

## Avances en el manejo del cáncer cutáneo: videomosaicos y microscopía confocal de fusión

Oriol Yélamos<sup>1</sup>, Javiera Pérez-Anker<sup>1</sup>

El manejo de algunos tipos de cáncer cutáneo, como el lentigo maligno/lentigo maligno melanoma (LM/LMM), la enfermedad de Paget o algunos subtipos de carcinomas queratinocíticos puede ser complejo dados sus márgenes mal definidos. En este sentido, técnicas quirúrgicas, como la cirugía de Mohs, han permitido mejorar sus tasas de curación, aunque suelen ser costosas en cuanto a tiempo y dinero, pueden ser complejas de realizar (por ejemplo en lesiones melanocíticas o en enfermedad de Paget), y no siempre están disponibles en todos los centros.<sup>1</sup> Asimismo, métodos de imagen no invasiva como la microscopía confocal se han usado con el fin de optimizar la cirugía, ya sea como complemento o alternativa a la cirugía de Mohs.

La microscopía confocal (MC) es una técnica de imagen no invasiva con alta sensibilidad y especificidad para diagnosticar cáncer cutáneo. Además, en la última década la MC se ha usado con éxito para el mapeo pre-quirúrgico e intraoperatorio en oncología cutánea.<sup>2-4</sup> La MC utiliza luz láser que, sin dañar el tejido, permite la visualización de estructuras a nivel celular con una resolución de 1  $\mu$ m. Dependiendo de la longitud de onda empleada, la MC puede funcionar en modo de reflectancia ( $\sim$  800 nm) o en modo de fluorescencia ( $\sim$  500 nm). El modo de reflectancia permite visualizar estructuras como la melanina o la queratina que poseen un alto índice de refracción de forma intrínseca, por lo que es el método utilizado para la evaluación in vivo, y puede usarse también ex vivo. Sin embargo, el modo de fluorescencia necesita la aplicación de un contraste, normalmente naranja de acridina, por lo que se utiliza solamente ex vivo. Hasta

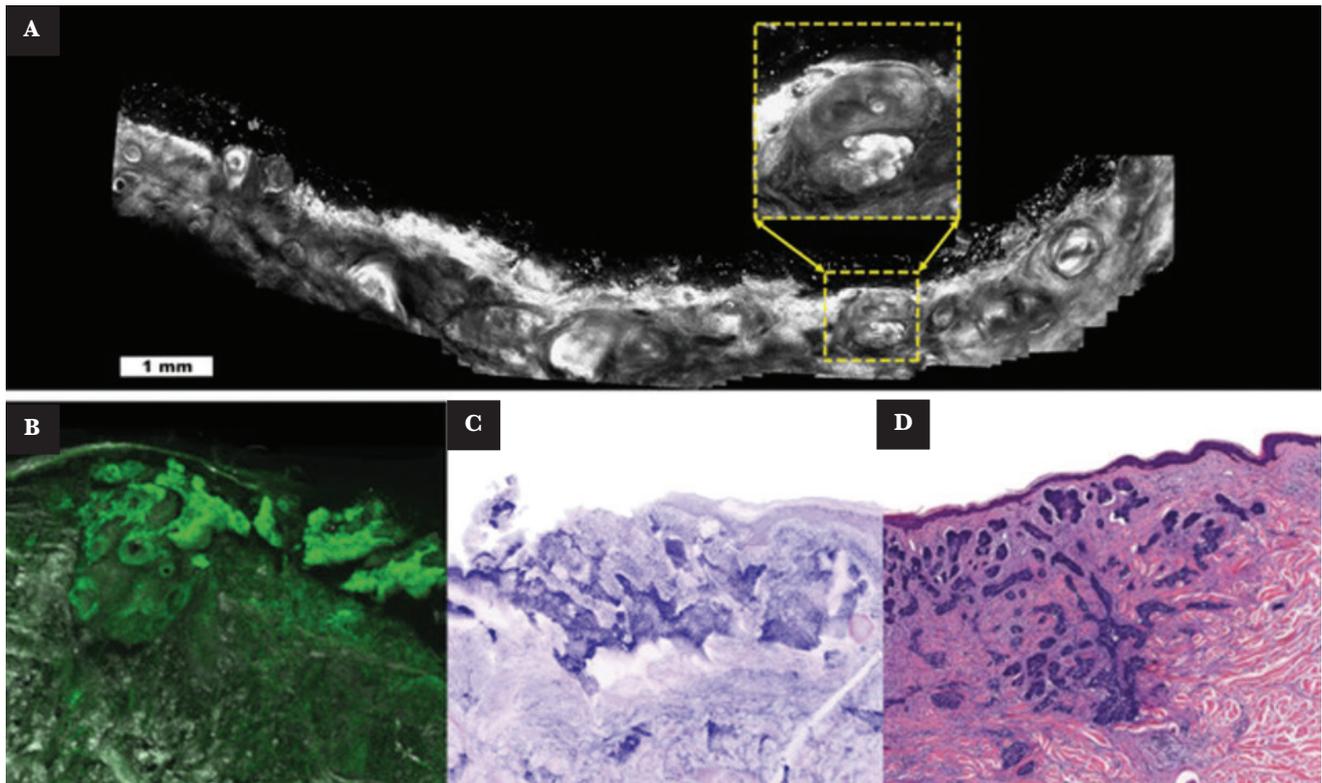
hace poco, tres tipos de microscopio confocal estaban disponibles en el mercado: el Vivascope 1500 (Caliber ID, Rochester, NY), que permite obtener imágenes en reflectancia de zonas planas (requiere pegar un anillo metálico) en forma mosaicos de 8x8 mm; el Vivascope 3000 (Caliber ID, Rochester, NY), que consiste en un microscopio de reflectancia de mano que permite la toma de imágenes estáticas y de videos en cualquier superficie cutánea; y el Vivascope 2500 (Caliber ID, Rochester, NY), con el cual se pueden evaluar especímenes extirpados en modo de fluorescencia o reflectancia.

Aunque hace alrededor de una década que la MC se empezó a usar como alternativa o complemento a la cirugía, varias limitaciones han dificultado que su uso se extienda de forma considerable. Una de ellas es la dificultad técnica para evaluar in vivo lesiones mayores a 8 mm y lesiones localizadas en zonas cóncavas y convexas. En estos casos, el microscopio confocal de mano es el instrumento ideal, dado que permite evaluar grandes zonas de tejido, incluidas zonas curvas como la cara. Sin embargo, con este microscopio no se puede obtener información arquitectural, ya que el actual software permite, solamente, obtener pequeñas imágenes de 0,75 a 1 mm. Otra limitación para la implementación de la MC como alternativa a la histología convencional es la dificultad técnica que supone evaluar imágenes de MC, debido a que las imágenes son en el plano horizontal (a diferencia de las secciones verticales de histología convencional), y en blanco y negro (a diferencia de los colores azul y rosado de la hematoxilina y eosina).

---

1. Departamento de Dermatología, Hospital Clínic de Barcelona

Correspondencia: Oriol Yélamos - Javiera Pérez-Anker. Correo electrónico: oyelamos@gmail.com / javiperezanker@gmail.com, Teléfono: +34 93 2275400 Dirección: C/Villarroel 170, Barcelona, España. Código Postal: 08036.



**Figura 1**

(A) Videomosaico obtenido a partir de un video con el microscopio confocal de reflectancia de mano. El video se obtuvo directamente en el lecho quirúrgico después de la primera etapa de cirugía de Mohs para tratar un carcinoma basocelular. Enmarcado en el recuadro amarillo se puede identificar tumor residual alrededor de un folículo piloso. (B-D) Ejemplo de un carcinoma basocelular infiltrante evaluado con el nuevo microscopio confocal ex vivo en modos de fusión (B), tinción en hematoxilina y eosina virtual (C) y su correlación con histopatología convencional (D).

(Imagen en panel A publicada en Kose et al. Sci Rep. 2017 Sep 7;7(1):10759 y reproducida con permiso de Scientific Reports).

Recientemente, dos avances en MC han permitido superar estas barreras y pueden suponer una completa revolución en cuanto al manejo del cáncer cutáneo: el uso de videomosaicos en MC y el desarrollo de la microscopía confocal de fusión.

Los videomosaicos son reconstrucciones estáticas en dos dimensiones a partir de videos dinámicos. De hecho, los videomosaicos están presentes en nuestras vidas cotidianas, por ejemplo: en las fotos panorámicas obtenidas con nuestros smartphones. En medicina, los videomosaicos se aplican en campos como las técnicas de imagen gastrointestinal, y en dermatología se han desarrollado recientemente un algoritmo informático para su uso específico en microscopía confocal de mano.<sup>5</sup> El objetivo de los videomosaicos en MC es poder obtener grandes mosaicos, con la forma y longitud que se desee con el fin de poder evaluar zonas

mayores de 8 mm, y así poder evaluar zonas curvas como la cara. De esta forma, se consigue obtener información arquitectural adquirida de forma completamente libre. Aunque dicho algoritmo todavía no está incorporado en el software nativo del Vivascope 3000, varios estudios han demostrado que el uso de videomosaicos en MC permite la detección de carcinoma basocelular y escamoso residual directamente en el lecho quirúrgico (Figura 1 panel A),<sup>2, 6</sup> mejora la detección de enfermedad de Paget extramamaria recurrente/persistente,<sup>7</sup> y permite delimitar con gran precisión los márgenes prequirúrgicos de LM/LMM (Video: Example of a Radial Video Captured Using Reflectance Confocal Microscopy, <https://www.youtube.com/watch?v=8ZLWl3zjZHo>).<sup>4, 8</sup>

Respecto a la MC de fusión, recientemente se ha desarrollado un nuevo microscopio confocal ex vivo

(Vivascope 2500 4<sup>a</sup> generación) que aúna dos fuentes de láser, que permiten la visualización simultánea en reflectancia y en fluorescencia. Gracias a un nuevo protocolo de tinción, combinando naranja de acridina y ácido acético, y a un algoritmo informático, que permite visualizar las imágenes en azul y rosado (hematoxilina y eosina virtual, se puede mejorar la visualización tanto de estructuras tumorales como del estroma, permitiendo una evaluación precisa y más sencilla que con la histopatología convencional, dada su alta resolución celular (figura 1 paneles B y C; video: MAVIG VivaScope 2500 Gen 4 Tumour margin assessment during Mohs surgery using ex vivo Confocal Microscopy. Now with Digital staining; <https://vimeo.com/235697807>).<sup>9</sup> El tejido puede ser orientado tanto de manera vertical como en horizontal, por lo que su visualización puede ser análoga tanto a la histopatología convencional como a la MC in vivo. Asimismo, dado que el tejido usado es en fresco, se puede utilizar la MC de fusión como alternativa al criostato en la cirugía de Mohs, siempre con la posibilidad de poder posteriormente fijar la pieza y procesarla con técnicas histológicas convencionales.

En conclusión, estamos actualmente en una etapa fascinante en que las nuevas tecnologías nos están ofreciendo posibilidades inmensas para mejorar nuestra práctica diaria. En este sentido, el uso de los videomosaicos y de la MC de fusión son solamente la punta del iceberg de lo que nos espera en un futuro. En este mundo, en constante transformación, no debemos temer a estos cambios, sino abrazarlos y aprender a usarlos para poder mejorar la eficiencia de nuestra práctica y, de esta forma, ofrecer los mejores cuidados a nuestros pacientes.

## REFERENCIAS

1. Rajadhyaksha M, Marghoob A, Rossi A, Halpern AC, Nehal KS. Reflectance confocal microscopy of skin in vivo: From bench to bedside. *Lasers Surg Med*. 2016
2. Flores ES, Cordova M, Kose K, Phillips W, Rossi A, Nehal K, et al. Intraoperative imaging during Mohs surgery with reflectance confocal microscopy: initial clinical experience. *J Biomed Opt*. 2015;20(6):61103
3. Villarreal-Martinez A, Bennassar A, Gonzalez S, Malveyh J, Puig S. Application of in vivo reflectance confocal microscopy and ex vivo fluorescence confocal microscopy in the most common subtypes of basal cell carcinoma and correlation with histopathology. *Br J Dermatol*. 2018;178(5):1215-7
4. Yélamos O, Cordova M, Blank N, Kose K, Dusza SW, Lee E, et al. Correlation of Handheld Reflectance Confocal Microscopy With Radial Video Mosaicing for Margin Mapping of Lentigo Maligna and Lentigo Maligna Melanoma. *JAMA Dermatol*. 2017;153(12):1278-84.
5. Kose K, Gou M, Yélamos O, Cordova M, Rossi A, Nehal K, et al. Video-mosaicking of in vivo reflectance confocal microscopy images for noninvasive examination of skin lesion. *Proceedings of SPIE Photonics West*. 2017
6. Sierra H, Yelamos O, Cordova M, Chen CJ, Rajadhyaksha M. Reflectance confocal microscopy-guided laser ablation of basal cell carcinomas: initial clinical experience. *J Biomed Opt*. 2017;22(8):1-13
7. Yélamos O, Hibler B, Cordova M, Hollmann T, Kose K, Marchetti MA, et al. Handheld Reflectance Confocal Microscopy for the Detection of Recurrent Extramammary Paget Disease. *JAMA Dermatol*. 2017;153(7):1-5
8. Hibler B, Yélamos O, Cordova M, Sierra H, Rajadhyaksha M, Nehal K, et al. Handheld Reflectance Confocal Microscopy to Aid in the Management of Complex Facial Lentigo Maligna. *Cutis*. 2017;99(5):346-52
9. Pérez-Anker J, Ribero S, Yélamos O, García A, Alos L, Alejo B, et al. Basal Cell Carcinoma Characterisation Using Fusion Ex Vivo Confocal Microscopy: A Promising Change In Conventional Skin Histopathology. *Br J Dermatol*. 2018;Under revision