



**FUNDACIÓN UNIVERSITARIA
DE CIENCIAS DE LA SALUD
FUCS**

PRINCIPIOS BÁSICOS EN TÉCNICA HISTOLÓGICA POR CONGELACIÓN PARA MATERIAL OBTENIDO EN CIRUGÍA MICROGRÁFICA DE MOHS

LAURA PATRICIA RODRÍGUEZ QUINTANA

Estudiante Investigativo

ANDREA GARZÓN ROZO

Autor Investigativo

**PRINCIPIOS BÁSICOS EN TÉCNICA HISTOLÓGICA
POR CONGELACIÓN PARA MATERIAL OBTENIDO EN
CIRUGÍA MICROGRÁFICA DE MOHS**

Proyecto de grado para optar el título de Tecnólogo en
Citohistología

LAURA PATRICIA RODRÍGUEZ QUINTANA

Estudiante de Citohistología

Andrea Garzón Rozo

Docente Ps - Tecnóloga en Citohistología

Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud - FUCS

Facultad de Citohistología

2021

Bogotá D.C.



Tabla de contenido

PRINCIPIOS BÁSICOS EN TÉCNICA HISTOLÓGICA POR CONGELACIÓN PARA MATERIAL OBTENIDO EN CIRUGÍA MICROGRÁFICA DE MOHS	2
Objetivo	7
Introducción.....	8
HISTORIA DE LA CIRUGIA MICROGRAFICA DE MOHS	9
1. Historia de la cirugía micrográfica de Mohs	10
FUNDAMENTOS BASICOS PARA LA CIRUGÍA MICROGRÁFICA DE MOHS	11
2. ¿Qué es la Cirugía Micrográfica de Mohs?	12
3. Indicaciones generales	13
4. Indicaciones específicas.....	14
4.1 Localización.....	14
4.2 Tamaño	15
4.3 Clínica	15
4.4 Histología.....	15
4.5 Tumores recurrentes	16

4.6 Escisión incompleta	16
4.7 Inmunidad del paciente	16
5. Tipos de tumores tratados en la cirugía micrográfica de Mohs.....	17
5.1 Carcinoma Basocelular	17
5.1.1 Nodular	17
5.1.2 Superficial.....	18
5.1.3 Morfeiforme o esclerosante.....	18
5.2 Carcinoma Espinocelular o Epidermoide.....	18
5.2.1 Carcinoma Epidermoide in situ	19
5.2.2 Carcinoma Epidermoide infiltrante	19
5.3 Queratoacantoma.....	20
5.4 Dermatofibrosarcoma Protuberans	20
5.5 Melanoma	21
5.5.1 Melanoma extensivo superficial	21
5.5.2 Melanoma nodular	22
5.5.3 Lentiginoso acral	22
5.5.4 Melanoma de lentigo maligno	22
.....	24
DESCRIPCIÓN PASO A PASO DE LA CIRUGÍA MICROGRÁFICA DE MOHS.....	24
6. Procedimiento quirúrgico e histotecnológico.....	25

6.1 Paso 1. Delimitación de los bordes.....	25
6.2 Paso 2. Resección del tumor	26
6.3 Paso 3. Mapeo de la lesión tumoral	27
.....	28
6.4 Paso 4. Identificación del material y tinción de bordes	28
.....	29
6.5 Paso 5. Aplanamiento de los bordes de sección	29
6.6 Paso 6. Inclusión de la muestra	30
6.7 Paso 7. Cortes histológicos.....	32
6.7.1 Calidad de los cortes	33
6.7.2 Cortes en material adiposo.....	34
6.7.3 Cortes en material con cartílago	35
6.8 Paso 8. Coloración y revisión microscópica de laminas	35
6.8.1 Coloración hematoxilina y eosina.....	35
6.8.2 Coloración azul de Toluidina.....	37
6.9 Paso 9. Reconstrucción	37
CONCEPTOS TÉCNICOS	39
7. Biopsia por congelación	40
8. Equipos y materiales para cortes por congelación.....	41
8.1 Criostato	41

8.2 Cuchillas	43
8.3 Unidad de criocirugía para dermatología Cry-Ac	44
8.4 Batería de coloración	44
8.5 Tintas para macroscopía	45
Referencias bibliográficas	46



FUNDACIÓN UNIVERSITARIA
DE CIENCIAS DE LA SALUD
FUCS

Objetivo

Ofrecer una herramienta a los citohistotecnólogos titulados y en proceso de formación que estén interesados en conocer sobre la técnica de Mohs, el procedimiento quirúrgico y técnica histológica en congelación, mejorando las competencias y destrezas a nivel profesional.



FUNDACIÓN UNIVERSITARIA
DE CIENCIAS DE LA SALUD
FUCS

Introducción

La Cirugía Micrográfica de Mohs es una técnica quirúrgico-patológica específica para el cáncer de piel de alta complejidad que busca erradicar el tumor completamente, a su vez prestando beneficios estéticos y funcionales a los pacientes gracias al estudio histopatológico del 100% de los bordes quirúrgicos y una correlación clínico-patológica apropiada, preservando la mayor cantidad de tejido sano y conservando la funcionalidad del tejido del área que se vea afectada. El manejo de este tipo de cirugía en Colombia ha tomado fuerza con el pasar de los años abriendo oportunidades de aprendizaje y empleabilidad para los profesionales implicados en el procedimiento (patólogos, dermatólogos, citohistotecnólogos). Es así como este manual pretende ser una herramienta de aprendizaje y apoyo para estudiantes y tecnólogos en Citohistología que estén interesados en conocer sobre la técnica de Mohs, su procedimiento quirúrgico, y técnica histológica en congelación, mejorando las competencias y destrezas, resaltando la importancia que tienen los histotecnólogos dentro del éxito del procedimiento ya que gracias a la calidad de los cortes se podrá realizar una adecuada interpretación histopatológica por parte del médico dermatopatólogo.



FUNDACIÓN UNIVERSITARIA
DE CIENCIAS DE LA SALUD
FUCS

HISTORIA DE LA CIRUGÍA MICROGRAFICA DE MOHS

1. Historia de la cirugía micrográfica de Mohs

La cirugía micrográfica de Mohs nace en la década de 1930, gracias a Frederic Edward Mohs (norteamericano fallecido el 2 de julio de 2002) quien para esta época era estudiante de medicina y colaborador del área de zoología de la universidad de Wisconsin, donde se encontraba realizando investigaciones en sarcoma mamario en ratas, Frederic Mohs decidió inyectar diversos productos químicos y observar sus efectos al microscopio, donde descubrió que colocando pasta de cloruro de Zinc al 20% sobre tejido in vivo se producía una fijación del tejido, manteniendo intacta su arquitectura. Adicionalmente se dio cuenta que al realizar cortes horizontales estos le permitían observar todo el borde profundo, al mismo tiempo que registraba la ubicación anatómica de cada muestra en un mapa para localizar solo las zonas afectadas de tumor para reintervenir (1). Esta técnica sin perfeccionar lograba obtener tasas altas de curación a diferencia de otras técnicas que consumían mucho tiempo y logrando observar sus márgenes de manera satisfactoria (2).

Como menciona Marecos M. *et al* (3) en 1953 la cirugía fue agilizada al realizar la técnica de tejido en fresco por cortes por congelación y es la utilizada hasta ahora, para 1970, Mohs y Robins presentaron los resultados empleando la técnica en fresco que más adelante sería corroborada por Tromovitch y Stegman mostrando un índice de curación del 97% al tratar pacientes con carcinoma Basocelular y Espinocelular (4). Con el paso de los años se hicieron simplificaciones en la técnica que incluso permiten ahora hacer exámenes inmunohistoquímicos.



FUNDACIÓN UNIVERSITARIA
DE CIENCIAS DE LA SALUD
FUCS

FUNDAMENTOS BASICOS PARA LA CIRUGÍA MICROGRÁFICA DE MOHS

2. ¿Qué es la Cirugía Micrográfica de Mohs?

La Cirugía Micrográfica de Mohs es un tratamiento quirúrgico altamente efectivo y desarrollada por el Dr. Frederic E. Mohs, la cual consiste en una técnica para la exéresis precisa de tumores de piel, con ella, los médicos pueden observar más allá de los límites evidentes de la enfermedad para identificar a través de un examen microscópico el 100% de las márgenes quirúrgicas en superficie y en profundidad, removiendo el tumor en cortes congelados horizontales capa por capa mientras se deja el tejido sano de alrededor, logrando una tasa de curación más alta, un menor potencial de cicatrices o desfiguramiento, una mejor recuperación y también un resultado estético y funcional favorable para el paciente (5).

De acuerdo con la localización se definen tres zonas de riesgo: la zona H, la zona M y la zona L. De acuerdo con Marecos M. *et al* (3) la llamada zona “H” o “máscara” es la región del rostro y cuero cabelludo que corresponden a las alas nasales, septum nasal, cantos oculares mediales y laterales, segmentos pre y retroauriculares, filtrum y bermellón de los labios, y otras localizaciones son miembros inferiores (pierna), genitales, mucosas, dedos de manos y pies, y unidad ungueal. La zona M incluye mejillas, frente, cuero cabelludo, cuello y zona pretibial. La zona L comprende tronco y extremidades (excluyendo la zona pretibial, manos y pies) (2).

3. Indicaciones generales

La cirugía Micrográfica de Mohs (CMM) es una técnica quirúrgica altamente efectiva para los tumores de piel de alta complejidad en cuanto a su localización y funcionalidad anatómica y difícil tratamiento de rutina, logra extirpar el tumor en su totalidad estudiando el 100% de los bordes tumorales (8), permite un alto grado de conservación de tejido sano ya que existe un control histopatológico inmediato y guiado, generando a su vez un proceso de reconstrucción rápido y estético para el paciente, por tanto, se considera la CMM una técnica altamente eficiente.

De acuerdo a lo mencionado anteriormente la CMM considera una serie de variables que se deben tener en cuenta para poder realizarla, entre ellas están; tumores con márgenes pobremente definidos clínicamente, localización anatómica (oreja, cuero cabelludo, sien, preauricular, retroauricular, pliegue nasolabial, canto ocular interno, filtrum nasal, labial, dactilar, anogenital), tamaño del tumor (0,5 cm o mayor a 2 cm de diámetro), tumores recurrentes, tumores extirpados de manera incompleta, invasión perineural, histología del tumor, pacientes inmunocomprometidos, carcinomas desarrollados sobre: áreas irradiadas, cicatrices, osteomielitis, inflamación crónica o ulceración y carcinomas asociados a síndromes genéticos.

Teniendo en cuenta lo anterior los diferentes estudios han demostrado una tasa de curación alta tanto para tumores primarios como recidivas comparadas con los procedimientos quirúrgicos convencionales, los cuales toman mayor cantidad de tejido sano afectando la estética y funcionalidad del tejido. Es por esto por lo que la

cirugía micrográfica de Mohs es un procedimiento altamente efectivo para tumores como el carcinoma basocelular y espinocelular entre otros que serán mencionados más adelante (7).

4. Indicaciones específicas

4.1 Localización

La cirugía micrográfica de Mohs es realmente útil cuando se trata de zonas de alto riesgo lo que permite conservar el tejido sano al margen del tumor facilitando la reconstrucción en pro de la funcionalidad y la estética de la región tratada, como se mencionó anteriormente la CMM es eficiente para tumores que se encuentran las zonas H zona del rostro (figura 1), zona M incluye mejillas, frente, cuero cabelludo, cuello (figura 1), y zona L comprende tronco y extremidades (excluyendo la zona pretibial, manos y pies (figura 2) (2).



Figura 1. Zona H y M facial.



Figura 2. Zona H extremidades

4.2 Tamaño

Galimberti G. y Ferrario D. (7) consideran que los tumores candidatos a la cirugía micrográfica de Mohs son aquellos que en tronco o extremidades son mayores a 2 cm, en rostro mayores a 1 cm, pero si se localiza en la zona H cualquier tamaño es candidato a la cirugía. Los tumores mayores de 2cm poseen un mayor riesgo de invasión local o inclusive en algunos casos a distancia, por ello se consideran de alto riesgo y candidatos a la cirugía (4,8).

4.3 Clínica

La cirugía micrográfica de Mohs por su capacidad de poder evaluar el 100% de las márgenes tumorales ayuda a orientar el diagnóstico de la extensión tumoral (4, 8).

Los tumores con bordes irregulares y dificultad en la definición de los límites clínicos se encuentran asociados a tipos histológicos agresivos e infiltrantes, se describe que en algunos casos que, aunque se logre una extracción tumoral total puede desarrollarse un tumor perilesional e inclusive la afectación con una nueva lesión tumoral en los tejidos usados para el cierre.

4.4 Histología

Los márgenes clínicos poco definidos se asocian a patrones histológicos infiltrantes que pueden presentar una progresión invasiva como ocurre en algunos subtipos del carcinoma basocelular. Algunos tumores pueden hacer una invasión perineural bajando la resistencia al crecimiento local, pero aumentando el riesgo de metástasis

o recurrencia. La cirugía micrográfica de Mohs permite la extirpación completa del tumor al detectar la invasión y progresión.

4.5 Tumores recurrentes

Los tumores recurrentes suelen presentar un carácter infiltrante y un patrón de crecimiento agresivo en superficie e inclusive debajo de la cicatriz quirúrgica.

4.6 Escisión incompleta

Una escisión incompleta supone un crecimiento subclínico del tumor siendo más agresivo. Cuando se requiere preservar tejido sano y el tumor presenta unas márgenes profundas o inclusive se desconoce la orientación se emplea la cirugía micrográfica de Mohs.

4.7 Inmunidad del paciente

En pacientes trasplantados la cirugía micrográfica de Mohs es la primera indicación de tratamiento tumoral por el aumento de la probabilidad de desarrollar tanto cánceres sistémicos como cutáneos con aumento considerable en el caso de un carcinoma basocelular. En los pacientes trasplantados los tumores suelen ser más agresivos que pueden aparecer en zonas de alto riesgo (7).

5. Tipos de tumores tratados en la cirugía micrográfica de Mohs

5.1 Carcinoma Basocelular

El carcinoma basocelular es la variante más frecuente de cáncer de piel y así como su nombre lo indica tiene su origen en la capa basal de la epidermis y sus apéndices. Se caracteriza por ser de crecimiento lento, localmente invasivo y destructivo y presentar un bajo potencial metastásico (7). Según Kumar V, Abbas AK, Aster JC y Robbins (8) tiende a presentarse en zonas sujetas a exposición crónica al sol y en personas con escasa pigmentación. Macroscópicamente los carcinomas basocelulares se presentan como pápulas perladas que a menudo presentan vasos sanguíneos prominentes y dilatados (telangiectasia). Puede llegar a parecerse a los melanomas ya que algunos tumores contienen pigmento melanina.

Clínicamente se presenta principalmente como: nodular, superficial y morfeiforme (9).

5.1.1 Nodular

Constituye alrededor del 60% de los casos y se presenta en la cara como una neoformación exofítica de aspecto rosado, es una lesión de apariencia aperlada o translúcida que comúnmente presentan telangiectasias. Con el tiempo, el tumor puede aumentar de tamaño y ulcerarse, pero suele quedar un borde enrollado elevado, que es un indicio clínico para el diagnóstico (9).

5.1.2 Superficial

Representa el 30% de los casos y los hombres presentan una mayor incidencia en estos. Se presenta como manchas o neoformaciones planas rosadas o eritematosas con una descamación ligera, se presentan con mayor frecuencia en el tronco. Tiende a ser de crecimiento lento y variar en su tamaño (9).

5.1.3 Morfeiforme o esclerosante

Constituye del 5 al 10% de los casos, son neoformaciones suaves, atróficas, pálidas o con un leve eritema. Usualmente de consistencia firme o indurada (9).

5.2 Carcinoma Espinocelular o Epidermoide

Éste es el segundo en frecuencia después del carcinoma basocelular y es resultado de la transformación maligna de los queratinocitos de la epidermis y sus anexos. Es un tumor frecuente que surge en zonas que han estado expuestas al sol en personas mayores, con una incidencia mayor en hombres que en mujeres. Los factores predisponentes son la luz solar, los carcinógenos industriales, úlceras crónicas, cicatrices antiguas de quemaduras, etc. Suelen aparecer como placas rojas bien delimitadas que pueden surgir de una queratosis actínica previa (8). El carcinoma espinocelular puede ocurrir en cualquier parte del cuerpo incluyendo las mucosas y los genitales, pero es más común encontrarlo en áreas expuestas crónicamente al sol, como en la oreja, el labio inferior, la cara, la piel cabelluda, el cuello, el dorso de las manos, los brazos y las piernas (7).

5.2.1 Carcinoma Epidermoide in situ

El carcinoma epidermoide in situ es aquel que se encuentra limitado a la epidermis y es el precursor del carcinoma epidermoide invasivo, el cual debe tratarse de manera agresiva y certera para evitar su progresión y que empeore el pronóstico del paciente (11).

La enfermedad de Bowen es un carcinoma epidermoide (in situ) en el que existen cambios displásicos en todo el espesor de la epidermis, se encuentra considerado dentro de las lesiones pre-cancerosas, queratinocíticas y afecta generalmente a personas de piel clara de más de 60 años. Clínicamente se caracteriza por ser de crecimiento lento y puede presentar como pápulas y placas solitarias o múltiples, se manifiestan típicamente como placas finas de uno a varios centímetros, eritematosas, con escamas o costras sobre las mismas, de bordes irregulares, que puede recordar una placa de psoriasis (12).

5.2.2 Carcinoma Epidermoide infiltrante

Es un tipo clínico de carcinoma que aparece con mayor frecuencia en los hombres que en las mujeres, es más común después de los 50 años y suele aparecer en lugares mayormente soleados y en personas que trabajan bajo la luz solar de forma directa o que tienen contacto con sustancias químicas carcinógenas. Clínicamente se puede manifestar como un tumor sangrante, de aspecto de carne cruda y en cuya superficie se pueden hallar pápulas erosivas, nódulos y también ulceraciones con base necrótica. Es un tumor aislado, de crecimiento lento y progresivo, su evolución puede variar desde meses hasta años (13).

5.3 Queratoacantoma

De acuerdo con Ferreyra de Prato R. *et al.* (10) el queratoacantoma es una neoplasia escamosa cutánea queratinizante común, caracterizada por un crecimiento rápido y abundante, seguido por una involución espontánea y su aparición clásica es en la piel expuesta al sol de individuos de edad avanzada de piel clara. Ocurren casi dos veces más frecuentemente en hombres que en mujeres, se presenta en edades avanzadas entre los 60 y 70 años.

El queratoacantoma se desarrolla a partir del folículo piloso, y siguiendo esta teoría se ha propuesto una clasificación que divide a los queratoacantomas en dos tipos: el queratoacantoma tipo I deriva de células en el folículo piloso distal, son superficiales y generalmente muestran forma de “brote”; mientras que el tipo II deriva de células del bulbo piloso, invaden más profundamente y tienen forma de “domo” o de “fresa”(14).

5.4 Dermatofibrosarcoma Protuberans

El Dermatofibrosarcoma protuberans (DFSP) es un sarcoma originado en la piel y de diferenciación fibroblástica. Es una neoplasia que representa menos del 0,1% de todas las malignidades y el 18,4% de los sarcomas de tejidos blandos. Es un sarcoma cutáneo de crecimiento lento (lo que lleva a que en promedio el diagnóstico se haga 10 años después de que aparecieron las primeras manifestaciones) y baja incidencia que afecta principalmente a las personas entre 20 y 39 años. Comúnmente se localiza en el tronco seguido de las extremidades

superiores. Clínicamente consiste en un tumor de color piel, rosado, pardo o violáceo y de consistencia firme, aunque estas características pueden cambiar con el tiempo de evolución. Usualmente las lesiones adquieren un crecimiento exofítico con el tiempo e inclusive hay algunas lesiones que se mantienen sin protruir (15).

5.5 Melanoma

El melanoma es un tumor maligno derivado de los melanocitos y constituye el tercer tipo de más frecuente de cáncer de piel (16). También se puede originar en las células névicas y se puede presentar en la piel, mucosa, en toda la región anatómica que presente melanocitos: cavidad bucal, ojo, ano, o genitales. Existen varios factores de riesgo asociados al melanoma como: la radiación solar, herencia, inmunosupresión, edad y sexo (17). Según Schwartz AR. en hombres se presenta con mayor frecuencia en espalda y en las mujeres en las piernas. Su forma clínica depende de su patrón de crecimiento y se pueden observar dos fases, una inicial de crecimiento radial que se extiende lateralmente que clínicamente se observa como una lesión plana y posteriormente una fase de crecimiento vertical consistente en un crecimiento hacia la dermis y la vecindad de estructuras vasculares y linfáticas.

El melanoma se clasifica en cuatro subtipos:

5.5.1 Melanoma extensivo superficial

es el tipo de melanoma más común 70% que se puede ubicar en cualquier región, en extremidades inferiores como en tronco. Es una lesión plana que puede

presentar áreas elevadas con tonos múltiples como café claro y oscuro, negro, azul, rojo o gris. Generalmente de crecimiento lento que afecta a personas entre la cuarta y quinta décadas de vida (16)(17).

5.5.2 Melanoma nodular

Se presenta en un 15% de los casos, puede ubicarse en cualquier región y en áreas como el tronco, cabeza o cuello. Es una lesión elevada semejante a una placa gruesa o lesión cupuliforme, polipoide o exofítica. Se presenta como una lesión en tonos de azul, negro y ocasionalmente sin pigmento. Generalmente de crecimiento rápido (meses), se presenta entre la quinta y sexta década de vida (16)(17).

5.5.3 Lentiginoso acral

Se presenta en menor proporción a diferencia de los dos subtipos anteriores en un 5-10% de los casos, esta lesión se ubica en palmas, plantas y región subungueal. Se presenta en pacientes mayores como una lesión pigmentada macular con pápulas o nódulos focales con tonos múltiples de café, negro, azul y zonas des pigmentadas. En la región subungueal: se presenta como una lesión pigmentada en zona de matriz, con extensión a lecho y lámina ungueal. Generalmente de crecimiento lento (16)(17).

5.5.4 Melanoma de lentigo maligno

Se presenta en menor proporción en un 5% de los casos, se presenta en áreas fotoexpuestas como cara, cuello y dorso de manos. Se presenta como una lesión

pigmentada plana con áreas focales solevantadas. En tonos azules y grises. Es de crecimiento lento (hasta 20 años) y se presenta en pacientes mayores (16)(17).



FUNDACIÓN UNIVERSITARIA
DE CIENCIAS DE LA SALUD
FUCS

DESCRIPCIÓN PASO A PASO DE LA CIRUGÍA MICROGRÁFICA DE MOHS

6. Procedimiento quirúrgico e histotecnológico

La cirugía micrográfica de Mohs (CMM) tiene dos momentos importantes dentro de su proceso general, el primero comprende el proceso quirúrgico y el segundo cuando la muestra tumoral llega al laboratorio de histopatología y es procesada.

Para que la CMM sea exitosa esta debe contar con un equipo interdisciplinario capacitado para este tipo de procedimientos.

A continuación, se describen los pasos que sigue la cirugía micrográfica de Mohs y la razón de ser un procedimiento exitoso en la erradicación de tumores malignos de piel.

6.1 Delimitación de los bordes

Una vez es aceptado y firmado el consentimiento informado, el paciente es preparado para la intervención. Se realiza asepsia y antisepsia, seguido el médico dermatólogo delimita los márgenes clínico-quirúrgicos del tumor empleando un lápiz dermográfico (17). El área es anestesiada localmente con lidocaína al 1% o 2% con o sin epinefrina al 1x200.000 (está indicada para mejorar la vasoconstricción), se emplea anestesia general en un mínimo de los casos. El médico dermatólogo delinea la escisión planeada con márgenes pequeñas de (2-3 mm) desde el defecto quirúrgico dejado por la citorreducción para ello se puede emplear un lápiz dermográfico o fotografía (figuras 3y4).



Figura 3. Delimitación de los bordes clínico-quirúrgicos por el médico dermatólogo.



Figura 4. Delimitación de los bordes clínico-quirúrgicos a 2 a 3 mm de margen.

6.2 Resección del tumor

Después de 10 minutos que ha hecho efecto la anestesia y hay vasoconstricción, se realiza la extracción macroscópica del tumor (que recibe el nombre de citorreducción) que consiste en hacer una resección oncológica del tumor clínicamente visible empleando un bisturí o la cureta. Se realiza la incisión (denominada primer estadio) en forma de plato empelando con una hoja de bisturí angulada a 45° (figura 5 y 7), de tal manera que la epidermis permanezca sobre el mismo nivel del tejido subcutáneo para ser cortado horizontalmente en el criostato, se continua con la incisión alrededor de la superficie del defecto quirúrgico y se prolonga en profundidad (figura 6) (8). Antes de extraer el tejido se deben hacer marcas de referencia en sentido horario en la pieza quirúrgica y en la piel del paciente, esto con el fin de preservar la orientación espacial del tejido. Posteriormente la pieza se envía al laboratorio de patología para inclusión, corte y valoración microscopía por parte del médico dermatopatólogo.



Figura 5. Resección del tumor en ángulo de 45°.



Figura 6. Resección y extracción del tumor.

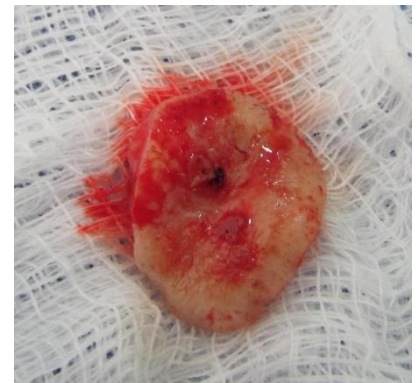


Figura 7. Resección del tumor (en forma de plato).

6.3 Mapeo de la lesión tumoral

Una vez obtenida la muestra esta debe transportarse al laboratorio de patología en solución salina y se debe diseñar un mapa o gráfico bidimensional en escala 1:1 del defecto quirúrgico, incluyendo las marcas de la piel que se empleara como referencia. La “hoja de trabajo” debe tener los datos del paciente, diagnóstico tumoral, tamaño del tumor según las márgenes macroscópicas y su localización anatómica y ubicación espacial (figuras 8 y 9). Esta hoja será la guía principal del médico dermatopatólogo y donde se registrarán los datos adicionales del procedimiento como número de láminas obtenidas micraje empleado y número de giros o vueltas usados en cada nivel cortado.

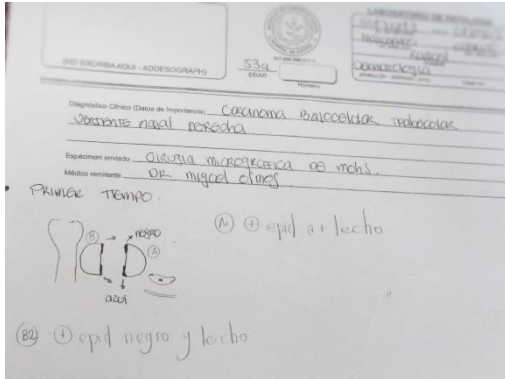


Figura 8. Hoja de trabajo, datos del paciente, diagnóstico y localización tumoral.

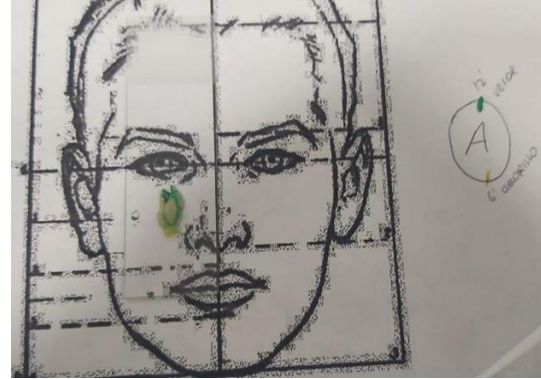


Figura 9. Hoja de trabajo, mapa anatómico para localización espacial del tumor.

6.4 Identificación del material y tinción de bordes

Una vez elaborada la hoja de trabajo se identifica el tamaño de la muestra (que quepa en una lámina de vidrio) para determinar si el tejido puede ser procesado como una única pieza o si debe ser subdividida (figura 10), para estos casos cada segmento se le asigna una letra o número que identifique su orientación. En algunos casos se realiza tumorectomía (retiro del tumor, dejando los bordes intactos) (figura 11), si la pieza es pequeña se realiza una abertura tipo pacman de acuerdo a la orientación de la pieza (según manecillas del reloj) y cortes de relajación que permiten el adecuado aplanamiento de la epidermis para que quede al mismo plano horizontal con los bordes (figuras 12 y 13), después de esto se pintan los márgenes del tejido en vivo y en el mapa, usando tintas de diferentes colores especiales para tejidos que permiten la identificación de los márgenes laterales y profundos, estas tintas no pierden la intensidad del color durante el proceso histotecnológico (4)(8)(24). Este procedimiento lo realiza el médico dermatólogo, y en algunas ocasiones lo puede realizar el histotecnólogo encargado siempre y cuando tenga el entrenamiento apropiado para realizarlo.

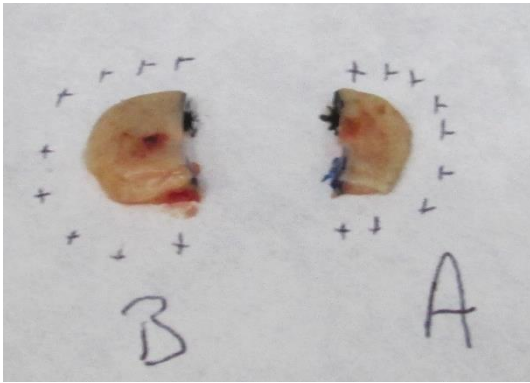


Figura 10. Fragmentación del tejido en A y B, tinción de bordes con negro y azul.



Figura 11. Tumorectomía



Figura 12. Tumor retirado al lado derecho y bordes pintados de color verde a las 12 y amarillo a las 6 (según manecillas del reloj).

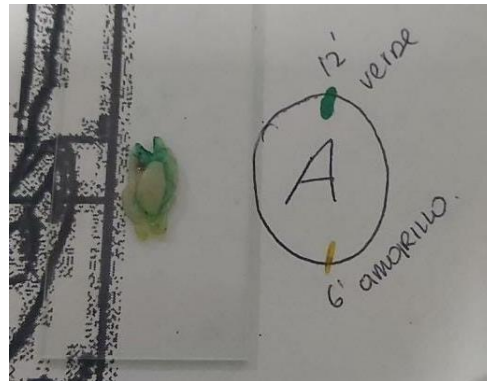


Figura 13. Muestra con cortes circulares de relajación (sin retiro del tumor, se observa en la zona central) y bordes pintados de color verde a las 12 y amarillo a las 6 (según manecillas del reloj).

6.5 Aplanamiento de los bordes de sección

Una vez se han pintado los bordes y se han realizado los cortes de relajación apropiadamente, la muestra se monta sobre un portaobjetos dejando contra el vidrio el tejido más profundo y lejano del tumor, de tal forma que el material que queda expuesto es el tumor original, se va aplanando con los dedos o con pinzas el tejido de manera uniforme para que todos los bordes y la epidermis queden sobre el mismo plano horizontal o al mismo nivel horizontal (figura14) (24). Para mayor

precisión se puede usar la pistola de criocirugía que contiene en su interior nitrógeno líquido y facilita el aplanamiento adherencia a la lámina de manera más rápida por el efecto del frío (figura15), también se puede realizar el aplanamiento dentro del mismo criostato sobre la criobarra (maneja temperaturas hasta -52°C) para aquellos equipos que cuenten con este tipo de barra (figura16).



Figura 14. Aplanamiento de bordes y epidermis en plano horizontal con pinzas.



Figura 15. Aplanamiento con dedos y pistola para criocirugía.

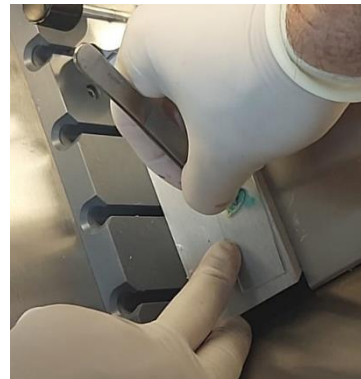


Figura 16. Aplanamiento con pinzas en criobarra (criostato).

6.6 Inclusión de la muestra

Para la inclusión de la muestra se deben tener en cuenta varios factores, el primero, el criostato debe estar calibrado y mantener la temperatura por debajo de -20°C para poder garantizar el enfriamiento, consistencia y dureza del bloque, segundo, tener el medio de congelación llamado OCT (optimal cutting temperature) medio que impide la formación de cristales de hielo y el plegamiento del segmento del tumor Faizal M.(8) en Colombia este medio recibe varios nombres pues cada casa comercial maneja sus referencias, tercero, debe existir moldes de diferentes tamaños porque las piezas pueden variar de acuerdo al tamaño del tumor, cuarto tener pesas para ayudar al aplanamiento del bloque y por último y de manera opcional tener la pistola de criocirugía que puede facilitar el enfriamiento rápido del bloque.

Una vez las condiciones de equipos y elementos sean acordes se procede al encastramiento de la muestra por congelación, el cual se realiza haciendo una superficie elevada con OCT sobre el molde previamente frío (figura 19), se pone en la criobarra para que tome consistencia, enseguida se toma la lámina que contiene la muestra ya aplanada y se cubre con OCT (figuras 17 y 18), se deja enfriar levemente para poder sobreponerla boca abajo en el molde que se acaba de elaborar y se pone sobre este material una pesa que genere una superficie plana (figura 20), se espera aproximadamente un minuto para que tome consistencia donde se puede evidenciar la muestra incluida completamente plana (figura 21), se retira la lámina frotándola sobre la mano generando una fricción para que se desprenda, se perfila el bloque (figura 22) (quitar con una cuchilla fría los excesos de OCT de los bordes, esto facilita al momento del corte la impresión de la sección a la lámina) y se deja listo para corte.



Figura 17. Cubrimiento del tejido con OCT sobre lámina.



Figura 18. Cubrimiento del tejido con OCT sobre lámina (vista superior).



Figura 19. Elaboración de bloque sobre molde con OCT.

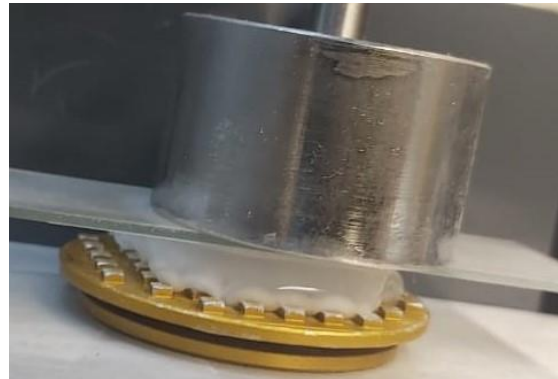


Figura 20. Aplanamiento con pesa.



Figura 21. Confección del bloque finalizada, con tejido plano.

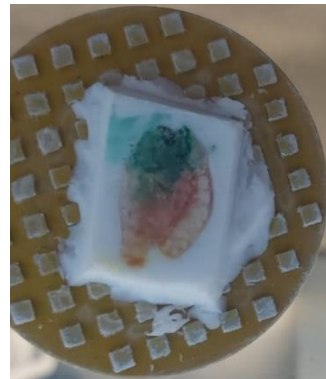


Figura 22. Bloque perfilado.

6.7 Cortes histológicos

Los cortes por congelación son un reto para este tipo de técnica dado que no es igual realizar un corte de biopsia por congelación de rutina, a un corte por técnica de Mohs, esta última exige un nivel de calidad en orientación, desbaste y calidad del corte.

En CMM el ideal es no desbastar el material hasta lograr llegar completar la totalidad de la muestra, puesto que los primeros niveles que se obtendrán serán de la zona profunda del tejido, zona que debe ser valorada microscópicamente para

tener certeza estar libre de células tumorales, por tanto la destreza del citohistotecnólogo debe agudizarse en la orientación del bloque para que este quede nivelado al filo de la cuchilla y prácticamente empezar a cortar el tejido a nivel, de esta manera el dermatopatólogo y dermatólogo podrán calcular la profundidad en micras de los niveles que serán valorados microscópicamente.

6.7.1 Calidad de los cortes

Los cortes para este tipo de tejidos pueden variar según su origen y se deben realizar a un micraje determinado entre 3 a 7 micras y un número de vueltas (generalmente 5) establecidas por el dermatólogo. Estas secciones se obtienen de la parte profunda hacia arriba. Así teóricamente son procesadas toda la profundidad y el margen epidérmico de forma que el lado interno, es decir, el próximo al tumor quede hacia abajo e ir avanzando hasta completar de manera serial la totalidad de todo el tejido, para esto se llegan a obtener varias laminas con varios niveles de tejido en cada una de ellas.

En la medida que se va cortando se recomienda hacer uso de pinceles previamente enfriados para alisar el tejido procurando evitar pliegues, enrollamientos y desgarre del material (figura 23 y 24).

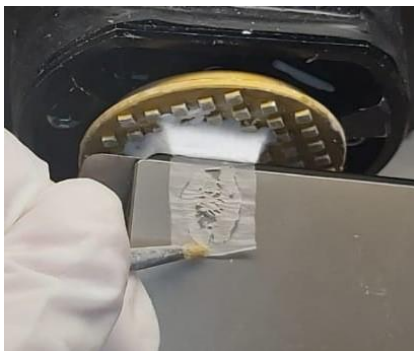


Figura 23. Corte de tejido adiposo, alisamiento con pincel.



Figura 24. Corte de tejido adiposo, alisamiento con pincel.

6.7.2 Cortes en material adiposo

Las muestras que son ricas en tejido adiposo deben enfriarse por debajo de la temperatura de un criostato estándar para obtener cortes congelados de alta calidad, de acuerdo con Faizal M.(5) a -40°C , pero en la práctica diaria se manejan muy bien entre -27°C a -30°C estos requieren un tiempo de exposición de enfriamiento más prolongado que el tejido epidérmico o dérmico para el corte y requieren de paciencia al momento realizar el corte, pues por ser tejido adiposo este tiende a enrollarse en la zona central del tejido y salir solo la periferia, para esto se recomienda para ello se recomienda cortar secciones más gruesas y proyectando fuerza en el mango al momento de realizar el corte para que este salga completo o por lo menos con mayor cantidad, usar nitrógeno líquido para reducir la temperatura del tejido adiposo congelando in situ, esto facilita la preparación de cortes congelados de alta calidad (figura 25) (25).

Sin embargo, los tiempos de enfriamiento más largos conducen a la formación de cristales de hielo en el tejido y pueden aumentar el riesgo de artefacto de congelación, destrucción celular y contribuir a la pérdida de la histología del tejido normal.



Figura 25. Tejido adiposo enfriado con nitrógeno líquido.

6.7.3 Cortes en material con cartílago

El cartílago al tener una contextura que puede ser gomosa o rígida hace que sea difícil aplanarlo y que al hacerlo contra un portaobjetos otros tejidos se pueden retraer del margen real. Para optimizar su procesamiento se recomienda mantener húmeda la muestra ya que se dificulta su manipulación a medida que se deseca y adicionalmente se separa fácilmente de las láminas de vidrio en el proceso de tinción, debido a que el cartílago contiene sulfatos y genera una carga negativa el uso de láminas cargadas (con carga positiva) ayuda a que el cartílago se adhiera a esta. Disminuir la velocidad en el proceso de tinción también puede ser útil ya que evitará que el cartílago se lave de la lámina (25).

6.8 Coloración y revisión microscópica de laminas

Los cortes por congelación se colocan en varios portaobjetos rotulados con los datos de la muestra, el estadio y el corte. Se tiñen con azul de toluidina o hematoxilina-eosina. Para ciertos tumores y con el objetivo de evitar falsos negativos se pueden emplear técnicas de inmunohistoquímica para tumores mal diferenciados o con infiltrado inflamatorio importante (25).

6.8.1 Coloración hematoxilina y eosina

La hematoxilina se obtiene a partir de la madera de la planta leguminosa llamada palo de Campeche (*Haematoxylum campechianum*), es un colorante catiónico o básico que tiñe estructuras ácidas (basófilas) en tonos azul y púrpura, como por ejemplo los núcleos celulares; y el uso de eosina el cual es un colorante que tiñe

componentes básicos (acidófilas) en tonos de color rosa, gracias a su naturaleza aniónica o ácida, como el citoplasma (25).

Como menciona Aslam A. y Aasi Z.(24), los pasos clave son la fijación, hidratación, tinción, contratinción, deshidratación y aclarado.

La fijación es muy importante para asegurar cortes congelados de alta calidad, y el fijador más comúnmente usado es el etanol (70% -90%) porque funciona rápidamente y proporciona detalles nucleares claros. Después de la fijación, hidratación, tinción con hematoxilina y una serie de lavados con agua, se contratiñe con eosina, es necesario deshidratar el tejido para eliminar toda el agua y el exceso de eosina. Las soluciones de alcohol deben contener alcohol reactivo al 95% o más para una deshidratación adecuada. Finalmente, el aclaramiento es el proceso final y es lo que hace que el tejido sea translúcido.

Las láminas son observadas por el dermatopatólogo y el dermatólogo para detectar los posibles focos tumorales residuales que se marcan en la gráfica o mapa con una señal de positivo o negativo o solo con un punto rojo. De ser positivo se marca en el mapa del paciente el sitio exacto del tumor residual y pasa a llamarse segundo estadio. Los cortes al microscopio se debe observar la epidermis completa y las tintas con las cuales se identificaron los bordes (figuras 26,27,28).

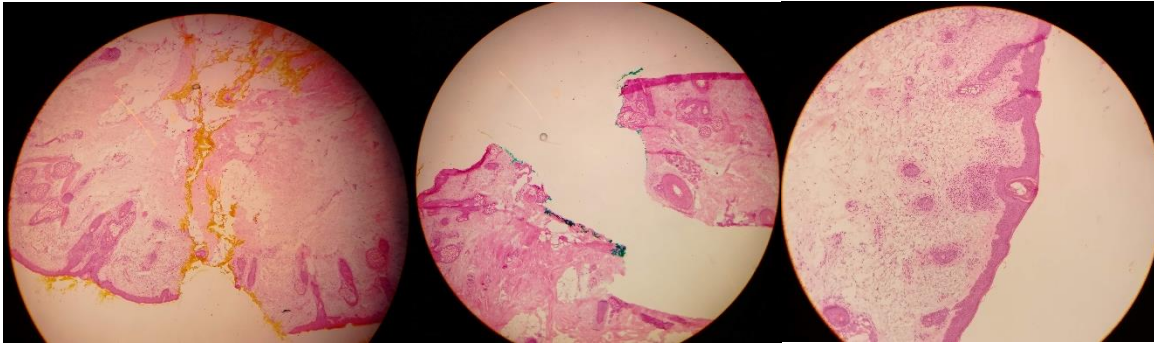


Figura 26. Borde pintado de amarillo. Coloración HyE

Figura 27. Borde pintado de verde. Coloración HyE.

Figura 28. Epidermis. Coloración HyE.

6.8.2 Coloración azul de Toluidina

El azul de toluidina es un colorante catiónico de color azul, ortocromático cuando se une a los ácidos nucleicos y se tiñe de color púrpura rojizo cuando se une a los glucosaminoglicanos, por lo cual esta tinción es metacromática. Algunos cirujanos de Mohs creen que este contraste de la tinción azul del carcinoma de células basales se suma con la tinción de metacromasia púrpura rojiza de los glucosaminoglicanos en el estroma circundante que ayuda a delimitar mejor el tumor de las estructuras anexiales, esta tinción es más rápida y sencilla que H&E y no requiere contratinción, aunque el detalle nuclear es inferior (24).

6.9 Reconstrucción

Se evalúan las distintas opciones de cierre del defecto quirúrgico una vez se ha obtenido el 100% de las márgenes libres de tumor. Marecos M. *et al* (3) mencionan el cierre por segunda intención, cierre simple afrontando bordes e incluso el uso de

injertos o colgajos. Esto dependerá del defecto quirúrgico, su sitio anatómico y la habilidad del cirujano.



FUNDACIÓN UNIVERSITARIA
DE CIENCIAS DE LA SALUD
FUCS

CONCEPTOS TÉCNICOS

7. Biopsia por congelación

La técnica de cortes por congelación o más conocida como biopsia por congelación, es un procedimiento histotecnológico realizado en un criostato que permite obtener cortes histopatológicos de manera rápida y oportuna ofreciendo un diagnóstico previo para aquellos casos intraoperatorios que lo requieran (18), con la intención de definir los pasos a seguir en el procedimiento quirúrgico, de tal manera que los resultados pueden ayudar a definir la naturaleza de la lesión (benigna o maligna) la clasificación y en algunos casos determinar compromiso de márgenes quirúrgicos (19).

Cuando se habla que la técnica por congelación ayuda a determinar compromiso en los márgenes quirúrgicos quiere decir que es una técnica es una herramienta de apoyo para procedimientos quirúrgicos que tienen diagnóstico previo de lesiones ya definidas y requieren de un seguimiento inmediato, consecutivo y vigilado para concluir tratamiento, por tanto que los cortes por congelación son una excelente opción para la cirugía micrográfica de Mohs, ya que éste es un procedimiento que suele ser ambulatorio que se realiza sobre piezas no tan grandes que permite el fácil desempeño de la técnica para obtener resultados rápidos y óptimos que favorecen al paciente, ya que esta es realizada por personal entrenado y especializado en inclusión corte e interpretación microscópica para este tipo de material (18, 19).

En consiguiente el procedimiento de los cortes por congelación consiste en congelar de manera inmediata el tejido con un medio de inclusión compatible a las bajas temperaturas que permita realizar corte de las secciones tisulares en el criostato, la

transferencia a una laminilla y la coloración del tejido para finalizar con la lectura microscópica (16,19).

8. Equipos y materiales para cortes por congelación

8.1 Criostato

Para realizar cortes por congelación se requiere de un criostato el cual consta de un microtomo tipo Minot, mecánico de precisión que se utiliza para obtener cortes en tejidos incluidos en secciones de espesor micrométrico lo suficientemente delgadas para ser examinadas al microscopio (20), este micrótopo se encuentra incluido en una cámara de congelación, su sistema de refrigeración no permite que las piezas se congelen facilitando el engranaje y la fácil manipulación para la realización de los cortes.

Todos los microtomos deben contar con volante de inercia el cual se encuentra en el exterior del equipo y funciona para controlar el corte y dar avance, dentro de la cámara fría se encontrará el porta cuchillas, porta bloques y el mecanismo de avance, esta cámara debe mantener una temperatura de -20°C para mantener la consistencia del bloque y permitir realizar los cortes apropiadamente (21).

Dependiendo el modelo del equipo estos pueden contar con crio barra, soporte de moldes, pesas, tablero de mando y mecanismos de avance digital (figuras 29,30,31, 32).



Figura 31. Criostato con mecanismo de avance digital Leica



Figura 32. Criostato con mecanismo de avance digital, vista cámara fría (crio barra, pesas, soporte moldes).



Figura 29. Criostato con mecanismo de avance digital Thermo



Figura 30. Criostato con mecanismo de avance digital, vista cámara fría (crio barra, pesas, soporte moldes).

8.2 Cuchillas

Las cuchillas, su calibre y calidad son de vital importancia para la obtención de cortes parejos, finos y uniformes. Comercialmente se pueden conseguir de alto y bajo perfil. Escoger el perfil de la cuchilla se basa en el tipo de porta cuchilla que cuente el quipo y el tipo de muestra que se desea cortar, en el caso de cirugía micrográfica de Mohs se recomienda usar cuchillas de alto perfil ya que estas generan mayor estabilidad del corte (menor posibilidad de enrollamiento, pliegues y vibración) y pueden soportar la dureza de algunos tejidos como el cartílago, también

facilita los cortes de tejidos adiposos y por supuesto de la epidermis. La mayoría de los equipos traen el sistema o dispositivo antivuelco este está



Figura 33. Cuchillas alto perfil

diseñado para reducir la posibilidad de enrollamiento de la sección cortada mediante una placa o dispositivo estabilizador (18).

8.3 Unidad de criocirugía para dermatología Cry-Ac

Esta unidad o pistola para criocirugías dermatológicas son esenciales para conservar el nitrógeno líquido, en cirugía micrográfica de Mohs es empleado como una herramienta de apoyo para el aplanamiento de los bordes y epidermis disponiendo el material en un mismo plano y dejándolo listo para la inclusión. Este funciona activando el disparador el cual proporciona fácil dispersión del gas y una fácil visualización del material a través del cristal del portaobjetos. Este dispositivo es seguro garantizando la presión constante interna evitando fugas en la medida que se desenrosca la tapa y permitiendo un congelamiento



Figura 34. Unidad de criocirugía dermatológica

consistente y preciso ya que conserva el frío propio del nitrógeno el cual es de -195,8°C. Se debe tener precauciones al momento de su manipulación puesto que su baja temperatura puede provocar quemaduras.

8.4 Batería de coloración

La batería de coloración es indispensable para realizar el proceso de coloración o tinción de las secciones obtenidas en el criostato. Esta cuenta con nueve recipientes de acero inoxidable con canastilla que permite contener los solventes necesarios como alcoholes, xilenos, hematoxilina de Harris, eosina y agua amoniacal al 1%.



Figura 35. Bateria de coloración HyE

8.5 Tintas para macroscopía

Las tintas para macroscopía son especiales para marcar y orientar las muestras obtenidas en el proceso quirúrgico y sometidas a congelación, su finalidad es diferenciar los bordes internos, laterales y profundos del tejido. Estas tintas tienen la propiedad de adherirse y no caerse al contacto con alcoholes, xilenos, y colorantes en el proceso de coloración de las secciones obtenidas en criostato, microscópicamente son visibles permitiendo al médico dermatopatólogo visualizar e identificar los bordes según fueron pintados.



Figura 36. Tinta para macroscopía



Referencias bibliográficas

(1) Ríos-Buceta L, Picoto A. Cirugía de Mohs. Actas Dermo-Sifiliográficas [Internet] 2003, vol. 94, (8) :503-523. Disponible en: <https://actasdermo.org/es-cirugia-mohs-articulo-13052959>

(2) Boeta-Ángeles L, Lacy-Niebla, RM. Cirugía micrográfica de Mohs. Dermatología Revista Mexicana [internet] 2013, vol. 57, n.34. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2013/rmd131f.pdf>

(3) Marecos RM, Guzmán-Fawcett A, Mendoza G, Celías L. Cirugía micrográfica de Mohs: un enfoque completo. Dermatología CMQ [Internet] 2016, 14. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2016/dcm161i.pdf>

(4) Magliano J, Navarrete J, Martínez M, Bazzano C. Cirugía micrográfica de Mohs en Uruguay: primeros 130 casos en carcinomas cutáneos. Rev Méd Urug. [Internet] 2018, vol 34 n.1. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/pdf/rmu/v34n1/1688-0390-rmu-34-01-00064.pdf>

(5) Faizal M. CIRUGÍA MICROGRÁFICA DE MOHS TRATAMIENTO DE LOS TUMORES MALIGNOS CUTÁNEOS DE ALTA AGRESIVIDAD Y COMPLEJIDAD .MEDICINA [Internet] 2015, vol. 37 n.3. Disponible en: <https://revistamedicina.net/ojsanm/index.php/Medicina/article/view/112-6/1052>

(6) Galimberti G. y Ferrario D. Indicaciones de la cirugía micrográfica de Mohs. *PIEL*. [Internet].2012, vol.27, n.2, pp., 98-101. Disponible en:

<https://www.elsevier.es/es-revista-piel-formacion-continuada-dermatologia-21-articulo-indicaciones-cirugia-micrografica-mohs-S0213925111003261>

(7) Castañeda Gameros P, Eljure Téllez J. El cáncer de piel, un problema actual. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM [Internet]. 2016; 59 (2):6–14.

Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2016/un162b.pdf>

Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Robbins. PATOLOGÍA HUMANA 9na ed. España: Elsevier; 2013

(8) Bologna JL, Schaffer JV, Cerroni L, Callen JP, Cowen EW, Hruza GJ, Jorizzo JL, Lui H, Requena L, Schwarz T, Torrelo A. Dermatología [Internet]. 4.^a ed.

Barcelona: Elsevier; 2019. Disponible en:

[https://catalogo.fucsalud.edu.co:2056/#!/content/book/3-s2.0-](https://catalogo.fucsalud.edu.co:2056/#!/content/book/3-s2.0-B9788491133650001613)

[B9788491133650001613](https://catalogo.fucsalud.edu.co:2056/#!/content/book/3-s2.0-B9788491133650001613)

(9) Ferreyra de Prato R, Talavera AD, Panico RL, Kiguen X, Piccini D, Cuffini C.

QUERATOACANTOMA ORAL. REVISIÓN DE LA LITERATURA Y

COMUNICACIÓN DE UN CASO. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas

[Internet]. 2009. (1):21-. Disponible en:

http://www.revista2.fcm.unc.edu.ar/Rev.2009_Supl.1/Queratoacantoma_oral.pdf

(10) Domínguez-Cherit J, Rodríguez-Gutiérrez G, Narvárez Rosales V, Toussaint

Caire S, Fonte Avalos V. Características del carcinoma epidermoide cutáneo y

riesgo para el desarrollo de recidivas con cirugía convencional y cirugía con

transoperatorio tardío. Cirugía y Cirujanos. 2017;85(6):499-503.

- (11) Rodríguez Morales JR, de Armas Ramírez EL. Enfermedad de Bowen. Acta Méd Centro [Internet]. 2013. 7(3):[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://www.revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/17>
- (12) Victoria-Bárzaga H.O, Ramos-Cabrera A, Valdeblánquez-Atencio J. C, Nápoles Vega Darien. CARCINOMA EPIDERMOIDE INFILTRANTE:REPORTE DE UN CASO. AMC [Internet]. 2007; 11(5). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552007000500011&lng=es.
- (13) Villanueva-Ramos TI, Alcalá-Pérez D, Medina-Bojórquez A, Torres-González S, Enríquez-Merino J. Queratoacantoma: ¿pseudocáncer o carcinoma epidermoide? Dermatol Rev Mex 2012;56(1):26-29.
- (14) Barrera J. C., Acosta Á. E., Trujillo, L. 2019. Dermatofibrosarcoma protuberans . Revista Colombiana de Cancerología [Internet] 2019 [citado marzo 18 2021]; 23 (3): 99-109. Disponible en: DOI:<https://doi.org/10.35509/01239015.38>.
- (15) Schwartz A. R. MELANOMA MALIGNO Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LESIONES PIGMENTADAS EN PIEL. Revista Médica de Clínica Las Condes [Internet]. 2011 (6):728–734. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-pdf-S0716864011704850>
- (16) Casariego Z. J., Baudo J. E.. Trabajo de revisión: melanoma. Avances en Periodoncia [Internet]. 2004; 16(3): 157-177. Disponible en:

[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852004000300004&lng=es.](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852004000300004&lng=es)

(17) Carlosama-Rosero Y, Reyes Gutiérrez N, Rolón MC, Rosero EA. Biopsia por congelación: recomendaciones en la práctica clínica y dermatológica. Revista Colombiana de Cancerología [Internet]. 2014 :88–91. Disponible en:

<https://www.elsevier.es/es-revista-revista-colombiana-cancerologia-361-articulo-biopsia-por-congelacion-recomendaciones-practica-S0123901514000110>

(18) Carson F, Cappellano C. Histotechnology A Self Instructional Text. 4th ed. American Society for Clinical Pathology; 2016.

(19) Jiménez Tobón GA, García Valencia J, Arias Restrepo LF. Biopsia por congelación. Med. Lab. [Internet]. 3 de enero de 2012; 18(3-4):161-72. Disponible en: <https://medicinaylaboratorio.com/index.php/myl/article/view/283>

(20) HISTOLOGÍA. CATÁLOGO NAHITA EQUIPAMIENTO 2008-2009 [Internet]. 2008; 265. Disponible en:

<https://www.farmaceuticosmundi.org/farmamundi/descargas/pdf/histologia.pdf>

(21) García del Moral R. Laboratorio de anatomía patológica. 1st ed. Madrid: INTERAMERICANA.McGRAW.HILL; 1993.

(22) González M, Cruz C, Parra O, Herrera L, Arenas C, Avellaneda C et al. Cirugía de Mohs variedad en parafina en el Hospital Militar Central. Una excelente elección. Asoc Col Dermatol. 2009;17(1):18-24.

(23) Ocampo-Candiani J, Vidaurri L, Olazarán Medrano Z. Cirugía Micrográfica de Mohs en tumores malignos de piel. *Medicina Cutánea Ibero-Latino-Americana*. 2004;32(2):65-70.

(24) Aslam A, Aasi S. Frozen-Section Tissue Processing in Mohs Surgery. *Dermatologic Surgery*. 2019;45(2):S57-S69.

(25) Salazar L, Moreno F. Comparación de tres tipos de tinciones histoquímicas en secciones histológicas de paladar y lengua de rata Wistar. *Salutem Scientia Spiritus* 2016; 2(2):12-23