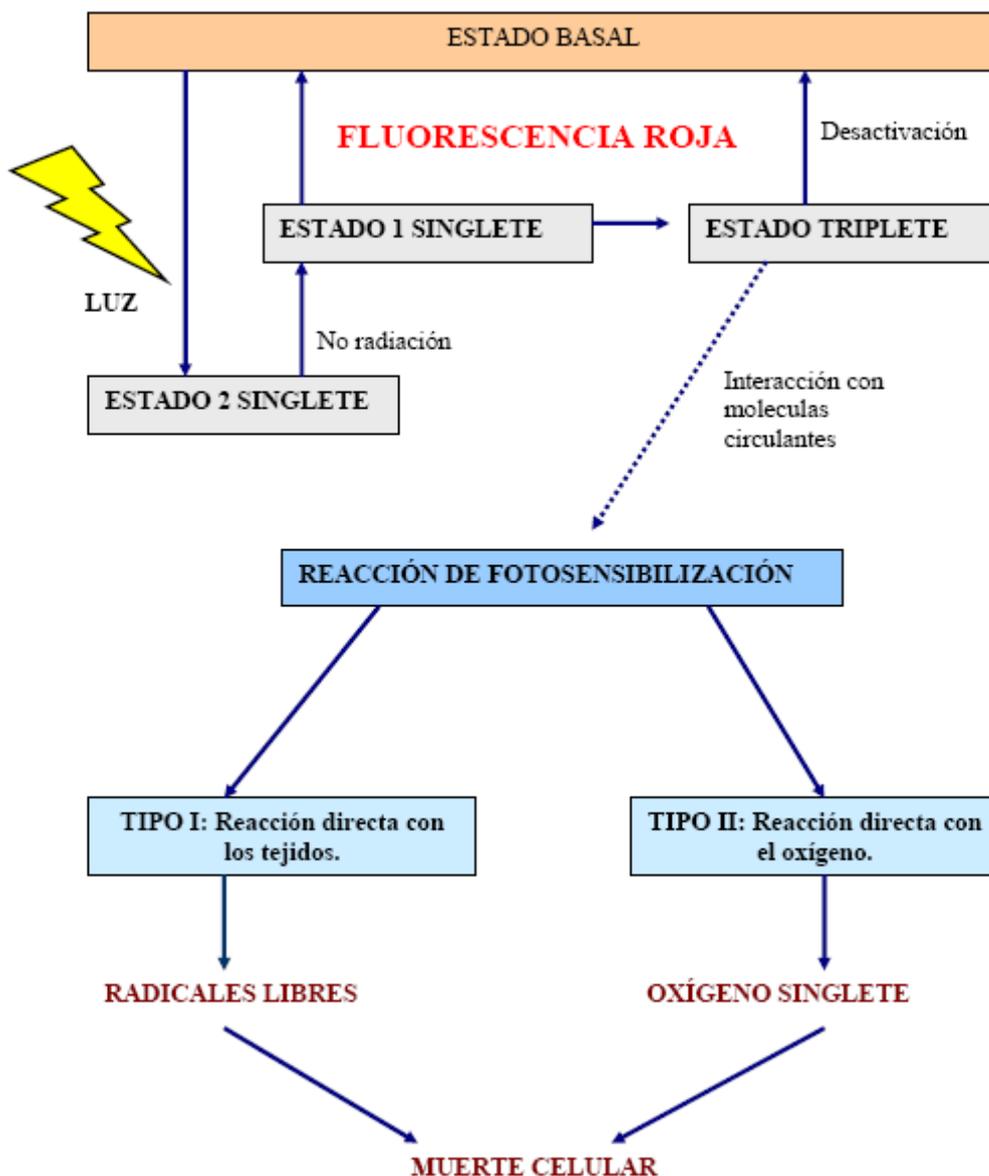
Además, el MAL gracias a su naturaleza lipofílica penetra mejor a través del estrato córneo, requiriendo un tiempo más corto de incubación, desde su aplicación hasta la iluminación -3 horas-, y como ventaja adicional, los pacientes refieren menor dolor durante la iluminación.

PRODUCCIÓN DE LA FLUORESCENCIA

La fluorescencia producida por las porfirinas acumuladas en la piel tras la aplicación del MAL es la que usamos para detectar o delimitar tumores.

Esto puede hacerse porque los tejidos patológicos producen y acumulan mayores cantidades de porfirinas a partir del MAL que los tejidos sanos. En consecuencia, cuando dichos tejidos son iluminados con luz de Wood (320-400 nm) emiten una fluorescencia roja¹¹⁸. Las bases físicas se representan en la (Figura 15)¹¹⁸

FIGURA 15. DIAGRAMA DE ACCIÓN DE UN FOTOSENSIBILIZANTE



Las moléculas de porfirinas están en su estado basal y cuando son irradiadas con una luz de adecuada longitud de onda pasan a un nivel energético superior e inestable: estado singlete. Estas moléculas de fotosensibilizante excitadas tienden a perder esa energía y vuelven a su estado energético basal de diversas maneras, una de ellas es emitiendo fluorescencia, lo que en la clínica nos permite realizar la técnica diagnóstica.

La intensidad de la fluorescencia es proporcional a la intensidad de la radiación y a la concentración de la sustancia fluorescente en el tejido, es decir, del agente fotosensibilizante.

TIEMPO DE INCUBACIÓN DEL FOTOSENSIBILIZANTE PARA EL DIAGNÓSTICO DE FLUORESCENCIA

Si bien el tiempo de aplicación del fotosensibilizante usando MAL para la TFD es de 3 horas, el diagnóstico puede realizarse o bien inmediatamente antes de aplicar la fuente lumínica o esperar entre 5 o 6 horas que es cuando se estima que la intensidad de la fluorescencia es mayor.

Incluso algunos autores que practican el diagnóstico de fluorescencia de forma rutinaria antes de las intervenciones quirúrgicas prefieren un periodo de oclusión de 24 horas, observándose igualmente una buena delimitación de la fluorescencia de la lesión tumoral, y con un grado de fluorescencia más débil perilesional¹⁴⁵.

FOTOGRAFÍA CON FLASH DE LUZ ULTRAVIOLETA

Para poder obtener fluorescencia a través de luz ultravioleta, necesitamos una fuente de luz que contenga un filtro transmisor o de excitación de radiaciones

ultravioleta, para que solo permita el paso de longitudes de onda en ese espectro, bloqueando el resto de longitudes de onda mayores del espectro visible. Un ejemplo clásico y comunmente empleado en dermatología es la lámpara o luz de Wood.

Existen múltiples fuentes de luz ultravioleta en el mercado y si bien para la simple observación del paciente no se precisan lámparas costosas y de gran potencia, no sucede lo mismo si queremos realizar fotografía ya que dichas lámparas tienen poca emisión de radiación, por lo que para tomar la fotografía necesitaríamos largos tiempos de exposición, que el individuo no se mueva y que la cámara esté sujeta mediante un trípode.

Algunos autores recomiendan lámparas de Wood muy potentes para la realización de este tipo de fotografía, pero no evitan la necesidad de realizar la fotografía a oscuras y la dificultad del enfoque si realizamos la fotografía con cámaras digitales sin capacidad de foco manual.

Para evitar todos estos problemas se aconseja la realización de flashes adaptados que emiten luz ultravioleta¹¹⁴.

La primera referencia para poder realizar fotografía de fluorescencia en una habitación iluminada se la debemos a Myers¹⁴⁶. Este autor acopló al flash un filtro de la serie Wratten 47B (filtro excitador o emisor de luz ultravioleta) y un filtro amarillo delante del objetivo, como se hacía habitualmente para este tipo de fotografías, pero utilizó una máquina fotográfica con velocidad de sincronización del flash elevada, superior a 1/125, siendo lo habitual 1/60, lo que le permitía que la luz visible ambiental no quedara reflejada en la película.

Afortunadamente la mayoría de las máquinas que utilizamos actualmente nos permiten utilizar velocidades de sincronización con el flash elevadas y si

adaptamos el flash podremos realizar fotografía de fluorescencia sin necesidad de estar en un cuarto oscuro.

Si quisiéramos modificar nuestro equipo fotográfico para la realización de la fotografía de fluorescencia, primero tendríamos que utilizar varios flashes de gran potencia, para tener mayor intensidad de luz, segundo acoplar delante de los flashes, filtros excitadores de luz ultravioleta, como los clásicos de Wratten 18^a o como el Schott UG1 y para evitar la luz ultravioleta reflejada un filtro barrera como el Wratten 2A o 2. Este último generalmente no es necesario en muchas cámaras digitales al estar incorporados dentro de la cámara.

No obstante existen en el mercado dos sistemas ya comercializados, uno denominado Clear-Stone que utiliza tres flashes sincronizados que emiten luz ultravioleta y que están acoplados tanto a cámaras digitales semiprofesionales como reflex de Olympus que dan excelentes resultados (Fig. 16). Las imágenes pueden ser capturadas directamente en el ordenador mediante un software específico del sistema para su visualización y almacenaje.

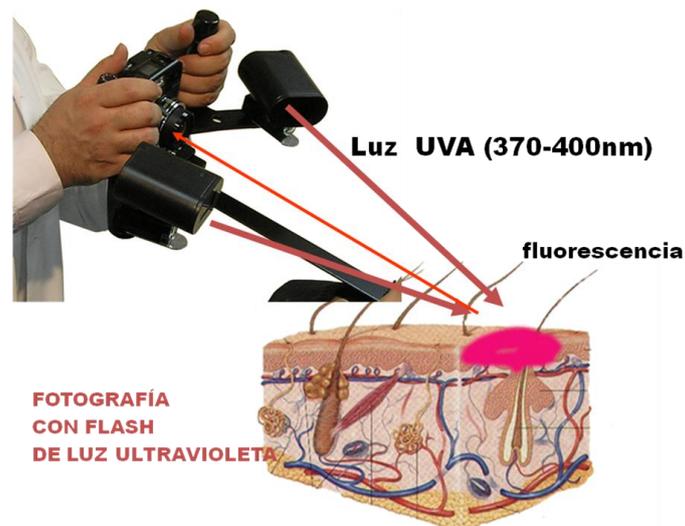


Fig 16. Esquema de captación de fluorescencia con una cámara con flashes acoplados.

El otro sistema comercializado es DyaDerm, que está compuesto por una cámara de vídeo Sony de 12 bit, con un flash de luz xenon adaptado con un filtro ultravioleta entre 370-440nm. La cámara de vídeo está ajustada mediante un brazo a un ordenador Pentium IV equipado con un software capturador de imágenes. El flash emite siete pulsos lumínicos por segundo a la piel los cuales son capturados por la videocámara, que está equipada con un filtro Schott de 455nm que elimina la luz externa excitadora. Este sistema está siendo adaptado en algunos centros para la realización de estudios de investigación.¹⁴⁷

CONTRAINDICACIONES

Según la FDA (Food and drugs administration) la TFD (y por lo tanto también el diagnóstico por fluorescencia) no debería aplicarse en las siguientes circunstancias:¹⁴⁸

- Sensibilidad cutánea a la luz, porfirias y alergia a porfirinas.
- La crema de MAL (Metvix®) contiene aceite de nueces y almendras, por lo que deben evitarse si hay hipersensibilidad.
- La TFD se considera clase C en las embarazadas.
- No está autorizado su uso en pediatría.
- No está autorizado en mujeres lactantes.
- Uso de corticoides tópicos dos semanas antes de la sesión de TFD en el área a tratar.
- Uso de retinoides tópicos y sistémicos, hidroxiácidos tópicos, quimioterapia e inmunoterapia cuatro semanas antes.

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La Cirugía Micrográfica de Mohs es una técnica quirúrgica empleada para el cáncer cutáneo que nos ofrece las tasas de curación más altas de entre todas las técnicas existentes, gracias al estudio histológico del 100% de los bordes. Se usa frecuentemente para aquellos tumores que son localmente agresivos, ya sea por sus características histológicas o por la localización anatómica donde asientan. Pero estas propiedades de la técnica hacen que sea costosa en tiempo, por lo que se intentan buscar técnicas diagnósticas previas para delimitar mejor el tumor con la finalidad de facilitar y agilizar la cirugía.

Con la aparición en Dermatología de nuevas técnicas como la Terapia Fotodinámica, sabemos que el Carcinoma Basocelular y otras neoplasias cutáneas adquieren una coloración roja intensa tras la aplicación de un fotosensibilizante y la posterior iluminación con luz ultravioleta, lo que nos permite diferenciar entre tejido sano y tejido tumoral.

Esta propiedad podría usarse antes de la cirugía para tener mayor información sobre los márgenes tumorales y facilitar y acortar la técnica quirúrgica posterior. Hasta el momento, los equipos de investigación sobre el diagnóstico por fluorescencia han realizado estudios piloto con series cortas de pacientes, y con tumores previamente seleccionados. Pero para que la técnica pueda usarse de forma sistemática previa antes de la cirugía, se debe probar que es útil ante todo tipo de tumores candidatos a ser tratados mediante cirugía de Mohs.

De acuerdo con lo anterior, el objetivo general del proyecto consiste en validar el diagnóstico por fluorescencia para delimitar los márgenes tumorales del Carcinoma Basocelular previo a la Cirugía Micrográfica de Mohs.

Para alcanzar este objetivo general, se ha planteado el siguiente objetivo específico:

- Delimitar el área tumoral que marca la fluorescencia y buscar coincidencia con el área tumoral real obtenida tras finalizar la Cirugía Micrográfica de Mohs, en cualquier tipo de carcinoma basocelular que cumplan criterios para ser tratado mediante esta técnica quirúrgica.

MATERIAL Y MÉTODOS

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PACIENTES

Hemos realizado un estudio prospectivo con pacientes que llegaron al Servicio de Dermatología del Hospital Ramón y Cajal de Madrid para ser tratados mediante Cirugía de Mohs entre Abril del 2008 y Octubre de 2008.

Todos los pacientes cumplían los siguientes criterios:

1. Diagnóstico de Carcinoma Basocelular
2. Confirmación histológica del tumor
3. Criterios de agresividad del tumor (localización, tamaño, subtipo histológico)

Se excluyeron del estudio los pacientes, que aún estando pendientes de este tipo de cirugía entre abril y octubre, presentaban otro tipo de tumores.

La selección de pacientes se realizó de forma consecutiva, siguiendo estrictamente el orden de llegada a nuestro servicio, con pacientes seleccionados para CMM antes de iniciar el estudio de fluorescencia, evitando así cualquier tipo de sesgo en la muestra. A todos se les proporcionó información oral y escrita sobre la técnica que se les iba a realizar.

En el estudio se describe además la edad, sexo, localización de la lesión, tamaño tumoral clínico o macroscópico, tiempo de evolución y si se trata de un tumor primario o es una recidiva tras otro tipo de tratamientos.

Muestra seleccionada

Siguiendo los criterios mencionados anteriormente, seleccionamos entre Abril de 2008 y Octubre de 2008 a 22 pacientes. En la tabla IV se describen las características clínicas de los pacientes e histológicas del tumor.

TABLA IV. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA ESTUDIADA

| Pacientes (número, hombre-mujer, edad) | Localización | Tamaño (cm.) | Tipo AP | Primario/ recidiva | Tiempo evolución |
|--|---------------------------------------|----------------|---------|----------------------------------|------------------|
| 1.H81 | malar | 1.8 x 1.5 | Escl | Primario | 1 año |
| 2.M79 | Nariz | 1.5 x 1.2 | Escl | Recidiva | 1 año |
| 3.M76 | Sien | 2.1 x 2.4 | Nod | Recidiva | 3 años |
| 4.H71 | Oreja | 1.4 x 1 | Nod | Primario | 1 año |
| 5.M78 | Canto interno ojo izquierdo | 1.2 x 1.4 | Nod | Primario | 12 años |
| 6.M45 | Nariz | Cicatriz | Nod | Borde profundo | 1 año |
| 7.M49 | Surco nasogeniano | Cicatriz | Nod | Borde lateral y profundo afectos | 6 meses |
| 8.M72 | Nariz | 0.8 x 1.3 | Escl | Primario | 1 año |
| 9.H59 | Cuero cabelludo | 3 x 3.5 | Escl | Primario | 6 meses |
| 10.M72 | Cuero cabelludo | 4.5 x 2.5 | Escl | Recidiva | 6 años |
| 11.H62 | Nariz | 0.9 x 0.7 | Escl | Primario | 2 años |
| 12.M72 | Sien, cicatriz | Cicatriz | Escl | Borde lateral y profundo afectos | 2 años |
| 13.M52 | Párpado superior | 1.5 x 1 | Nod | Recidiva | 2 años |
| 14.M78 | Canto externo ojo derecho | 0.9 x 0.5 | Escl | Borde profundo y lateral afectos | 1 año |
| 15.H72 | Nariz | 1 x 1 | Escl | Primario | 3 años |
| 16.M83 | Canto interno ojo izquierdo, cicatriz | Cicatriz | Nod | Borde lateral y profundo afectos | 1 año |
| 17.H72 | Preauricular | 1.2 x 0.7 | Escl | Primario | 1 año |
| 18.H87 | Nariz | 2.1 x 0.9 | Escl | Primario | 2 años |
| 19.H79 | Canto interno ojo izquierdo | 2.3 x 1.6 | Nod | Primario | 1 año |
| 20.H81 | Nariz | Mal delimitado | Escl | Primario | 1 año |
| 21.H68 | Nariz | Mal delimitado | Escl | Primario | 1 año |
| 22.M76 | Canto interno ojo izquierdo | 1.5 x 2.3 | Escl | Primario | 2 años |

H:hombre; M:mujer; AP:anatomía patológica; Escl:esclerodermiforme; Nod: nodular;

En nuestro grupo se incluyeron 12 mujeres y 10 hombres, con edades comprendidas entre los 45 y 87 años.

De los 22 pacientes 14 presentaban Carcinomas Basocelulares del tipo esclerodermiformes y 8 del tipo nodular.

En 13 pacientes de los 22 pacientes este era el primer tratamiento realizado, en 5 casos el tumor era una recidiva de un tratamiento previo y en 4 casos se trataba de un tumor incompletamente extirpado con cirugía convencional.

Por localizaciones, 8 pacientes presentaban el tumor sobre la pirámide nasal, 6 pacientes en región periocular (párpados y cantos interno y externo del ojo), 1 paciente en la mejilla, 1 paciente en la sien, 2 pacientes en pabellón auricular o periauricular y 2 pacientes en cuero cabelludo.

En el momento de la consulta, los pacientes relataban un tiempo de evolución del tumor que variaba entre 6 meses y 6 años.

DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

El día antes de la Cirugía el paciente acude a consulta y se le realiza el diagnóstico por fluorescencia.

Evaluación del área tumoral obtenida por fluorescencia

La obtención de la fluorescencia se realiza siguiendo la técnica habitual de la Terapia Fotodinámica.

Tras limpiar con suero salino el área donde asienta el tumor a estudiar, se aplica el fotosensibilizante con una capa de 1 mm de espesor sobre el tumor y sobrepasando unos centímetros el margen macroscópico lateral del carcinoma basocelular. El fotosensibilizante empleado en nuestro caso es el metilaminolevulinato (Metvix®, Galderma). A continuación, se ocluye con un film

adhesivo (Tegaderm®) durante tres horas. Toda la zona tratada se cubre con un apósito blanco opaco para evitar la inactivación del MAL con la luz visible.

Pasadas las 3 horas, se retiran los apósitos, se limpian los restos de crema con suero salino y se realiza una fotografía con flashes de luz ultravioleta (Cámara Olympus® C5060 acoplada a flashes ultravioleta de 400 nm ClearStone VD-DA digital system®).

Visualizando la zona de fluorescencia en la cámara, se dibuja con un rotulador permanente los límites que ha marcado la fluorescencia, y volvemos a cubrir toda la zona donde se ha aplicado el MAL (Metvix®) con un apósito opaco para evitar reacciones de fototoxicidad por la luz visible. El apósito permanece hasta el día siguiente en quirófano, donde es retirado por el cirujano.

Evaluación del área tumoral obtenida mediante cirugía.

El paciente llega a quirófano con el área donde asienta el tumor cubierta por el apósito opaco. Se retira y se procede a realizar la cirugía de Mohs según técnica habitual.

Aplicamos sobre el campo quirúrgico una solución de povidona yodada (Betadine®) cuidadosamente para no borrar la marca de rotulador que dibuja el área tumoral obtenida el día anterior mediante fluorescencia. Aplicamos anestésico local (mepivacaína 1% con adrenalina 1/200.000) y procedemos con la decorticación del tumor. Todo el acto quirúrgico se realiza sin tener en cuenta las marcas de fluorescencia y se siguen los criterios habituales para esta técnica.

Cuando el tumor clínicamente parece menor que el área marcada por la fluorescencia, se realiza la decorticación clínica y se continúa con el número de

pases quirúrgicos necesarios hasta conseguir que todos los bordes de la pieza quirúrgica estén libres de afectación tumoral. Llegados a este punto comparamos el defecto quirúrgico obtenido -margen tumoral real- con el área de fluorescencia que encontramos el día anterior. Y realizamos fotografía clínica (Cámara Olympus® C5060).

Cuando aparentemente el tumor parece mayor que el área que ha marcado la fluorescencia realizamos dos decorticaciones. La primera coincide con el área de fluorescencia, y la segunda con la decorticación clínica que haríamos sin tener en cuenta la fluorescencia. Las dos decorticaciones se analizan para confirmar o descartar presencia tumoral. Tras este paso continuamos con la técnica habitual, realizando diferentes pases hasta obtener todos los márgenes de la pieza libres de tumor. Una vez obtenido el defecto quirúrgico final se realiza una fotografía clínica (Cámara Olympus® C5060) y nuevamente se compara con la imagen obtenida por fluorescencia.

Tras la toma de fotografías cerramos el defecto quirúrgico de forma convencional.

COMPARACIÓN DE AMBAS TÉCNICAS

De todos los pacientes seleccionados en el estudio tenemos una imagen clínica, otra del área de fluorescencia y otra del defecto quirúrgico final.

Queremos comparar el área tumoral que delimita la fluorescencia con el área tumoral real medida con cirugía de Mohs, por lo que consideraremos válida la prueba diagnóstica si la fluorescencia coincide con el defecto quirúrgico final, ya que la CMM está basada en la prueba gold standard, la histopatología.

Si el área que marca la fluorescencia es mayor que el defecto quirúrgico consideramos el resultado como un falso positivo de la técnica diagnóstica. (Fig 17,18)

Si por el contrario el área de fluorescencia es menor que el defecto quirúrgico final se considera un falso negativo de la fluorescencia. (Fig 19,20)

Las mismas personas que hemos realizado la fluorescencia somos quienes hemos hecho la cirugía el día siguiente y quienes hemos evaluado la coincidencia entre la fluorescencia y la cirugía.

Esquema de evaluación de la fluorescencia

NEGATIVA

- Presencia de tumor: falso negativo
- Ausencia de tumor: verdadero negativo

POSITIVA

- Igual que defecto quirúrgico: verdadero positivo
- Mayor que defecto quirúrgico: falso positivo
- Menor que defecto quirúrgico: falso negativo



Fig 17, 18: Arriba, límites de la fluorescencia. Abajo, defecto quirúrgico final. En este caso, la zona que extirparíamos sin tener en cuenta la fluorescencia es menor, por lo que realizamos una decorticación clínica. Al finalizar la cirugía observamos como el defecto quirúrgico es menor que el área que había dibujado la fluorescencia el día anterior -límitada por rotulador-, por lo que consideramos este caso un falso positivo de la fluorescencia.



Fig 19, 20: Arriba, área de fluorescencia. Abajo, decorticación de la fluorescencia y marca de la extirpación de la decorticación clínica.

Los resultados se pueden comparar fácilmente gracias a la marca de rotulador que dibuja el área de fluorescencia que se midió el día anterior. Clínicamente el tumor era mayor que el área de fluorescencia, y el estudio histológico realizado durante la cirugía lo confirma. El resultado final es falso negativo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para estudiar la validez de la técnica diagnóstica (fluorescencia como técnica para delimitar el margen tumoral en un carcinoma basocelular) hemos calculado la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo.

La sensibilidad y especificidad son los parámetros más empleados como índices de validez de las pruebas diagnósticas; corresponden al punto de vista "natural" del investigador que evalúa la prueba, pero requieren de ciertos cálculos para interpretar el resultado de una prueba en la práctica clínica.

Los valores predictivos representan las proporciones de interés en la práctica, pero su valor es muy limitado porque dependen de la proporción de enfermos en el grupo en que la prueba se ha evaluado.

Los cocientes de probabilidad son índices útiles porque permiten transformar la probabilidad preprueba en probabilidad postprueba mediante una sencilla relación y no dependen de la proporción de enfermos en el grupo en el que se ha evaluado la prueba¹⁴⁹.

Consideramos válida la técnica diagnóstica y por lo tanto útil para ser empleada por los dermatólogos de forma sistemática previa a la cirugía de Mohs cuando los valores de los índices estudiados sean próximos a un 80%.

RESULTADOS

De los 22 pacientes estudiados, en 3 (una mujer y dos varones) obtuvimos una concordancia perfecta entre el área de fluorescencia y el área tumoral medida por Cirugía de Mohs. (Tabla V).

Los carcinomas basocelulares estaban localizados en párpado superior en un paciente y sobre pirámide nasal en los otros dos pacientes.

En cuanto al subtipo tumoral, uno era nodular y los otros dos esclerodermiformes.

Por lo que a la historia natural del tumor se refiere, el basocelular localizado en párpado (subtipo nodular) era una recidiva y tenía una evolución de 2 años desde el último tratamiento realizado. Los dos carcinomas localizados en pirámide nasal eran tumores primarios y no habían recibido ningún tratamiento previo, y los pacientes contaban una evolución de 3 y 2 años respectivamente.

El tamaño tumoral fue de 1,5 x 1 cm en párpado, 1 x 1 cm en el segundo paciente (pirámide nasal) y 2,1 x 0,9 cm en el tercer paciente (pirámide nasal).

TABLA V. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON VALIDEZ DE LA FLUORESCENCIA.

| Pacientes (número, hombre-mujer, edad) | Localización | Tamaño (cm.) | Tipo AP | Primario/ recidiva | Tiempo evolución | DF | Número de pases |
|---|---------------------|-----------------|------------|-----------------------|---------------------|----|-----------------------|
| 13.M52 | Párpado superior | 1.5 x 1 | Nod | Recidiva | 2 años | OK | 1 |
| 15.H72 | Nariz | 1 x 1 | Escl | Primario | 3 años | OK | 1 |
| 18.H87 | Nariz | 2.1 x 0.9 | Escl | Primario | 2 años | OK | 1 |

H:hombre; M:mujer; AP:anatomía patológica; Escl:esclerodermiforme; Nod: nodular; DF:diagnóstico por fluorescencia; OK:acierto.

En 10 pacientes el área de fluorescencia fue menor que el área tumoral real, es decir, la fluorescencia no detectó zonas de piel con carcinoma basocelular.

(Tabla VI)

De estos pacientes, 4 fueron varones y 6 fueron mujeres, con edades comprendidas entre los 59 y 81 años.

La localización donde asentaban los tumores era: en la nariz en dos casos, mejilla en un paciente, sien en otro paciente, uno en oreja (región posterior del pabellón auricular), canto interno del ojo en tres pacientes y cuero cabelludo en los últimos dos pacientes.

El tamaño tumoral clínico de estos basocelulares varía de 0,8 x 1,3 cm en el caso del tumor más pequeño hasta 4,5 x 2,5 cm encontrados en el basocelular de mayor tamaño.

Los subtipos o tipo histológico encontrados han sido esclerodermiforme en 6 ocasiones (mejilla, los dos nasales, los dos localizados en cuero cabelludo y uno de los tres situados en canto interno del ojo), y subtipo nodular en los otros 4 tumores con resultado falso negativo (dos de los tres tumores situados en canto interno del ojo, el situado en la sien y el de la región posterior del pabellón auricular).

La historia natural o evolución de los tumores había sido la siguiente: 7 tumores eran primarios, sin tratamientos previos a la cirugía de Mohs y 3 eran recidivas, y el tiempo transcurrido desde que el paciente se lo observa hasta que consulta por dicha lesión era muy variable, siendo de unos 6 meses en el tumor de menor tiempo de evolución y llegando a 12 años en el tumor más evolucionado.

TABLA VI. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON RESULTADO FALSO NEGATIVO DE LA FLUORESCENCIA

| Pacientes (número, hombre-mujer, edad) | Localización | Tamaño (cm.) | Tipo AP | Primario/ recidiva | Tiempo evolución | DF | Número de pases |
|---|--------------------------------|-----------------|------------|-----------------------|---------------------|----|-----------------------|
| 1.H81 | malar | 1.8 x 1.5 | Escl | Primario | 1 año | FN | 1 |
| 2.M79 | Nariz | 1.5 x 1.2 | Escl | Recidiva | 1 año | FN | 2 |
| 3.M76 | Sien | 2.1 x 2.4 | Nod | Recidiva | 3 años | FN | 2 |
| 4.H71 | Oreja | 1.4 x 1 | Nod | Primario | 1 año | FN | 1 |
| 5.M78 | Canto interno ojo izquierdo | 1.2 x 1.4 | Nod | Primario | 12 años | FN | 1 |
| 8.M72 | Nariz | 0.8 x 1.3 | Escl | Primario | 1 año | FN | 1 |
| 9.H59 | Cuero cabelludo | 3 x 3.5 | Escl | Primario | 6 meses | FN | 2 |
| 10.M72 | Cuero cabelludo | 4.5 x 2.5 | Escl | Recidiva | 6 años | FN | 3 |
| 19.H79 | Canto interno ojo izquierdo | 2.3 x 1.6 | Nod | Primario | 1 año | FN | 2 |
| 22.M76 | Canto interno ojo izquierdo | 1.5 x 2.3 | Escl | Primario | 2 años | FN | 1 |

H:hombre; M:mujer; AP:Anatomía patológica; Escl:esclerodermiforme; Nod: nodular; DF:diagnóstico por fluorescencia; FN:falso negativo.

En 8 pacientes el área de fluorescencia encontrada era mayor que el tamaño tumoral real, es decir, en 8 pacientes encontramos un falso positivo de la prueba. (Tabla VII)

Estos pacientes eran varones en 4 casos y mujeres en los otros 4 casos restantes, con edades comprendidas entre los 49 y 83 años.

Las localizaciones de estos tumores fueron las siguientes: surco nasogeniano en un caso, nariz en tres pacientes, sien en una paciente, canto interno de ojo en un caso y externo en otro, y preauricular en otro paciente.

Clínicamente, en tres casos se trataba de una cicatriz de cirugía previa convencional donde habían quedado los bordes lateral y profundo afectados, y estaban localizadas en surco nasogeniano, sien y en canto interno de ojo. Las variedades histológicas de estos basocelulares eran nodular en el primer y tercer caso y esclerodermiforme en el tumor de la sien. El tiempo o historia natural de la enfermedad en estos pacientes variaba entre 6 meses en el primer caso, 2 años en el segundo y 1 año en el tercer paciente.

En dos casos el tumor clínicamente estaba mal delimitado, por lo que era difícil medir el tamaño tumoral. Se trataba de dos mujeres de 81 y 68 años con basocelulares subtipo esclerodermiformes localizados en la nariz. Ambos tumores eran primarios y tenían un año de evolución.

Los otros tres pacientes con resultado falso positivo de la prueba de fluorescencia eran dos varones y una mujer, de 62, 72 y 68 años respectivamente, con tumores localizados en nariz, región preauricular y canto externo del ojo. Los tres basocelulares tenían tamaños parecidos (0,9 x 0,7 el primero, 1,2 x 0,7 el segundo y 0,9 x 0,5 en la tercera paciente).

Los tres subtipos histológicos eran esclerodermiformes. Los localizados en la nariz y preauricular eran primarios y tenían dos años el primero y un año de evolución el segundo. El tumor asentado sobre canto externo del ojo era una recidiva de un basocelular esclerodermiforme extirpado de forma incompleta

mediante cirugía convencional, habiendo quedado afectos tanto el borde profundo como el borde lateral.

En un paciente, no vimos relación entre el área que dibujaba la fluorescencia y el área tumoral, situándose en lugares distintos. Para el estudio estadístico, este paciente ha sido incluido como falso positivo (la fluorescencia marca una zona sin tumor). Se trataba de una mujer de 45 años, con una cicatriz de cirugía previa situada en dorso nasal. Se había intervenido 1 año antes de un carcinoma basocelular subtipo nodular mediante cirugía convencional. El estudio histológico reveló que el borde profundo había quedado afecto de tumor. En el momento de la cirugía no presentaba recidiva clínica.

TABLA VII. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON RESULTADO FALSO POSITIVO DE LA FLUORESCENCIA.

| Pacientes (número, hombre- mujer, edad) | Localización | Tamaño (cm.) | Tipo AP | Primario/ recidiva | Tiempo evolución | DF | Número de pases |
|--|---|-------------------|------------|---|---------------------|----|-----------------------|
| 6.M45 | Nariz | Cicatriz | Nod | Borde profundo | 1 año | NC | 1 |
| 7.M49 | Surco nasogeniano | Cicatriz | Nod | Borde lateral y profundo afectos | 6 meses | FP | 1 |
| 11.H62 | Nariz | 0.9 x 0.7 | Escl | Primario | 2 años | FP | 2 |
| 12.M72 | Sien, cicatriz | Cicatriz | Escl | Borde lateral y profundo afectos | 2 años | FP | 2 |
| 14.M78 | Canto externo ojo derecho | 0.9 x 0.5 | Escl | Borde profundo y lateral afectos | 1 año | FP | 1 |
| 16.M83 | Canto interno ojo izquierdo, cicatriz | Cicatriz | Nod | Borde lateral y profundo afectos | 1 año | FP | 1 |
| 17.H72 | Preauricular | 1.2 x 0.7 | Escl | Primario | 1 año | FP | 1 |
| 20.H81 | Nariz | Mal delimitado | Escl | Primario | 1 año | FP | 1 |
| 21.H68 | Nariz | Mal delimitado | Escl | Primario | 1 año | FP | 1 |

H:hombre; M:mujer; AP:anatomía patológica; Escl:esclerodermiforme; Nod: nodular;

DF:diagnóstico por fluorescencia; NC:no correlación; FP:falso positivo;

Para calcular la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y los cocientes de probabilidad positivos y negativos realizamos una tabla 2 x 2. (Tabla VIII)

De entre los 12 pacientes con prueba positiva (fluorescencia), solamente en 3 había tumor (enfermedad presente) y en 9 fluorescencias positivas no había tumor (enfermedad ausente).

La fluorescencia ha sido negativa en 10 pacientes, todos ellos con presencia de tumor. En ningún caso estudiado hemos encontrado fluorescencia negativa con ausencia de tumor.

Con estos resultados obtenemos una Sensibilidad del 23,08%, que varía entre un 0,17% y un 45,98% con un intervalo de confianza del 95%. La especificidad de la prueba es de un 0%.

El valor predictivo positivo es del 25% (0,5% - 49,5% con intervalo de confianza del 95%). El valor predictivo negativo es del 0%.

El cociente de probabilidad positivo es de 0,23 (0,9 - 0,62) si lo calculamos mediante el método de Taylor. No se puede calcular mediante el método de Miettinen. Con estos resultados no se puede calcular/aplicar el cociente de probabilidad negativo.

En la tabla IX se resumen los valores de los índices estadísticos estudiados.

TABLA VIII. RESULTADOS

| | Enfermedad Presente | Enfermedad Ausente | Total |
|------------------------|---------------------|--------------------|-------|
| Prueba positiva | 3 | 9 | 12 |
| Prueba negativa | 10 | 0 | 10 |
| Total | 13 | 9 | 22 |

TABLA IX. VALORES ESTADÍSTICOS OBTENIDOS

| Índice | Valor | Intervalo Confianza 95% |
|--|---------|-------------------------|
| Sensibilidad | 23,08 % | 0,17 % a 45,98 % |
| Especificidad | 0,00 % | 0,00 % a 0,00 % |
| Valor Predictivo Positivo | 25,00 % | 0,50 % a 49,50 % |
| Valor Predictivo Negativo | 0,00 % | 0,00 % a 0,00 % |
| Cociente de Probabilidad Positivo | 0,23 | 0,9 a 0,62 (1) |
| | - | No aplicable (2) |
| Cociente de probabilidad Negativo | - | No calculado (1) |
| | - | No aplicable (2) |

(1) Método de Taylor; (2) Método de Miettinen

RESULTADO FALSO POSITIVO DE LA FLUORESCENCIA



Fig. 21: *Imagen clínica* de Carcinoma Basocelular (confirmado por biopsia) mal delimitado en punta nasal. **Fig. 22:** *Imagen de fluorescencia*. **Fig. 23:** *Bordes de la fluorescencia*. La fluorescencia es positiva de forma difusa en todo el área estudiada. **Fig. 24:** *Defecto quirúrgico final* tras finalizar la CMM. El defecto quirúrgico final es menor que el área de fluorescencia, que sobrepasa ampliamente alrededor del tumor.

RESULTADO FALSO NEGATIVO DE LA FLUORESCENCIA

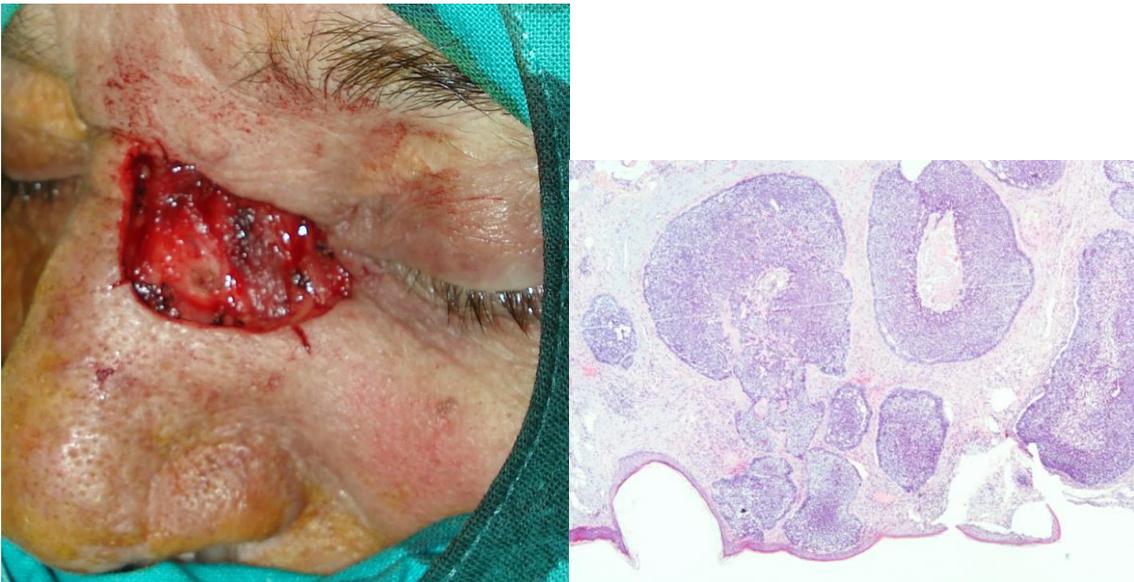


Fig. 25: Carcinoma Basocelular en canto interno de ojo izquierdo. **Fig. 26:** Al realizar la fluorescencia observamos que es negativa (no se identifican áreas rojo-rosa fucsia sobre el tumor o en sus alrededores). **Fig. 27:** Tras finalizar la cirugía de Mohs obtenemos un defecto quirúrgico que equivale al tamaño tumoral real, que es mayor que el área de fluorescencia obtenida. **Fig 28:** La histología, método gold standard para la detección y confirmación del tumor

nos muestra que a pesar de que la fluorescencia había sido negativa, en la pieza extirpada hay carcinoma basocelular, en este caso subtipo nodular. Como el área de fluorescencia encontrada ha sido menor que el tamaño tumoral real consideramos la prueba como falso negativo de la fluorescencia.

VALIDEZ DE LA FLUORESCENCIA



Fig. 29: Imagen clínica. **Fig. 30:** En este ejemplo vemos como el área de la fluorescencia coincide con el defecto quirúrgico final. **Fig. 31:** La tensión de la piel hace que el defecto quirúrgico parezca mayor que el área de fluorescencia, aunque realmente ambos coinciden.

DISCUSIÓN

ELECCIÓN DE PACIENTES

La muestra de pacientes seleccionada no es representativa de la población general diagnosticada de carcinoma basocelular.

Los pacientes pueden tener diferentes subtipos histológicos y con localizaciones, tamaños y agresividad variable. En nuestra muestra solo hay tumores considerados agresivos, infiltrativos, esclerodermiformes, en localizaciones anatómicas comprometidas o de varios centímetros de tamaño. También encontramos tumores incompletamente extirpados en cirugías previas convencionales o recidivas tras otros tratamientos dermatológicos.

No encontramos tumores fuera de la cabeza, todos están localizados en cara excepto dos que están situados en cuero cabelludo. No se han seleccionado carcinomas basocelulares superficiales, principal diferencia respecto estudios previos¹⁵⁰.

Este aspecto es clave para la interpretación de los resultados. Nuestro objetivo no es evaluar la fluorescencia en basocelulares de forma general. El objetivo de este estudio es evaluar la utilidad de la fluorescencia como técnica diagnóstica para facilitar y acortar la cirugía micrográfica de Mohs, por lo que consideramos imprescindible que los tumores que se someten a estudio sean representativos del tipo de neoplasias para los que está indicada y que nos encontramos habitualmente en este tipo de cirugía.

Siguiendo esta premisa, y con el fin de no introducir un sesgo en la elección de los pacientes o tumores a estudiar, hemos tomado nuestra lista de espera quirúrgica para la cirugía de Mohs y evaluado de forma rigurosamente consecutiva a los pacientes incluidos en la misma.

Por lo que a edad y sexo se refiere, la media de edad ha sido de 71 años y por sexos hay 12 mujeres y 10 varones. Estas características no difieren de otros estudios realizados¹⁵⁰⁻¹⁵⁵ ni de las características de la población general diagnosticada de carcinoma basocelular, sea cual sea su variedad histológica.

TÉCNICA DE FLUORESCENCIA

En nuestro estudio hemos realizado la detección de la fluorescencia según la técnica estándar de la Terapia Fotodinámica, utilizando el mismo periodo o tiempo de incubación, que es de tres horas, por ser este el protocolo estándar establecido en nuestro Servicio.

El diagnóstico por fluorescencia puede realizarse también a las 5 o 6 horas después de haber aplicado el fotosensibilizante, que es cuando se estima que la intensidad de la fluorescencia es mayor. Algunos autores entrenados en este tipo de diagnóstico o que lo practican de forma rutinaria antes de las intervenciones quirúrgicas prefieren un periodo de oclusión del fotosensibilizante durante 24 horas, pudiendo observar igualmente una buena delimitación de la fluorescencia de la lesión neoplásica y consiguiendo a la vez un menor grado de fluorescencia perilesional^{156,157}.

En la técnica se pueden emplear dos fotosensibilizantes, el ALA o el MAL.

El ALA es una molécula hidrofílica, y como tal atraviesa pobremente las barreras biológicas, en especial el estrato córneo de la piel, por lo que requiere emplear concentraciones más elevadas, entre un 20 y un 40% más que el MAL si queremos obtener un resultado similar.

En cambio, MAL es una molécula más lipofílica, lo que le confiere una mayor capacidad a la hora de penetrar a través del estrato córneo y de las

membranas biológicas. Además, posee una mayor especificidad para las células neoplásicas¹⁵⁹⁻¹⁶². Para ser más precisos, si calculamos la especificidad que tiene el MAL para las células del carcinoma basocelular respecto a la que presenta para las células sanas, nos encontramos con un ratio de 9:1; mientras que el ALA tiene una especificidad mucho menor, siendo solamente de 2:1.¹⁶³⁻¹⁶⁶

Se cree que el acúmulo selectivo o específico del fotosensibilizante en la célula tumoral podría deberse a que la Protoporfirina IX se acumula en estas células por una reducción de la actividad de la ferroquelatasa y por un aumento de la actividad de la porfobilinógeno deaminasa¹⁶⁷. Por estas razones hemos utilizado MAL como fotosensibilizante.

DETERMINACIÓN DEL ÁREA TUMORAL MEDIANTE CMM

A la hora de realizar la cirugía teníamos dos opciones. La primera sería habernos guiado por la fluorescencia y empezar la técnica quirúrgica (decorticación del área tumoral) siguiendo los márgenes dibujados el día anterior, y continuar los sucesivos pases de la cirugía a partir de ahí. La segunda opción es no condicionarse por el diagnóstico de fluorescencia y realizar la técnica quirúrgica de forma convencional, guiados por la clínica, tal y como lo haríamos si no estuviéramos bajo un estudio.

Creímos más oportuno realizar las dos técnicas independientes la una de la otra, para no condicionar el resultado en ningún caso. Si bien, los dermatólogos que hemos realizado la cirugía hemos sido los mismos que hemos realizado la fluorescencia el día anterior y conocíamos el resultado de la primera técnica puesto que el paciente acude al quirófano con el borde de la fluorescencia

pintado con rotulador. De este modo no hay diferencias interobservador a la hora de estimar las áreas tumorales o la comparación entre ellas, si bien no se consigue que las técnicas sean independientes al 100% la una de la otra.

Realizando la técnica quirúrgica independiente de la fluorescencia podían salir varias situaciones. La primera que coincidieran las dos, y que la decorticación clínica y la fluorescencia delimitaran la misma área. Cuando al analizar la decorticación en el laboratorio de anatomía patológica se observaba que el tumor llegaba a los bordes de la pieza, se daba el resultado como "acierto" de la técnica.

No existe la posibilidad de no encontrar tumor en la fluorescencia ni en la cirugía puesto que todos los pacientes tenían confirmación histológica del tumor.

Las posibles situaciones conflictivas se daban cuando no coincidían la fluorescencia y el posible tumor clínico. Si al finalizar la cirugía de Mohs, que es cuando consideramos que no hay más tumor, el área quirúrgica es menor que la de la fluorescencia es fácil determinar el resultado y catalogar la técnica como falso positivo.

La situación inversa es más complicada y la resolvimos de la siguiente forma. Si la fluorescencia delimita un área menor que la que clínicamente creemos que envuelve el tumor, realizamos dos decorticaciones. La primera con el área de fluorescencia y la segunda clínica. Ambas se procesan de la misma forma en anatomía patológica y con dos cortes, uno longitudinal y el otro transversal, buscando la presencia o ausencia de tumor. Si hay tumor en la segunda decorticación (la clínica) consideramos la técnica como falso negativo, es decir, no ha detectado el tumor en su totalidad.

Si hubiéramos realizado la técnica de Mohs siguiendo la fluorescencia, en las ocasiones en que la fluorescencia "acierta" y en los "falsos negativos", no hubiéramos tenido diferencias en el área a extirpar. Pero en los casos "falsos positivos" el área que hubiéramos extirpado sería mucho mayor que la necesaria, lo cual sería inaceptable, tanto para el paciente como para los médicos participantes en el estudio.

COMPARACIÓN DE RESULTADOS

Hemos podido realizar una comparación exacta de las dos áreas gracias a que la primera (la fluorescencia) venía delimitada con rotulador. Al finalizar la cirugía podemos comparar fácilmente si el defecto quirúrgico es mayor, menor o igual.

Otra posibilidad hubiera sido evaluar los resultados mediante las imágenes fotográficas, pero hay un inconveniente; el área correspondiente al defecto quirúrgico suele parecer mayor por las fuerzas de tensión existentes en la piel que lo "agrandan" en algunos milímetros.

La decisión de "acierto", "falso positivo" y "falso negativo" ha sido realizada por la misma persona.

No podemos comparar los resultados de la fluorescencia con los de otra técnica diagnóstica, puesto que en la actualidad no hay ningún diagnóstico gold standard del basocelular previo a la cirugía de Mohs, por lo que las comparaciones son siempre con el diagnóstico histológico posterior a la cirugía^{103,113}.

En la práctica clínica habitual, no se utilizan técnicas diagnósticas previas a la cirugía de Mohs por no haberse encontrado aún una técnica fiable, fácil,

sencilla y no invasiva. El único diagnóstico que se realiza es el de confirmación mediante una biopsia y estudio histológico, pero no nos da información sobre el tamaño tumoral o su extensión.

RESULTADOS

De los 22 pacientes iniciales, solamente en 3 el diagnóstico por fluorescencia coincide plenamente con el área quirúrgica final. Esto supone un porcentaje realmente bajo (13%). Nuestros datos no coinciden con el estudio publicado por Redondo et al¹⁵⁰. donde la coincidencia entre el diagnóstico fotodinámico y el histológico es de un 70%. Analizando las dos muestras de pacientes es donde hallamos la principal diferencia (tabla X). En nuestra serie encontramos 14 basocelulares con subtipo esclerodermiforme y 8 con subtipo nodular. No hay ningún carcinoma basocelular superficial. Además, 4 de los 22 pacientes son cicatrices de extirpaciones previas convencionales con afectación de bordes lateral y/o profundo. 13 de los 22 son primarios y el resto (9) son recidivas de tumores tratados previamente con otras técnicas. En la selección de pacientes del grupo de Redondo et al¹⁵⁰. encontramos 11 basocelulares superficiales, 7 nodulares y 2 esclerodermiformes. De sus 20 pacientes, todos son tumores primarios excepto 4 pacientes que son recidivas de otras técnicas. En este grupo de pacientes, la concordancia entre la fluorescencia y el área tumoral real se encuentra en 14 pacientes. De los 6 restantes, tres son falsos positivos y los otros tres son falsos negativos.

Otra posible diferencia podría encontrarse en la localización de las lesiones a tratar. Los basocelulares estudiados están distribuidos de forma diferente. En nuestra muestra predominan los tumores en pirámide nasal, perioculares,

periorales y pabellón auricular (zona H de la cara) y no hay tumores fuera de cabeza, siendo ésta la localización habitual de los tumores tratados mediante Mohs. Sin embargo, en la muestra de Redondo et al.¹⁵⁰ encontramos menos tumores en región centrofacial, muestra que no suele corresponderse ni por localización ni por variedad histológica a los basocelulares tratados con esta técnica quirúrgica.

TABLA X. COMPARATIVA ENTRE LA MUESTRA ESTUDIADA EN NUESTRO GRUPO Y LA MUESTRA ESTUDIADA EN EL GRUPO CON RESULTADOS MÁS DISPAR AL NUESTRO.

| | Nuestra Muestra | Redondo et al.¹⁵⁰ |
|---------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| Cuero cabelludo | 2 | 4 |
| Frente | 0 | 2 |
| Periocular | 5 | 0 |
| Nariz | 8 | 4 |
| Mejilla | 1 | 4 |
| Perioral | 2 | 0 |
| Sien | 2 | 3 |
| Auricular | 2 | 2 |
| Mentón | 0 | 1 |
| Superficiales | 0 | 11 |
| Nodulares | 8 | 7 |
| Esclerodermiformes | 14 | 2 |

Las diferencias de resultados en las dos muestras no pueden atribuirse a cambios en la técnica o en el fotosensibilizante utilizado puesto que en ambos casos se hizo de la misma forma.

Otro estudio realizado por Stenquist et al.¹⁵¹ tiene resultados parecidos a los nuestros a pesar de utilizar una técnica algo diferente. En su caso estudian 15 pacientes con carcinomas basocelulares agresivos, todos en la cara, pero realizan fluorescencia biespectral, que se trata de una técnica que analiza la autofluorescencia del tumor junto con la fluorescencia desencadenada por el fotosensibilizante. Solo en 5 tumores encuentran una buena concordancia entre la fluorescencia y el área quirúrgica final. En 7 pacientes el área de fluorescencia no coincide plenamente con la quirúrgica, y tres pacientes no pudieron analizarse por error en la técnica en dos de ellos y por no encontrar tumor tras la cirugía de Mohs en el paciente restante.

Cuando analizamos la localización de los tumores en esta muestra, observamos que se encuentran en región centrofacial y que por subtipo histológico (10 esclerodermiformes y 2 nodulares) los datos son mucho más parecidos a nuestra muestra de estudio.

El principal problema encontrado es que la luz ultravioleta penetra hasta una profundidad de 90 μ m. Esto nos sirve para estudiar la epidermis (aproximadamente 65 μ m) y la parte más proximal de la dermis¹⁶⁸, por lo que en el mejor de los casos la fluorescencia podría delimitarnos el borde lateral de un tumor, pero no las prolongaciones que infiltran en profundidad.

Wennberg et al.¹⁵² tampoco encuentran una buena concordancia entre la fluorescencia y el mapeo histológico. En su grupo de 22 pacientes, solamente en la mitad (11 pacientes) tienen buena correlación. En la otra mitad el

diagnóstico por fluorescencia falla. De estos 11, en cinco pacientes la concordancia fue parcial, pero en 6 no se encontró relación alguna.

En otro estudio piloto, Won et al.¹⁵³ estudian 10 pacientes y observan que la fluorescencia detecta el margen lateral de los basocelulares estudiados y discrimina bien la zona tumoral respecto la piel sana con una sensibilidad y especificidad del 94,1 y 82,6 respectivamente.

Gambichler et al.¹⁵⁴ estudian 16 pacientes con diagnóstico clínico y dermatoscópico de carcinoma basocelular. En este caso no hay confirmación histológica de los tumores. Se realiza la fluorescencia según técnica estándar, pero usan ALA en lugar de MAL. A las tres horas de oclusión del fotosensibilizante leen la fluorescencia. Las características del grupo estudiado por lo que a sexo y edad se refiere son comparables a nuestro grupo de estudio, no obstante, las localizaciones de los tumores y el subtipo histológico no son comparables. En este grupo encontramos tumores localizados en cabeza (preauricular, nasal, cantos de ojos, sien, frente) y seis tumores extracraneales, localizados en tronco y extremidades. Por lo que a variedad histológica se refiere, 5 tumores eran nodulares, 9 son superficiales y 2 infiltrativos.

La comparación entre el área de fluorescencia y la histología no se realiza mediante cirugía de Mohs, se extirpa la lesión siguiendo criterios clínicos y se realizan estudios histológicos convencionales.

Al comparar el área tumoral clínica (la observada sin técnicas complementarias) y el área de fluorescencia observan que la primera es mayor que la segunda, y achacan este "sorprendente" resultado a que las áreas tumorales necróticas no tienen fluorescencia. En general, hay buena

correlación entre la fluorescencia y la clínica en su muestra, sin embargo, encuentran que la fluorescencia puede ser menos sensible que el ojo clínico a la hora de delimitar el área tumoral.

El último estudio publicado sobre la capacidad de la fluorescencia en delimitar el área tumoral está realizado por Wetzig et al.¹⁵⁵ En este estudio se analizan 26 pacientes con carcinomas basocelulares localizados en la zona H de la cara. De los 26 tumores estudiados, 22 corresponden al subtipo nodular. Se realiza la técnica estándar con MAL y se capta la fluorescencia a las tres horas de la aplicación del fotosensibilizante. Se extirpa el tumor con un margen de seguridad de 3 mm (extirpación convencional, no se realiza la técnica de Mohs) y se realiza un estudio histológico con cortes horizontales. Al comparar el área clínica, de fluorescencia e histológica, observan que el área de fluorescencia es menor que el área clínica, con valores estadísticamente significativos. Obtienen una sensibilidad muy baja, del 38,5% y una especificidad del 88,4%. La conclusión a la que llegan es que el estudio de fluorescencia en la zona centrofacial (zona H de la cara) no aporta datos adicionales a la simple exploración física, por lo que no nos supone ningún beneficio.

Aunque este estudio no utilice la cirugía micrográfica de Mohs para determinar de forma exacta el área histológica del tumor, por la localización de las lesiones a estudio podemos comparar sus resultados con los nuestros, y observamos que en ambos nos aparece una sensibilidad parecida (38,5% vs 25%), sin embargo, la especificidad difiere bastante (88,4% vs 0%).

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Hay pocos estudios publicados, y los que hemos encontrado son estudios piloto, con un número de pacientes inferior al nuestro.

No hay un método único establecido para la detección de la fluorescencia, si bien las directrices generales utilizadas por todos son las mismas, puede variar desde el fotosensibilizante, el período de incubación, o el método de extirpación quirúrgica y análisis histopatológico.

Además, las conclusiones generales a las que llegan son dispares, mientras en unos estudios se defiende la fluorescencia como técnica para determinar los márgenes tumorales antes de la cirugía, en otros se concluye justo lo contrario, diciendo que no aporta beneficio alguno ni datos adicionales a los que se obtiene con la simple exploración física.

Las claves para poder interpretar nuestro estudio y los seis publicados previamente, se basan en tener en cuenta los siguientes parámetros: localización tumoral y variedad histológica.

En general, parece que los tumores más agresivos y con localizaciones más comprometidas (región centrofacial) se benefician menos del diagnóstico por fluorescencia.

Si tenemos en cuenta la localización anatómica en nuestro estudio observamos lo siguiente.

- Pirámide nasal: 4 falsos positivos, 2 falsos negativos, 2 aciertos.
- Periocular: 2 falsos positivos y 3 falsos negativos
- Perioral: 1 acierto, 1 falso positivo.
- Mejilla: 1 falso negativo
- Sien: 1 falso positivo, 1 falso negativo

- Periauricular: 1 falso positivo, 1 falso negativo
- Cuero cabelludo: 2 falsos negativos.

Teniendo en cuenta la variedad histológica:

- nodulares: 4 falsos negativos, 3 falsos positivos y un acierto.
- esclerodermiformes: 6 falsos negativos, 6 falsos positivos y 2 aciertos.

Visto de forma general, podemos llegar a la conclusión de que la fluorescencia normalmente falla en diagnosticar los márgenes tumorales, y no parece haber relación entre la variedad histológica o la localización, pudiendo en ambas fallar tanto por exceso como por defecto del área de fluorescencia.

Estudiando las limitaciones (Tabla XI) que tiene esta técnica vemos que pueden ser debidas a dos causas: la mala realización de la técnica en alguno de sus pasos, o las peculiaridades de la lesión a estudio, bien sea por la lesión en si o por las características de la piel donde asienta. Ya sea por la primera o por la segunda, nos encontramos fundamentalmente con estos inconvenientes o limitaciones de la técnica:

TABLA XI: LIMITACIONES DEL DIAGNÓSTICO POR FLUORESCENCIA

| Limitaciones de la Fluorescencia |
|--|
| Procedimiento inadecuado |
| Lesiones pigmentadas |
| Profundidad tumoral |
| Tipo de celularidad |
| Fluorescencia basal |
| Cicatrices |
| Inflamación cutánea |
| Fluorescencia peritumoral |
| Estructura tridimensional del tumor |

1. Procedimiento inadecuado.

Si se realiza de forma incorrecta cualquier de los pasos necesarios para la obtención de la fluorescencia, el resultado no será el adecuado. Podemos equivocarnos si ponemos poca cantidad de fotosensibilizante, ya sea en grosor de la capa o en extensión perilesional; también por defecto o mala oclusión tras la aplicación del fotosensibilizante; otra causa de error suele deberse a una mala preparación previa de la piel o la lesión a estudio, como puede ser un exceso de capa córnea en lesiones hiperqueratósicas (detritus celulares carentes de metabolismo, y por tanto sin fluorescencia), o la presencia de áreas cruentas o hemorrágicas (tras curetear lesiones hiperqueratósicas o por la misma

necrosis tumoral) que pueden impedir una buena captación selectiva; finalmente, un tiempo inadecuado de aplicación de fotosensibilizante puede llevarnos a error en la interpretación de la fluorescencia.

2. Lesiones pigmentadas.

Las lesiones tumorales cutáneas con pigmento melánico tipo carcinoma basocelular pigmentado, melanoma... no muestran fluorescencia tras la aplicación del fotosensibilizante.

3. Profundidad tumoral.

Dadas las propiedades físicas de la técnica y de la piel, y al igual que ocurre en el proceso terapéutico de la TFD, el diagnóstico es ineficaz cuando la lesión tenga una profundidad superior a 2mm. El principal problema es que la luz ultravioleta penetra hasta una profundidad de 90µm. Esto nos sirve para estudiar la epidermis y la parte más proximal de la dermis¹⁶⁸. Las lesiones situadas en dermis media y/o profunda, que no tengan conexión con la epidermis, como por ejemplo una recidiva en profundidad en una lesión extirpada previamente no tendrá patrón de fluorescencia.

El principal problema de la técnica es que no puede valorar los márgenes profundos de una tumoración, sirviendo en el mejor de los casos solamente para el margen lateral.

4. Tipo de celularidad.

Para que el fotosensibilizante acabe produciendo fluorescencia visible, necesitamos que éste entre en la vía metabólica celular y acumule en ella Protoporfirina IX. Este proceso se cumple solamente en células que posean la vía de la síntesis del grupo Hemo, por lo que necesitamos una

lesión con abundante celularidad. Tumores con gran cantidad de fibrosis o estroma y menor celularidad como ocurre en algunos basocelulares esclerodermiformes o variantes infiltrantes microcordonaes no son las lesiones ideales a estudiar, al poder darnos falsos negativos por su escasa celularidad.

5. Fluorescencia basal en el área anatómica a estudio.

Habitualmente existe un fondo basal de fluorescencia, que depende del tiempo de incubación de la crema (MAL) y también de las características específicas de la piel de cada paciente, de la localización anatómica donde asienta la lesión a estudiar, y de la colonización bacteriana.

Esta fluorescencia basal es muy variable entre diferentes individuos, lo que dificulta la interpretación y la comparación de resultados. Un claro ejemplo de esta fluorescencia basal es la cara, fundamentalmente la región centrofacial y sobretodo la pirámide nasal, pabellones auriculares y conducto auditivo externo.

No se conocen bien las causas de esta mayor fluorescencia basal, pero se cree que podría deberse a la presencia de un mayor número de glándulas sebáceas. Esto nos dificultará el diagnóstico por fluorescencia, ya que en la región centrofacial es una zona de gran interés para poder realizar diagnóstico previo a la cirugía y poder así ahorrar piel sana perilesional.

6. Cicatrices.

El resultado de la fluorescencia sobre una cicatriz hay que interpretarlo en función del tiempo de evolución de ésta. Una cicatriz reciente, presenta un fondo basal de fluorescencia debido a la inflamación de la

piel para la correcta cicatrización. Sin embargo, cicatrices ya completamente remodeladas, presentan menor fluorescencia por el tejido fibroso cicatricial, pobre en celularidad. Esto nos supone una dificultad a la hora de evaluar posibles recidivas sobre tumores previamente extirpados.

7. Inflamación cutánea.

Cualquier tipo de inflamación cutánea, sea cual sea su origen - infeccioso, irritativo, alérgico...- mostrará fluorescencia tras la aplicación e incubación del fotosensibilizante, lo cual nos puede dar falsos positivos en nuestro diagnóstico si el tumor a estudio asienta sobre cualquier zona inflamada.

8. Fluorescencia peritumoral.

Al realizar la fluorescencia se suele observar alrededor de la lesión tumoral una área de fluorescencia, normalmente de menor intensidad que la fluorescencia tumoral, pero que en personas no entrenadas o familiarizadas con la técnica pueden llevar a errores y diagnósticos de falsos positivos.

9. Estructura tridimensional de un tumor.

El tumor tiene una estructura tridimensional, lo que hará que no sea una estructura simétrica y de crecimiento y extensión previsible. Puede tener una parte superficial o epidérmica que será la que podamos detectar mediante fluorescencia, pero puede tener prolongaciones profundas, digitiformes difíciles de predecir y de diagnosticar antes de la cirugía. Esta misma propiedad del tumor es la que hace que a pesar de extirpar una lesión con márgenes adecuados podamos tener recidivas

por nidos tumorales incompletamente extirpados que escapan de nuestras previsiones clínicas.

En el siguiente esquema pretendemos mostrar como la estructura tridimensional de un tumor y su crecimiento asimétrico a través de la piel pueden llevarnos a error cuando empleemos el diagnóstico por fluorescencia.

Tenemos la parte superficial del tumor y su crecimiento mediante trayectos digitiformes en profundidad. al aplicar la fluorescencia vemos que el tumor se marca de color rojo intenso (máxima fluorescencia). Alrededor del tumor tenemos fluorescencia de menor intensidad que se corresponde a la fluorescencia perilesional o a fluorescencia por tumor que no apreciamos a simple vista. Al comparar la imagen de fluorescencia con la histológica (cortes transversales) nos encontramos ante cuatro posibles situaciones. De izquierda a derecha son las siguientes: (Fig 32)

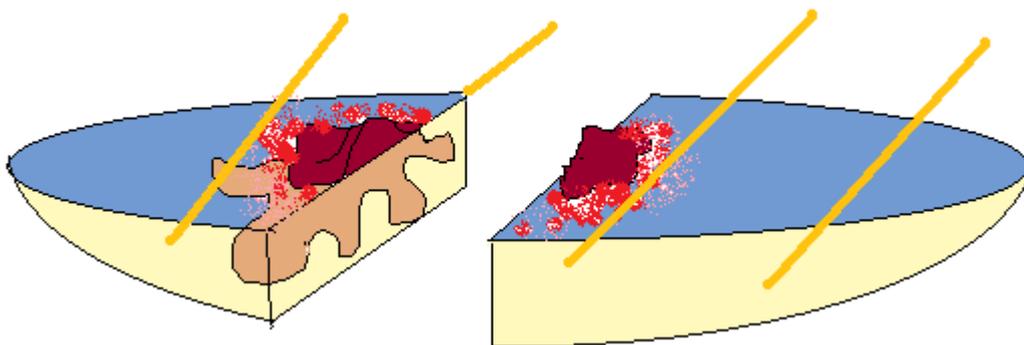


Fig. 32: Imaginando el tumor como una estructura tridimensional podemos encontrarnos con cuatro posibilidades de error/acierto de la fluorescencia.

1. No fluorescencia pero si tumor en profundidad. Esto sería un falso negativo de la fluorescencia, puesto que no ha detectado tumor.
2. Acierto de la fluorescencia. Vemos tumor que se corresponde al área delimitada por la fluorescencia.
3. Falso positivo de la fluorescencia. En una zona sin tumor vemos fluorescencia, ya sea perilesional o basal de la piel del individuo, pero nos induce a error en la demarcación tumoral.
4. Acierto de la fluorescencia. en un área sin fluorescencia no encontramos tumor en el corte longitudinal.

Una vez vistas las limitaciones de la técnica de fluorescencia, vamos a analizar los pacientes de nuestra muestra donde hemos encontrado un "error" de la técnica.

El primer paciente (Fig 33,34) es un varón de 81 años que presenta un basocelular primario, esclerodermiforme, de un año de evolución. El tumor marcaba fluorescencia solo en una zona (la zona periulcerada), dejando de marcar gran parte del tumor. Por eso, el resultado final fue de falso negativo. Podríamos atribuirlo a la estirpe esclerodermiforme del tumor, pero había zonas del tumor donde si encontrábamos fluorescencia. No hay que confundir la fluorescencia del tumor con la fluorescencia perilesional y basal de la piel del paciente.

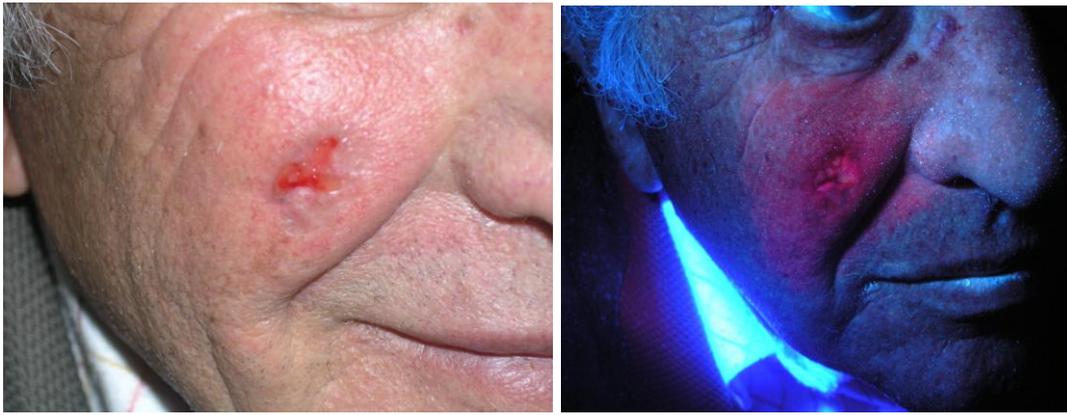


Fig 33,34: De izquierda a derecha, imagen clínica e imagen de fluorescencia.

La segunda paciente se trata de una mujer de 79 años, con una recidiva de basocelular tipo esclerodermiforme sobre pirámide nasal de un año de evolución. En esta paciente obtuvimos un resultado falso negativo, y tras la decorticación clínica (mayor que el área de fluorescencia) necesitamos dos pases quirúrgicos adicionales para la completa extirpación del tumor. Si tenemos en cuenta la estirpe esclerodermiforme del tumor, podría ser la causa de la no detección de fluorescencia, a pesar de estar localizado el tumor sobre la pirámide nasal, zona donde la fluorescencia basal suele ser elevada.

El tercer paciente era una mujer de 76 años, con un carcinoma basocelular localizado en la sien, variedad nodular, y era una recidiva de un tumor extirpado hace 3 años. El resultado de la fluorescencia fue nuevamente un falso negativo y se precisaron dos pases de cirugía de Mohs para finalizar la extirpación. Podríamos atribuir el falso negativo a que se trata de una recidiva de extirpación previa y por lo tanto la piel donde asienta podría no ser normal, con componente cicatricial del tratamiento previo y esto podría haber hecho que hubiera menor celularidad.

El cuarto paciente se trata de un varón de 71 años con un basocelular nodular y primario en cara posterior del pabellón auricular. Según estas características, la fluorescencia debería salir positiva, sin embargo encontramos un nuevo falso negativo. No encontramos razón alguna para explicar este resultado.

La quinta paciente es una mujer con un carcinoma basocelular nodular y primario en canto interno de ojo izquierdo de 12 años de evolución. La fluorescencia fue nuevamente negativa y tampoco encontramos ninguna razón que pudiera justificar el fallo de la fluorescencia.

La sexta paciente (Fig 35-38) se trata de una mujer de 45 años, que tras una cirugía convencional de carcinoma basocelular hace aproximadamente un año quedó afectación en el borde profundo. La extirpación previa revelaba la presencia de un basocelular subtipo nodular. Clínicamente solo se observaba una cicatriz horizontal sobre pirámide nasal, sin signos de recidiva, por lo que se optó por cirugía de Mohs para la reextirpación. En este caso, la fluorescencia marcó una zona no relacionada con la cicatriz, en el margen inferior-punta nasal. tras finalizar la cirugía (un solo pase quirúrgico) se vio que no había relación alguna entre el área de fluorescencia y el área tumoral real. En este caso, la cicatriz podría no haber mostrado fluorescencia por tener más de 6 meses y no quedar tejido inflamatorio en ella. Al haber afectación del borde profundo la fluorescencia no lo ha podido detectar por las limitaciones que tiene para llegar a dermis media y profunda. No tiene mucho sentido el área tumoral adyacente a la cicatriz pero no relacionada, pudiendo deberse a fluorescencia basal de la piel de la nariz, aunque marque solamente un área concreta a diferencia de otros pacientes donde es positiva para fluorescencia toda la pirámide nasal.



De izquierda a derecha y de arriba a abajo encontramos: **Fig 35:** imagen clínica; **Fig. 36:** imagen de fluorescencia; **Fig. 37:** esquema de la cicatriz -con una línea- y de la zona de fluorescencia positiva -área azulada-. Se observa la no correlación entre cicatriz a extirpar y zona de fluorescencia positiva; **Fig. 38:** defecto final tras la CMM, que no se corresponde al área de fluorescencia.

La séptima paciente es una mujer de 49 años, con una cicatriz en surco nasogeniano correspondiente a una cirugía previa hacía seis meses por un basocelular nodular con afectación de bordes laterales y profundo. Clínicamente se observaban tres pápulas brillantes sugerentes de recidiva. La fluorescencia marcó todo el área sospechosa al igual que todo el surco nasogeniano, que tras la finalización de la cirugía se demostró que estaba libre de afectación neoplásica. En este caso, el falso positivo podríamos atribuirlo a

la localización anatómica. El surco nasogeniano es un área seborreica y que por tanto puede dar una fluorescencia basal muy intensa.

La octava paciente es una mujer de 72 años, con un basocelular esclerodermiforme en pirámide nasal, primario y de un año de evolución. La fluorescencia no delimitó el tumor siendo un falso negativo. A pesar de ser un tumor localizado en área seborreica o con fluorescencia basal intensa, el tumor no emitió fluorescencia, quizá por tratarse de una estirpe esclerodermiforme.

El noveno paciente es un varón de 59 años, con un carcinoma basocelular de seis meses de evolución, primario y tipo esclerodermiforme. La fluorescencia se correlacionó bastante bien con la lesión clínica, sin embargo, no detectó una zona tumoral, tampoco visible con la simple exploración física, necesitando dos pases quirúrgicos para la completa extirpación de la lesión, por lo que la fluorescencia se dio como falso negativo.

La décima paciente, se trata de una mujer de 72 años con una recidiva de seis años de evolución de un carcinoma basocelular esclerodermiforme en cuero cabelludo. La fluorescencia no delimitó correctamente el área tumoral, siendo mucho menor que el área quirúrgica. A pesar de encontrarnos sobre un área seborreica, el resultado final fue falso negativo, quizá por tratarse de un tumor esclerodermiforme.

El undécimo paciente era un varón de 62 años, con un basocelular nasal tipo esclerodermiforme, primario y de unos dos años de evolución. La fluorescencia fue positiva en toda la pirámide nasal, sin diferenciar la fluorescencia basal del tumor. En este caso prevaleció la fluorescencia basal a la estirpe esclerodermiforme del tumor.

La duodécima paciente se trataba de una mujer de 72 años, con una cicatriz en la sien correspondiente a un basocelular incompletamente extirpado dos años antes, con afectación de los bordes lateral y profundo. A pesar de tratarse de una cicatriz antigua, y no evidenciarse clínicamente signos de recidiva, la fluorescencia fue claramente mayor al área final extirpada. Teóricamente hubiéramos esperado un falso negativo, pero en este caso, lo esperado tampoco se cumple.

La decimotercera paciente era una mujer de 52 años con una recidiva de basocelular nodular en labio superior, de unos dos años de evolución. La fluorescencia se correlacionó perfectamente con la imagen clínica y con el defecto quirúrgico final.

La decimocuarta paciente tenía un basocelular esclerodermiforme secundario a una recidiva de un tumor intervenido un año antes, localizado en el canto externo del ojo. El resultado final fue de falso positivo, a pesar de ser un tumor esclerodermiforme y por tanto con poca celularidad.

El decimoquinto paciente era un varón de 72 años con un basocelular esclerodermiforme de tres años de evolución, situado sobre pirámide nasal. El diagnóstico por fluorescencia fue exacto a pesar de encontrarnos sobre pirámide nasal, área con fluorescencia basal elevada, y tratarse de un tumor de estirpe esclerodermiforme.

La decimosexta paciente era una mujer de 83 años, con una cicatriz en canto interno de ojo izquierdo, por una extirpación incompleta de basocelular nodular dejando afectados los bordes laterales y profundo, de un año de evolución. El resultado de la fluorescencia tampoco fue el esperado, ya que a pesar de tratarse de una cicatriz antigua, el resultado fue falso positivo.

El decimoséptimo paciente, varón de 72 años, tenía un basocelular esclerodermiforme preauricular, primario, de un año de evolución. El resultado, a pesar de tratarse de un tumor con poca celularidad fue de falso positivo.

El decimoctavo paciente era un varón de 87 años, con un basocelular esclerodermiforme y primario localizado en pirámide nasal. El resultado fue perfecto, el área de fluorescencia se superpuso exactamente al área tumoral.

El decimonoveno paciente era un varón de 79 años con un basocelular nodular y primario en canto interno de ojo izquierdo. En este caso, fue un falso negativo, sin encontrar alguna posible razón para este resultado.

Los pacientes vigésimo y vigesimoprimeros tenían 81 y 68 años respectivamente, con tumores esclerodermiformes y clínicamente imposibles de delimitar de un año de evolución. En ambos casos, el resultado fue de falso positivo, siendo positiva la fluorescencia en toda el área nasal estudiada, sin poder discriminar el área tumoral.

Para finalizar, la vigesimosegunda paciente era una mujer de 76 años, con un basocelular esclerodermiforme en canto interno de ojo izquierdo, primario y de unos dos años de evolución. En este caso la fluorescencia fue negativa, probablemente debido a la estirpe tumoral.

Tras analizar minuciosamente los positivos y negativos de nuestros 22 pacientes, la única conclusión a la que podemos llegar es que a priori, saber cómo será el resultado de la fluorescencia es imprevisible. Teniendo en cuenta las ventajas y limitaciones mencionadas anteriormente podríamos pensar que hay subtipos histológicos más favorables al diagnóstico por fluorescencia y otros en los que la técnica tiene más dificultades en reconocerlos y delimitar

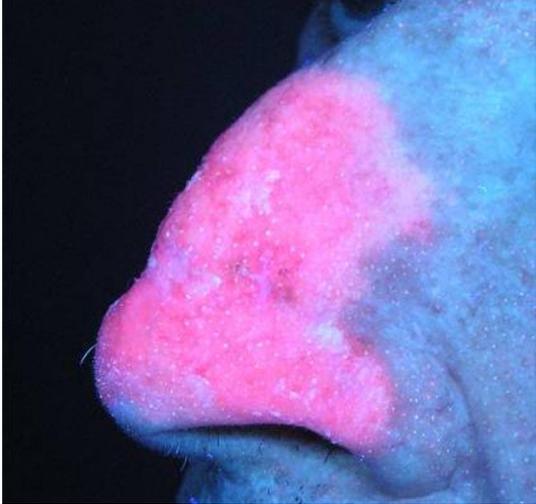
sus márgenes. También podríamos creer que ciertas localizaciones anatómicas como es fundamentalmente la pirámide nasal, por tener una fluorescencia basal más elevada no sería el lugar idóneo para realizar esta técnica diagnóstica. Sin embargo, vemos que ni incluso estas premisas se cumplen, encontrando falsos negativos en pirámide nasal y falsos positivos en localizaciones consideradas a priori como adecuadas. Y a su vez, encontramos falsos positivos en tumores esclerodermiformes y falsos negativos en tumores primarios nodulares. Tampoco parecen seguir las reglas establecidas las cicatrices. El resultado de la fluorescencia ha sido independiente del tiempo de evolución de la cicatriz.

Pero si que podemos extraer unas directrices generales para el diagnóstico por fluorescencia, guiándonos tanto en los conocimientos teóricos de la técnica, la experiencia de los diferentes grupos de estudio y nuestra propia experiencia (Tabla XII).

Tendremos falsos positivos en la fluorescencia con una alta probabilidad cuando estemos ante zonas seborreicas, zonas inflamadas, cuando los tumores nos den una importante fluorescencia perilesional o en zonas con un intenso daño actínico.

Los falsos negativos se deben fundamentalmente a tumores con baja densidad celular, a tumores con prolongaciones profundas o tumores pigmentados.

TABLA XII. PRINCIPALES SITUACIONES DONDE FALLA LA FLUORESCENCIA.

| FALSOS POSITIVOS | FALSOS NEGATIVOS |
|---|--|
|  |  |
| <ul style="list-style-type: none"> • Áreas seboreicas • Fluorescencia perilesional • Daño actínico | <ul style="list-style-type: none"> • Baja celularidad • tumores pigmentados • Profundidad |

Siguiendo estas mismas premisas podemos darnos cuenta el por qué no es útil la fluorescencia previa a la cirugía de Mohs. Si recordamos los requisitos que deben tener los tumores para ser intervenidos mediante esta técnica quirúrgica (tumores en región centrofacial, dedos o genitales, en pacientes inmunodeprimidos y tumores histológicamente agresivos) nos damos cuenta que coinciden muchas veces con la lista de casos en los que la fluorescencia dará falsos positivos o negativos.

La zona H de la cara coincide en muchas ocasiones con las regiones seboreicas, como es fundamentalmente la nariz, lugar donde asientan la mayoría de tumores que intervenimos mediante Mohs. (Fig 39)

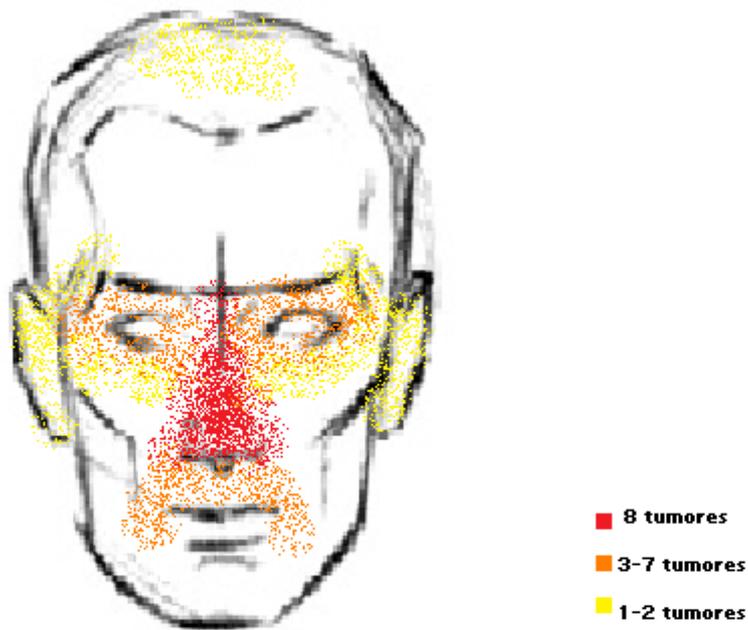


Fig 39: Localización de los tumores en nuestro grupo. Véase que coinciden en la mayoría de los casos con áreas seboreicas faciales.

Además, los pacientes suelen tener una edad avanzada (media de edad 71 años) y es fácil que además del tumor a extirpar presenten daño actínico perilesional que puede confundirnos a la hora de delimitar los carcinomas basocelulares.

Una cantidad no despreciable de casos son cicatrices, unas más recientes, otras de varios meses de evolución. El no presentar un patrón claro y regular de fluorescencia hace que sea muy complicado interpretar los resultados, y nunca podremos saber si las zonas positivas que nos salen son por remanentes tumorales, recidivas o si por el contrario se trata de simple inflamación por la remodelación de la cicatriz; o el caso inverso, un negativo en la fluorescencia puede ser a su vez verdadero negativo por ausencia tumoral o

negativo por la no detección de tumor por haber mucho tejido fibrótico cicatricial.

La fluorescencia funciona bien en tumores superficiales, pero como hemos venido observando, ésta estirpe tumoral no suele ser extirpada mediante cirugía de Mohs por poder beneficiarse de tratamientos menos lesivos e igualmente eficaces. Sin embargo, los tumores con mayor agresividad, en donde las técnicas alternativas de tratamiento para el carcinoma basocelular bajan su eficacia, son los que más se benefician de la cirugía de Mohs, pero a su vez, estos tumores suelen presentar las variedades histológicas menos favorables para la fluorescencia.

Todo esto hace que en el momento actual, la fluorescencia no pueda ser utilizada sistemáticamente como técnica de diagnóstico previo a la cirugía, por no tener una sensibilidad ni especificidad suficiente.

Quizás, en un futuro, la técnica avance para intentar mejorar su rendimiento. Necesitamos algún sistema que permita discriminar mejor la fluorescencia verdadera del tumor de la fluorescencia perilesional o del daño actínico circundante, o captar mejor fluorescencias menos intensas de tumores con baja celularidad.

Intentando acercarse a este objetivo, se pueden procesar las imágenes en programas informáticos tipo Photoshop® que nos permitan realizar cambios colorimétricos; de este modo, podríamos discriminar mejor las diferentes tonalidades del rosa de la fluorescencia y poder así relacionar las diferentes intensidades de fluorescencia con su clínica o histología correspondiente.

No obstante, no hay estudios publicados sobre este tema, simplemente son casos anecdóticos donde usando los cambios colorimétricos sobre la imagen

de fluorescencia hubiéramos obtenido mejores resultados de la técnica diagnóstica, y una aproximación más real a la extensión tumoral.(Fig. 40-43)

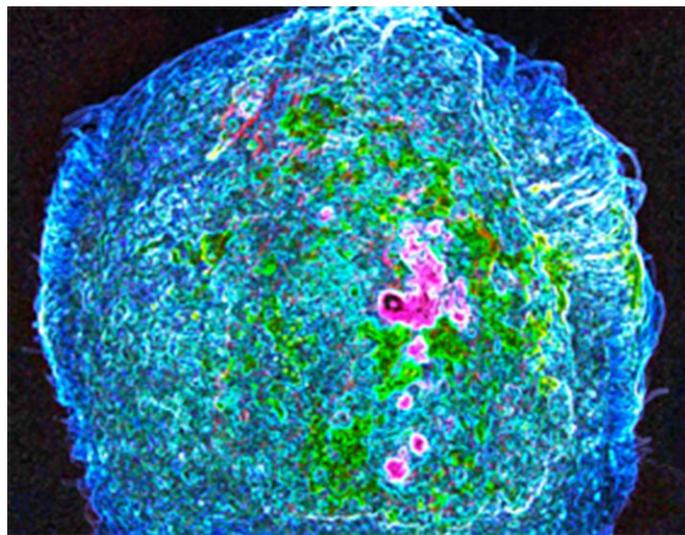
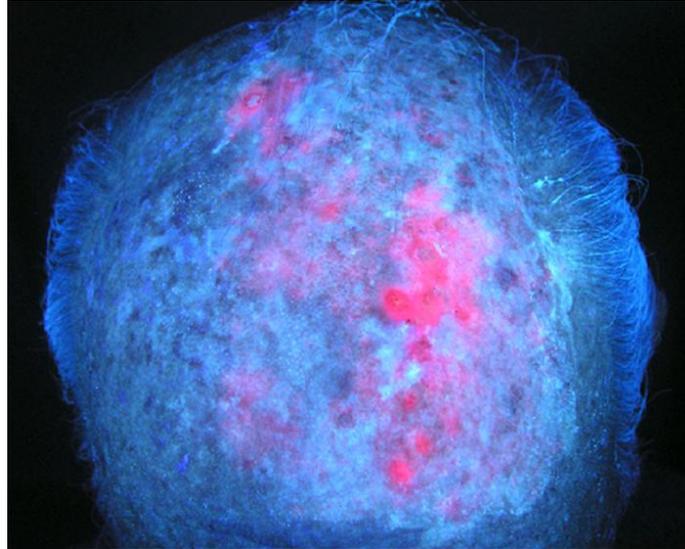


Fig. 40, 41. Arriba imagen de fluorescencia, abajo imagen de cambios colorimétricos. En este paciente vemos que en la imagen de fluorescencia nos da como positivo gran parte del cuero cabelludo, sin embargo al realizar los cambios colorimétricos, éstos nos detectan las áreas de fluorescencia más intensas y se delimita mucho mejor la lesión tumoral, siendo el resto de la fluorescencia áreas de daño actínico intenso sin neoplasia.

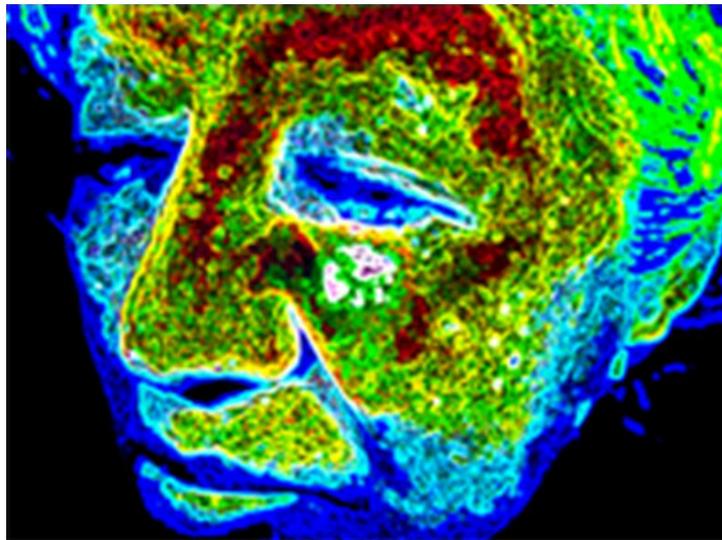
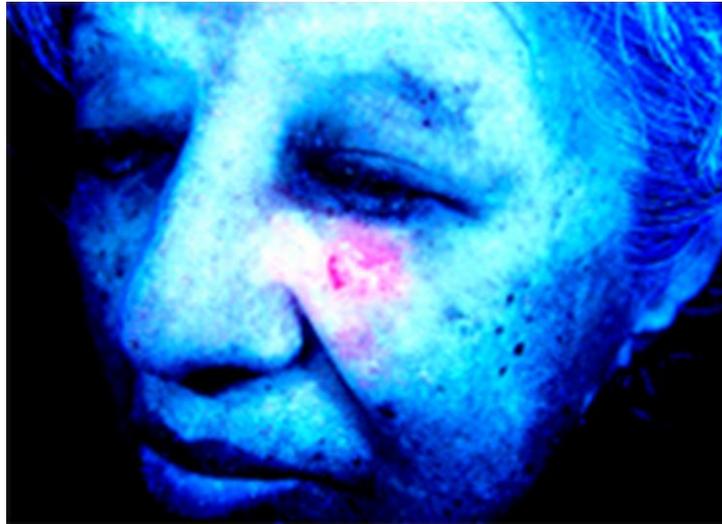


Fig 42,43. Arriba imagen de fluorescencia, abajo imagen de cambios colorimétricos. En este segundo ejemplo vemos en blanco mejor delimitado el área de fluorescencia más intensa, que corresponde a un carcinoma basocelular.

CONCLUSIONES

1. El rendimiento diagnóstico que ofrece la fluorescencia (sensibilidad y especificidad) para delimitar los márgenes quirúrgicos del carcinoma basocelular con criterios para ser tratados mediante cirugía de Mohs es muy bajo, no ofreciendo ninguna ventaja sobre la exploración clínica habitual.
2. La sensibilidad y especificidad de la técnica es menor en los tumores localizados en región centrofacial o con comportamiento biológico más agresivo, ya sea por su tamaño o subtipo histológico, precisamente los tumores en los que está más indicada la Cirugía de Mohs.
3. Encontramos principalmente los falsos negativos de la técnica en tumores esclerodermiformes y con poca celularidad, tumores que infiltran en profundidad y tumores pigmentados.
4. Los falsos positivos de la fluorescencia se observan fundamentalmente al aplicar la técnica sobre tumores localizados en áreas seborreicas, inflamadas o con daño actínico.

RESUMEN

El objetivo de este estudio es evaluar la utilidad del diagnóstico por fluorescencia del carcinoma basocelular previo a la cirugía micrográfica de Mohs. Para ello hemos comparado el área que delimita la fluorescencia con el defecto quirúrgico final obtenido tras finalizar la cirugía.

Se han seleccionado 22 pacientes con carcinomas basocelulares candidatos a ser tratados mediante cirugía de Mohs, debido a su histología y/o localización anatómica. El diagnóstico por fluorescencia se realizó el día previo a la cirugía.

La fluorescencia ha sido la misma que el área tumoral en solo 3 pacientes (13,6%). en los otros 19 (86,4%) la el área de fluorescencia no coincidía con el área tumoral real. En 10 de los 19 pacientes (52,6%) el área de fluorescencia fue menor que el área tumoral (resultado falso negativo). En 8 pacientes (42,1%) la fluorescencia fue mayor que el defecto quirúrgico final (resultado falso positivo). La sensibilidad y especificidad encontradas han sido del 25% y 0% respectivamente.

Los resultados falsos negativos suelen deberse a infiltración en profundidad o en un tumor con baja densidad celular como los subtipos esclerodermiformes. Cicatrices antiguas de tumores incompletamente extirpados tampoco muestran fluorescencia.

Los falsos positivos suelen deberse a la aplicación de la técnica sobre localizaciones que de por si muestran fluorescencia basal, como las áreas seboreicas de la región centrofacial (nariz y párpados). Además, la piel sana peritumoral muestra fluorescencia basal, que varía en función del paciente y del área anatómica donde asienta el tumor, lo cual hace que sea francamente difícil sistematizar los resultados. También la piel con daño actínico muestra fluorescencia, por lo que realizar la técnica en estas localizaciones podría

incrementar el área de resección quirúrgica sin necesidad. Cicatrices recientes y áreas de piel inflamadas también pueden mostrar fluorescencia.

Todas estas limitaciones explican por qué el diagnóstico por fluorescencia no es útil en el carcinoma basocelular previo a la cirugía de Mohs, puesto que las indicaciones para esta técnica quirúrgica son recidivas tumorales, variedades histológicas agresivas, o tumores localizados en región centrofacial (zona H), precisamente las situaciones donde la fluorescencia presenta limitaciones. Debido a todo esto, la fluorescencia no es útil para el diagnóstico de márgenes tumorales previos a la cirugía micrográfica de Mohs.

ABSTRACT

The objective of this work is to evaluate the utility of fluorescence diagnosis before Mohs micrographic surgery, comparing the fluorescence area and the final boundary after surgery.

Twenty-two patients who presented basal cell carcinoma were selected. The tumours for MMS treatment were selected according the histology and localization of the BCC. Fluorescence diagnosis was made the day before surgery.

The fluorescence diagnosis corresponded exactly to the histological tumoural margins in only 3 patients (13.6 %). In the other 19 patients (86.4%) the fluorescence area was not the same as the histological tumoural margins. In 10 of these 19 patients (52.6%) the fluorescence area was smaller than the clinical and histological borders (False negative result). In 8 patients (42.1%) the fluorescence area was larger than clinically expected and larger than the final tumour boundary (False positive result). The sensitivity and specificity found was 25% and 0% respectively.

The false negative results can be due to the use of this technique in some situations as a deep tumour or a low cellular density tumour.

The main cause for false positive results may be due to the use of the technique in inadequate locations. Seborreic areas of the body produce basal fluorescence. In the central part of the face (particularly on the nose and lower eyelids) it is hard to differentiate the basal fluorescence from the tumoural fluorescence. In addition, generally, healthy skin surrounding the tumour can show perilesional fluorescence, which varies depending on the patient and the location of the tumor. Consequently it is difficult to systematize fluorescence results. Skin with severe actinic damage also shows fluorescence.

Fluorescence diagnosis in a tumour located in these areas can provoke an unnecessary increase in the size of the resection area.

Moreover, benign conditions such as recent scars or skin inflammation show non-specific fluorescence.

All these limitations explain why fluorescence diagnosis is not useful before MMS. The indications for MMS are relapses, aggressive types, and tumours located on the central part of the face (H zone), just the type of tumors in which fluorescence diagnosis shows limitations.

Due to all these limitations, fluorescence diagnosis does not seem useful for presurgical demarcation of tumour margins in this type of BCC.

.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hruza GJ. Mohs micrographic surgery. *Otolaryngol Clin North Am* 1990;23:845-64.
2. Epstein E. Fluorouracil past treatment of the basal cell carcinoma. *Arch Dermatol* 1987;121:207-12.
3. Miller BH, Shavin JS, Coggnetta A, Taylor RJ, Salasche S, Korey A. Nonsurgical treatment of basal cell carcinomas with intralesional 5-fluorouracil/epinephrine injectable gel. *J Am Acad Dermatol* 1997;36:72-7.
4. Greenway HT, Cornell RC, Tanner DJ, Peets E, Bordin GM, Nagi C. Treatment of basal cell carcinoma with intralesional interferon. *J Am Acad Dermatol* 1986;15:437-43.
5. Wieman TJ, Shiveley EH, Woodcock TM. Responsiveness of metastatic basal cell carcinoma to chemotherapy: a case report. *Cancer* 1983;52:1583-5.
6. Wheeland RG, Bailin PL, Ratz JL, Roenigk RK. carbon dioxide laser vaporization and curettage in the treatment of large or multiple superficial basal cell carcinomas. *J Dermatol Surg Oncol* 1987;13:119-25.
7. Wentzell MJ, Robinson JK. Embryologic fusion planes and the spread of cutaneous carcinoma: a review and reassessment. *J Dermatol Surg Oncol* 1990;16:1000-6.
8. Mohs FE. Chemosurgery, a microscopically controlled method of cancer excision. *Arch Surg* 1941;42:279-95.
9. Mohs FE. Mohs micrographic surgery: a historical perspective. *Dermatol Clin* 1989;7:609-11.
10. Dinehart SM, Pollack SV. Mohs micrographic surgery for skin cancer. *Cancer Treat Rev* 1989;16:257-65.
11. Mohs FE. Microcontrolled surgery for skin cancer. In: Epstein E, Epstein E, editors. *Skin surgery*. Philadelphia: WB Saunders; 1987. p.380-95.
12. Mohs FE. Cancer of eyelids. *Bull Am Coll Chemosurgery* 1970;3:10-1.
13. Lang PG Jr. Mohs micrographic surgery: fresh-tissue technique. *Dermatol Clin* 1989;7:613-26.

14. Bennett RG. Current concepts in Mohs micrographic surgery. *Dermatol Clin* 1991;9:777-88.
15. Cotel WI, Bailin PL, Albom MJ, Bernstein G, Braun M, Hanke CW. Essentials of Mohs micrographic surgery. *J Dermatol Surg Oncol* 1988;14:11-3.
16. Kovach R, Welton WA, Wetmore SJ. Mohs micrographic surgery. *W Va Med J* 1990;86:551-5.
17. Morman MR. Mohs micrographic surgery. *N J Med* 1989;86:369-73.
18. Salmon RM. Mohs surgery explained. *Med J Aust* 1992;157:611-5.
19. Leffell DJ. An educational device for Mohs micrographic surgery: a three-dimensional model of basal cell carcinoma. *J Dermatol Surg Oncol* 1991;17:498-501.
20. Cotel WI, Proper S. Mohs surgery, fresh-tissue technique. *J Dermatol Surg Oncol* 1982;8:576-87.
21. Dzubow LM. Mohs surgery. *Lancet* 1994;343:433-4.
22. Robinson JK. Mohs micrographic surgery. *Clin Plast Surg* 1993;20:149-56.
23. Clark D. Cutaneous micrographic surgery. *Otolaryngol Clin North Am* 1993;26:185-202.
24. Shriner DL, McCoy DK, Goldberg DJ, Wagner RF. Mohs micrographic surgery. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:79-97.
25. Mohs FE, editor. *Chemosurgery. Microscopically controlled surgery for skin cancer.* Springfield: Charles C Thomas;1978. p.1-29,153-64.
26. Dogan MM, Snow Sn, Lo J. Rapid skin edge elevation using the OTC compound droplet technique to obtain horizontal microsections in Mohs micrographic surgery. *J Dermatol Surg Oncol* 1991;17:857-60.
27. Honda NS, Friedman DH. A simple method of tissue embedding for Mohs micrographic surgery. *J Dermatol Surg Oncol* 1989;15:502-4.
28. Leshin B, Cook SR, Frye DW. Cryomold: a device for tissue embedding in Mohs micrographic surgery. *J Dermatol Surg Oncol* 1991;17:234-6.
29. Motley RJ, Holt PJ. A simple device for optimal tissue preparation for Mohs micrographic surgery. *Br J Dermatol* 1992;126:57-9.

30. Rustad OJ, Kaye V, Cerio R, Zachary CB. Postfixation of cryostat sections improves tumor definition in Mohs surgery. *J Dermatol Surg Oncol* 1989;15:1262-7.
31. McGillis ST, Wheeland RG, Sebben JE. Current issues in the performance of Mohs micrographic surgery. *J Dermatol Surg Oncol* 1991;17:681-4.
32. Zachary CB, Rest EB, Furlong SM, Arcedo PN, McGeorge BC, Kist DA. Rapid cytoqueratin stains enhance the sensitivity of Mohs micrographic surgery for squamous cell carcinoma. *J Dermatol Surg Oncol* 1994;20:530-5.
33. Ramnarain ND, Walker NP, Markey AC. Basal cell carcinoma: rapid techniques using cytokeratin markers to assist treatment by micrographic (Mohs') surgery. *Br J Biomed Sci* 1995;52:184-7.
34. Jimenez F, Clark RE, Buchanan MD, Kamino H. Lymphoepithelioma-like carcinoma of the skin treated with Mohs micrographic surgery in combination with immune staining for cytokeratins. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:878-81.
35. Jimenez FJ, Grichnik JM, Buchanan MD, Clark RE. Immunohistochemical techniques in Mohs micrographic surgery: their potential use in the detection of neoplastic cells masked by inflammation. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:89-94.
36. Whalen J, Leone D. Mohs micrographic surgery for the treatment of malignant melanoma *Clin Dermatol*. 2009;27:597-602.
37. Bieley HC, Kirsner RS, Reyes BA, Garland LD. The use of Mohs micrographic surgery for determination of residual tumor in incompletely excised basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 1992;26:754-6.
38. Lambert DR, Siegle RJ. Skin cancer: a review with consideration of treatment options including Mohs micrographic surgery. *Ohio Med* 1990;86:745-7.
39. Goldberg DJ, Schwartz RA. Basal cell carcinoma: cosmetic mutilation following incomplete excision. *Can J Dermatol* 1991;3:168-9.

40. Breuninger H, Dietz K. Prediction of subclinical tumor infiltration in basal cell carcinoma. *J Dermatol Surg Oncol* 1991;17:574-8.
41. Drake LA, Dinehart SM, Goltz RW, Graham GF, Hordinsky MK, Lewis CW, Pariser DM, Salasche SJ, Skouge JW, Turner ML. American Academy of Dermatology guidelines of care for Mohs micrographic surgery. *Dermatology world* 1994;17-23.
42. Lang PG Jr, Osguthorpe JD. Indications and limitations of Mohs micrographic surgery. *Dermatol Clin* 1989;7:627-44.
43. Calhoun KH, Wagner RF Jr. Multidisciplinary treatment of facial skin cancer. *Tex Med* 1991;87:64-9.
44. Smith SP, Foley EH, Grande DJ. Use of Mohs micrographic surgery to establish quantitative proof of heightened tumor spread in basal cell carcinoma recurrent following radiotherapy. *J Dermatol Surg Oncol* 1990;16:1012-6.
45. Smith SP, Grande DJ. Basal cell carcinoma recurring after radiotherapy: a unique, difficult treatment subclass of recurrent basal cell carcinoma. *J Dermatol Surg Oncol* 1991;17:26-30.
46. Mora RG, Robins P. Basal-cell carcinomas in the center of the face: special diagnostic, prognostic, and therapeutic considerations. *J Dermatol surg Oncol* 1978;4:315-21.
47. Bennett RG. Mohs' surgery. New concepts and applications. In: Bailin PL, Ratz JL, Wheeland RG, editors. *Dermatologic clinics*. Philadelphia: WB Saunders; 1991. p.409-28.
48. Panje WR, Ceilley RI. The influence of embryology of the mid-face on the spread of epithelial malignancies. *Laryngoscope* 1979;89:1914-20.
49. Carter RL, Tanner NJ, Clifford P, Shaw HJ. Perineural spread in squamous cell carcinomas of the head and neck: a clinicopathologic study. *Clin Otolaryngol* 1979;4:271-81.
50. Matorin PA, Wagner RF Jr. Mohs micrographic surgery: technical difficulties posed by perineural invasion. *Int J Dermatol* 1992;31:83-6.

51. Soo K, Carter RC, O'Brian CJ, Barr L, Bliss JM, Shaw HJ. Prognostic implications of perineural spread in squamous carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope* 1986;96:1145-8.
52. Lawrence N, Cottel WI. Squamous cell carcinoma of skin with perineural invasion. *J Am Acad Dermatol* 1994;31:30-3.
53. Leslie DF, Greenway HT. Mohs micrographic surgery for skin cancer. *Australas J Dermatol* 1991;32:159-64.
54. Alessi SS, Sanches JA, de Oliveira WR, Messina MC, Pimentel ER, Festa Neto C. Treatment of cutaneous tumors with topical 5% imiquimod cream. *Clinics* 2009;64:961-6.
55. Bukhardt Pérez MP, Ruiz-Villaverde R, Naranjo Díaz MJ, Blasco Melguizo J, Naranjo Sintes R. Basal cell carcinoma: treatment with imiquimod. *Int J Dermatol*. 2007;46:539-42.
56. Soler AM, Warloe T, Berner A, Giercksky KE. A follow-up study of recurrence and cosmesis in completely responding superficial and nodular basal cell carcinomas treated with methyl 5-aminolaevulinate-based photodynamic therapy alone and with prior curettage. *Br J Dermatol*. 2001;145:467-71.
57. Surrenti T, De Angelis L, Di Cesare A, Fargnoli MC, Peris K. Efficacy of photodynamic therapy with methyl aminolevulinate in the treatment of superficial and nodular basal cell carcinoma: an open-label trial. *Eur J Dermatol*. 2007;17:412-5.
58. Tillman DK Jr, Carroll MT. A 36-month clinical experience of the effectiveness of curettage and imiquimod 5% cream in the treatment of basal cell carcinoma. *J Drugs Dermatol*. 2008;7:7-14.
59. Salasche SJ, Amonette R. Morpheaform basal-cell epitheliomas: a study of subclinical extensions in a series of 51 cases. *J Dermatol Surg Oncol* 1981;7:387-93.
60. Mehregan AH. Aggressive basal cell epithelioma on sun-light-protected skin: report of eight cases, one with pulmonary and bone metastases. *Am J Dermatopathol* 1983;5:221-9.

61. Hendrix JD, Parlette HL. Micronodular basal cell carcinoma: a deceptive histologic subtype with frequently clinically undetected tumor extension. *Arch Dermatol* 1996;132:295-8.
62. Borel DM. Cutaneous basosquamous carcinoma: review of the literature and report of 35 cases. *Arch Pathol* 1973;95:293-7.
63. Wagner RF Jr, Cottel WI. Multifocal recurrent basal cell carcinoma following primary tumor treatment by electrodesiccation and curettage. *J Am Acad Dermatol* 1987;17:1047-9.
64. Miller PK, Roenigk RK, Bodland DG, Randle HW. Cutaneous micrographic surgery: Mohs procedure. *Mayo Clin Proc* 1992;67:971-80.
65. Epstein E, Epstein N, Bragg K, Linden G. Metastases from squamous cell carcinomas of the skin. *Arch Dermatol* 1968;97:245-9.
66. Moller R, Reymann F, Hou-Jensen K. Metastases in dermatological patients with squamous cell carcinoma. *Arch Dermatol* 1979;115:703-5.
67. Lund HZ. How often does squamous cell carcinoma of the skin metastasize? *Arch Dermatol* 1965;92:635-7.
68. Carter RL, Foster CS, Dinsdale EA, Pittam MR. Perineural spread by squamous cell carcinomas of the head and neck: a morphological study using anti-axonal and anti-myelin monoclonal antibodies. *J Clin Pathol* 1983;36:269-75.
69. Rowe DE, Carroll RJ, Day CL. Prognostic factors for local recurrence, metastasis, and survival rates in squamous cell carcinoma of the skin, ear, and lip. *J Am Acad Dermatol* 1992;26:976-90.
70. Broders AC. Squamous-cell epithelioma of the skin. *Ann Surg* 1921;73:141-60.
71. Mohs FE, Snow SN, Larson PO. Mohs micrographic surgery for penile tumors. *Urol Clin North Am* 1992;19:291-304.
72. Mora RG. Microscopically controlled surgery (Mohs chemosurgery) for treatment of verrucous squamous cell carcinoma of the foot (epithelioma cuniculatum). *J Dermatol Surg Oncol* 1978;8:354-6.

73. Padilla RS, Bailin PL, Howard WR, Dinner WI. Verrucous carcinoma of the skin and its management by Mohs surgery. *Plast Reconstr Surg* 1984;73:442-9.
74. Golda NJ, Wheeland RG. Vulvar squamous cell carcinoma treated using the Mohs technique: case and assessment of treatment strategies. *Dermatol Surg* 2009;35:1294-7.
75. Moritz DL, Lynch WS. Extensive Bowen's disease of the penile shaft treated with fresh tissue Mohs micrographic surgery in two separate operations. *J Dermatol Surg Oncol* 1991;17:374-8.
76. Martorell-Calatayud A, Requena-Caballero C, Botella-Estrada R, Almenar-Medina S, Sanmartín-Jiménez O, Llombart-Cussac B, Nagore-Enguídanos E, Serra-Guillén C, Echeverría-García B, Guillén-Barona C. Microcystic adnexal carcinoma: Mohs micrographic surgery as the treatment of choice. *Actas Dermosifiliogr*. 2009;100:693-9.
77. Parker TL, Zitelli JA. Surgical margins for excision of dermatofibrosarcoma protuberans. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:233-6.
78. Gloster HM, Harris KR, Roenigk RK. A comparison between Mohs micrographic surgery and wide surgical excision for the treatment of dermatofibrosarcoma protuberans. *J Am Acad Dermatol* 1996;35:82-7.
79. Paradisi A, Abeni D, Rusciani A, Cigna E, Wolter M, Scuderi N, Rusciani L, Kaufmann R, Podda M. Dermatofibrosarcoma protuberans: wide local excision vs. Mohs micrographic surgery. *Cancer Treat Rev*. 2008;34:728-36.
80. Stranahan D, Cherpelis BS, Glass LF, Ladd S, Fenske NA. Immunohistochemical stains in Mohs surgery: a review. *Dermatol Surg*. 2009;35:1023-34.
81. Coldiron MB, Goldsmith BA, Robinson JK. Surgical treatment of extramammary Paget's disease: a report of six cases and a reexamination of Mohs micrographic surgery compared with conventional surgical excision. *Cancer* 1991;67:933-8.
82. O'Connor WJ, Lim KK, Zalla MJ, Gagnot M, Otley CC, Nguyen TH, Roenigk RK. Comparison of Mohs micrographic surgery and wide

- excision for extramammary Paget's disease. *Dermatol Surg*. 2003;29:723-7.
83. Hendi A, Brodland DG, Zitelli JA. Extramammary Paget's disease: surgical treatment with Mohs micrographic surgery. *J Am Acad Dermatol*. 2004 ;51:767-73.
84. Mohs FE, Snow SN, Larson PO. Mohs micrographic surgery fixed-tissue technique for melanoma of the nose. *J Dermatol Surg Oncol* 1990;16:1111-20.
85. Kaspar TA, Wagner RF Jr. Mohs micrographic surgery for thin stage I malignant melanoma: rationale for a modern management strategy. *Cutis* 1992;50:350-1.
86. Zitelli JA, Mohs FE, Larson P, Snow S. Mohs micrographic surgery for melanoma. *Dermatol Clin* 1989;7:833-43.
87. Zitelli JA, Brown C, Hanusa BH. Mohs micrographic surgery for the treatment of primary cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1997;37:236-45.
88. Cascinelli N, Preda F, Vaglini M. Metastatic spread of Stage I melanoma of the skin: WHO Collaborating Centers for evaluation of methods of diagnosis and treatment of melanoma. *Tumor* 1983;69:449-54.
89. Kelly J, Blois M, Sagebiel R. Frequency and duration of patient follow-up after treatment of a primary malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1985;52:92-100.
90. Temple CL, Arlette JP. Mohs micrographic surgery in the treatment of lentigo maligna and melanoma. *J Surg Oncol* 2006;94:287-92.
91. Bricca GM, Brodland DG, Ren D, Zitelli JA. Cutaneous head and neck melanoma treated with Mohs micrographic surgery. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:92-100 .
92. Robinson JK. Margin control for lentigo maligna. *J Am Acad Dermatol* 1994;31:79-85.
93. Griego RD, Zitelli JA. Mohs micrographic surgery using HMB-45 for a recurrent acral melanoma. *Dermatol Surg* 1998;24:1003-6.

94. Zalla MJ, Lim KK, Dicaudo DJ. Mohs micrographic excision of melanoma using immunostains. *Dermatol Surg* 2000;26:771-84.
95. Kelley LC, Starkus L. Immunohistochemical staining of lentigo maligna during Mohs micrographic surgery using MART-1. *J Am Acad Dermatol* 2002;46:78-84.
96. Albertini JG, Elston DM, Libow LF. Mohs micrographic surgery for melanoma: a case series, a comparative study of immunostains, an informative case report, and a unique mapping technique. *Dermatol Surg* 2002;28:656-65.
97. Brica GM, Brodland DG, Zitelli JA. Immunostaining melanoma frozen sections: the 1-hour protocol. *Dermatol Surg* 2004;30:403-8.
98. Davis DA, Kurtz KA, Robinson RA. Ultrarapid staining for cutaneous melanoma: study and protocol. *Dermatol Surg* 2005;31:753-6.
99. Bhardwaj SS, Tope WD, Lee PK. Mohs micrographic surgery for lentigo maligna and lentigo maligna melanoma using Mel-5 immunostaining: University of Minnesota experience. *Dermatol Surg* 2006;31:690-6.
100. Dawn ME, Dawn AG, Miller SJ. Mohs surgery for the treatment of melanoma in situ: a review. *Dermatol Surg*. 2007 Apr;33(4):395-402.
101. Claire LF, Temple C, Arlette J. Mohs Micrographic Surgery in the Treatment of Lentigo Maligna and Melanoma. *J Surg Oncol* 2006;94:287–292.
102. Wargo JA, Tanabe K. Surgical management of melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;3:565-81.
103. Astner S, Dietterle S, Otberg N, Rówert-Huber HJ, Stockfleth E, Lademann J. Clinical applicability of in vivo fluorescence confocal microscopy for noninvasive diagnosis and therapeutic monitoring of nonmelanoma skin cancer. *J Biomed Opt*. 2008;13:140-3.
104. Ahlgrimm-Siess V, Hofmann-Wellenhof R, Cao T, Oliviero M, Scope A, Rabinovitz HS. Reflectance confocal microscopy in the daily practice. *Semin Cutan Med Surg*. 2009;28:180-9.
105. Gareau DS, Karen JK, Dusza SW, Tudson M, Nehal KS, Rajadhyaksha M. Sensitivity and specificity for detecting basal cell

- carcinomas in Mohs excisions with confocal fluorescence mosaicing microscopy. *J Biomed Opt.* 2009;14:034012.
106. Karen JK, Gareau DS, Dusza SW, Tudisco M, Rajadhyaksha M, Nehal KS. Detection of basal cell carcinomas in Mohs excisions with fluorescence confocal mosaicing microscopy. *Br J Dermatol.* 2009;160:1242-50.
107. Patel YG, Nehal KS, Aranda I, Li Y, Halpern AC, Rajadhyaksha M. Confocal reflectance mosaicing of basal cell carcinomas in Mohs surgical skin excisions. *J Biomed Opt.* 2007;12:034027.
108. Hayashi K, Koga H, Uhara H, Saida T. High-frequency 30-MHz sonography in preoperative assessment of tumor thickness of primary melanoma: usefulness in determination of surgical margin and indication for sentinel lymph node biopsy. *Int J Clin Oncol.* 2009;14:426-30.
109. Catalano O, Siani A. Cutaneous melanoma: role of ultrasound in the assessment of locoregional spread. *Curr Probl Diagn Radiol.* 2010;39:30-6.
110. Vilana R, Puig S, Sanchez M, Squarcia M, Lopez A, Castel T, Malveyh J. Preoperative assessment of cutaneous melanoma thickness using 10-MHz sonography. *AJR Am J Roentgenol.* 2009;193:639-43.
111. Sanki A, Uren RF, Moncrieff M, Tran KL, Scolyer RA, Lin HY, Thompson JF. Targeted high-resolution ultrasound is not an effective substitute for sentinel lymph node biopsy in patients with primary cutaneous melanoma. *J Clin Oncol.* 2009;27:5614-9.
112. Kuwano Y, Ishizaki K, Watanabe R, Nanko H. Efficacy of diagnostic ultrasonography of lipomas, epidermal cysts, and ganglions. *Arch Dermatol.* 2009;145:761-4.
113. Jambusaria-Pahlajani A, Schmults CD, Miller CJ, Shin D, Williams J, Kurd SK, Gelfand JM. Test characteristics of high-resolution ultrasound in the preoperative assessment of margins of basal cell and squamous cell carcinoma in patients undergoing Mohs micrographic surgery. *Dermatol Surg.* 2009;35:9-15.

114. Desai TD, Desai AD, Horowitz DC, Kartono F, Wahl T. The use of high-frequency ultrasound in the evaluation of superficial and nodular basal cell carcinomas. *Dermatol Surg* 2007;33:1220-7.
115. Mogensen M, Nürnberg BM, Forman JL, Thomsen JB, Thrane L, Jemec GB. In vivo thickness measurement of basal cell carcinoma and actinic keratosis with optical coherence tomography and 20-MHz ultrasound. *Br J Dermatol* 2009;160:1026-33.
116. Harto A, García C, Marquet A. La fotografía en terapia fotodinámica. Diagnóstico por fluorescencia. En: *Terapia Fotodinámica*, 1ª edición. Laboratorios Galderma, 2007. p23-36.
117. Willians R. the invisible imagen. A tutorial on photography with invisible radiation. *Fluorescence photography. J Biol Photog* 1994;62:3-19.
118. Gilaberte Y, González S. Principios básicos de la Terapia Fotodinámica.. En: *Terapia Fotodinámica*, 1ª edición. Laboratorios Galderma, 2007. p11-9.
119. Rowe Pm. Photodynamic therapy begins to shine. *Lancet* 1998;351:1496.
120. Lui H, Anderson RR. Photodynamic therapy in dermatology. *Dermatol Clin* 1993;11:1-13.
121. Jiraskova M, Jirasek L, Stork J, Vosmik F, Jirsa M. Photodynamic diagnosis and therapy in dermatology. Experience with use of TPPS4 in skin diseases. *Cas Lek Cesk* 2003;142:493-9.
122. Karrer S, Abels C, Szeimes RM, Bäumlér W, Dellian M, Hohenleutner U, Goetz A, Landthaler M. Topical application of a first porphycene dye for photodynamic therapy - penetration studies in human perilesional skin and basal cell carcinoma. *Arch Dermatol Res* 1997;289:132-7.
123. Rosenthal I. Phthalocyanines as photodynamic sensitizers. *Photochem Photobiol* 1991;53:859-70 Fabris C, Soncin M, Mazzon E. A novel tetracationic phthalocyanine as a potential skin therapeutic agent. *Exp Dermatol* 2005;14:675-83.

124. Fabris C, Soncin M, Mazzon E. A novel tetracationic phthalocyanine as a potential skin therapeutic agent. *Exp Dermatol* 2005;14:675-83.
125. Leung J. Photosensitizers in photodynamic therapy. *Semin Oncol* 1994;21:4-10.
126. Chan AL, Juárez M, Allen R, Volz W, Albertson T. Pharmacokinetics and clinical effects of mono-L-aspartyl chlorin e6 (Npe6) photodynamic therapy in adult patients with primary or secondary cancer of the skin and mucosal surfaces. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2005;21:72-8.
127. Takahashi H, Komatsu S, Ibe M, Ishida-Yamamoto A, Nakajima S, Sakata I, Iizuka H. ATX-S10(Na)-PDT shows more potent effect on collagen metabolism of human normal and scleroderma dermal fibroblasts than ALA-PDT. *Arch Dermatol Res* 2006;298:257-63.
128. Rifkin R, Reed B, Hetzel F, Chen K. Photodynamic therapy using SnET2 for basal cell nevus syndrome: a case report. *Clin Ther* 1997;19:639-41.
129. Campbell SM, Gould DJ, Salter L, Clifford T, Curnow A. photodynamic therapy using meta-tetrahydroxyphenylchlorin (Foscan®) for treatment of vulval intraepithelial neoplasia. *Br J Dermatol* 2004;151:1076-80.
130. Renschler MF, Yuen A, Panella TJ, Wieman TJ, Julius C, Panjehpour M et al. Photodynamic therapy trials with lutetium texaphyrin PCI-0123 (Lu-Tex). *Photochem Photobiol* 1997;65(Suppl):47S.
131. Gilaberte Y, Serra-Guillén C, de las Heras ME, Ruíz Rodríguez R, Fernández-Lorente M, Benvenuto-Andrade C, González-Rodríguez S, Guillén-Barona C. Terapia fotodinámica en dermatología. *Actas Dermosifiliogr* 2006;97:83-102.
132. Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience. *J Photochem Photobiol B* 1990;73:973-44.

133. Orenstein A, Kostenich G, Roitman L, Shechtman Y, Kopolovic Y, Ehrenberg B, Malik Z. A comparative study of tissue distribution and photodynamic therapy selectivity of chlorin e6, Photofrin II and ALA-induced protoporphyrin IX in a colon carcinoma model. *Br J Cancer* 1996;73:937-44.
134. Peng Q, Warloe T, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Giercksky Ke, Nesland JM. 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. *Cancer* 1997;79:2282-308.
135. Juzenas P, Juzeniene A, Kaalhus O. Noninvasive fluorescence excitation spectroscopy during application of 5-aminolevulinic acid in vivo. *Photochem Photobiol Sci* 2002;1:745-8.
136. Lim HW, Sassa S. The porphyrias. En: Lim HW, Soter NA. *Clinical Photomedicine*. Marcel Dekker Publishers, New York, 1992;241-67.
137. May BK, Bawden MJ. Control of heme biosynthesis in animals. *Semin Hematol* 1989; 26: 150-156.
138. Peng Q, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Nesland JM. 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: principles and experimental research. *Photochem Photobiol* 1997;65:235-51.
139. Gibson SL, Cupriks DJ, Havens JJ, Nguyen ML, Hilf R. A regulatory role for porphobilinogen deaminase (PBGD) in d-aminolaevulinic acid induced photosensibilization? *Br J Cancer* 1998;77:235-43.
140. Fritsch C, Goerz G, Ruzicka T. Photodynamic therapy in dermatology. *Arch Dermatol* 1998;134:207-14.
141. Soler AMA. A follow-up study of recurrence and cosmesis in completely responding superficial and nodular basal cell carcinomas treated with methyl 5 aminolevulinate-based photodynamic therapy alone and with prior curettage. *Br J Dermatol* 2001;145:467-71.
142. Rhodes LE, de Rie M, Enstrom Y, Groves R, Morken T, Goulden V. Photodynamic therapy using topical methyl aminolevulinate vs surgery for nodular basal cell carcinoma: results of a multicenter randomized prospective trial. *Arch Dermatol*. 2004;140:17-23.

143. Siddiqui MAA, Perry CM, Scott LJ. Topical methyl aminolevulinate. *Adis Drug Profile. Am J Clin Dermatol* 2004;5:127-37.
144. Tylor EL, Brown SB. The advantages of aminolevulinic acid photodynamic therapy in dermatology. *J Dermatol Treat* 2002;13 (suppl. 1):S3-11.
145. Angel-Pettersen E, Sorensen R, Warloe T. Porphyrin formation in actinic keratoses and basal cell carcinoma after topical application of methyl 5-aminolevulinate. *J Invest Dermatol* 2006;126:265-271.
146. Myers B. How to photograph fluorescein in a normally illuminated room. *Plast Reconstr Surg* 1981;6:809-10.
147. Kleipenning MM, Smits T, Ewalds E. Heterogeneity of fluorescence in psoriasis after application of 5-aminolevulinic acid: an immunohistochemical study. *Br J Dermatol* 2006;155:539-45.
148. Sanmartín-Jiménez O, Rodríguez-Serna M, Botella-Estrada R, Guillén-Barona C, Aliaga-Boniche A. Mucinosis folicular: nuevas entidades clínicopatológicas. Estudio clínico, histológico e inmunogenotípico de 23pacientes. *Actas Dermosifiliogr* 2002; 93: 102-113.
149. Abraira V. Índices de rendimiento de las pruebas diagnósticas SEMERGEN 2002;28:193-4.
150. Redondo P, Marquina M, Pretel M, Aguado L, Iglesias ME. Methyl-ALA-Induced fluorescence in photodynamic diagnosis of basal cell carcinoma prior to Mohs micrographic surgery. *Arch Dermatol* 2008;144:115-7.
151. Stenquist B, Ericson MB, Strandeberg C, Mölne L, Rosén A, Larkö O, Wennberg AM. Bispectral fluorescence imaging of aggressive basal cell carcinoma combined with histopathological mapping: a preliminary study indicating a possible adjunct to Mohs micrographic surgery. *Br J dermatol* 2006;154:305-9.
152. Wennberg AM, Gudmundson F, Stenquist B. In vivo detection of basal cell carcinoma using imaging spectroscopy. *Acta Derm Venereol* 1999;79:54-61.

153. Won Y, Hong SH, Yu HY. Potodetection of basal cell carcinoma using methyl 5-aminolevulinate-induced protoporphyrin IX based on fluorescence image analysis. *Clin Exp Dermatol* 2007;32:423-429.
154. Gambichler T, Moussa G, Altmeyer P. A pilot study of fluorescence diagnosis of basal cell carcinoma using a digital flash light based imaging system. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2008;24:67-71.
155. Wetzig T, Kendler M, Maschke J, Peasch U, Simon JC. No clinical benefit of preoperative fluorescence diagnosis of basal cell carcinoma localized in the H-zone of the face. *Br J Dermatol* 2010 (Epub ahead of print)
156. Fritsch C, Ruzicka T. Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy of skin diseases. 1^a ed. Slovenia: Springer-Verlag Wien New York, 2003. Angel-Pettersen E, Sorensen R, Warloe T. Porphyrin formation in actinic keratoses and basal cell carcinoma after topical application of methyl 5-aminolevulinate. *J Invest Dermatol* 2006;126:265-71.
157. Angel-Pettersen E, Sorensen R, Warloe T. Porphyrin formation in actinic keratoses and basal cell carcinoma after topical application of methyl 5-aminolevulinate. *J Invest Dermatol* 2006;126:265-71.
158. Svaasand LO, Wyss P, Wyss MT, Tadir Y, Tromberg BJ, Berns MW. Dosimetry model for photodynamic therapy with topically administered photosensitizers. *Lasers Surg Med* 1996;18:139-49.
159. Moan J, Ma LW, Iani V. On the pharmacokinetics of topically applied 5-aminolevulinic acid and two of its esters. *Int J Cancer* 2001;92:139-43.
160. Peng Q, Moan J, Warloe T, Iani V, Steen HB, Bjorseth A. Build up of esterified aminolevulinic acid-derivative-induced porphyrin fluorescence in normal mouse skin. *J Photochem Photobiol B* 1996;34:95-6.

161. Peng Q, Warloe T, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Giercksky KE, Nesland JM. 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. *Cancer* 1997;79:2282-308.
162. Fritsch C, Ruzicka T. Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy of skin diseases. Atlas and Handbook. New York: Springer, 2003.
163. Fritsch C, Ruzicka T. Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy in dermatology from experimental state to clinic standar methods. *J Env Pathol Toxicol Oncol* 2006;25:425-39.
164. Fritsch C, Homey B, Stahl W, Lehmann P, Ruzicka T, Sies H. Preferential relative porphyrin enrichment in solar keratoses upon topical application of delta-aminolevulinic acid methylester. *Photochem Photobiol* 1998;68:218-21.
165. Szeimies RM, Landthaler M. Photodynamic therapy and fluorecence diagnosis of skin cancers. recent results *Cancer Res* 2002;160:240-5.
166. Rhodes LE, de Rie M, Enstrom Y, Groves R, Morken T, Goulden V. Photodynamic therapy using topical methyl aminolevulinate vs surgery for nodular basal cell carcinoma: results of a multicenter randomized prospective trial. *Arch Dermatol* 2004;140:17-23.
167. Peng Q, Moan J, Warloe T. Distribution and photosensitizing efficiency of porphyrins induced by application of exogenous 5-aminolevulinic acid in mice bearing breast carcinoma. *Int J Cancer* 1992;52:433.
168. Anderson RR, Parrish JA. The optics of human skin. *J Invest Dermatol* 1981;77:13-19. Van Gemert MJC, Jacques SL, Sterenborg HJCM, Star WM. Skin optics. *IEEE Trans Biomed Eng* 1989;36:1146-54.